



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA

**DIPARTIMENTO DI RICERCA TRASLAZIONALE E DELLE
NUOVE TECNOLOGIE IN MEDICINA E CHIRURGIA**

CORSO DI LAUREA SPECIALISTICA IN MEDICINA E CHIRURGIA

**L'espressione proteica del gene CYB5A correla con la ratio linfonodale
e la volumetria della massa tumorale nei pazienti affetti da carcinoma
duttale pancreatico**

Candidato

ARIANNA BARBETTA

Relatore

Chiar.mo Prof. UGO BOGGI

Anno Accademico: 2013/2014

*Ai miei genitori, ai miei fratelli e Principio
Che hanno reso possibile e raggiungibile
Questo piccolo grande traguardo
Con infinito Amore*

Sommario

RIASSUNTO

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

1.1 Cenni di anatomia pancreatica

1.2 Aspetti anatomo-patologici

1.2.1 Sistemi di stadi azione

1.2.2 Valutazione dei margini di resezione

1.2.3 Valutazione dell'infiltrazione vascolare

1.3 Segni e sintomi

1.4 Stadiazione preoperatoria

1.4.1 Ecografia (US)

1.4.2 Ecoendoscopia (EUS)

1.4.3 Risonanza Magnetica (RM)

1.4.4 Tomografia Computerizzata (TC)

1.4.5 Valutazione TC dell'infiltrazione vascolare

1.5 Tecniche chirurgiche

1.5.1 Duodenocelafopancreasectomia (DCP)

1.5.2 Pancreasectomia distale

1.5.3 Pancreasectomia intermedia

1.5.4 Pancreasectomia totale

1.5.5 Indicazione all'intervento

CAPITOLO 2: OBIETTIVI DELLO STUDIO

CAPITOLO 3: PAZIENTI E METODI

CAPITOLO 4: RISULTATI

CAPITOLO 5: DISCUSSIONE

CAPITOLO 6: CONCLUSIONI

Bibliografia

RIASSUNTO

Background L'adenocarcinoma duttale del pancreas (PDAC) presenta una bassa incidenza ed una elevata aggressività biologica, con crescita spesso silente o denunciata da sintomi e segni spesso aspecifici. La metastatizzazione avviene per via linfatica, perineurale ed ematica, mediante un complesso "cross-talking" tra il tumore ed il microambiente. Nel trattamento multimodale, per i tumori "primary resectable", la chirurgia resettiva ad intento radicale rappresenta tutt'oggi il maggior fattore in grado di alterare la storia naturale della malattia e di porre le premesse per un incremento della overall survival dei pazienti. Il sistema di stadiazione TNM, nella pratica clinica quotidiana, non appare in grado di predire il rapporto tra dimensioni tumorali e status linfonodale a causa di categorie di stratificazione della neoplasia semplicistiche.

Scopo dello studio Introdurre due nuovi strumenti di analisi della neoplasia, il rapporto volumetrico del tumore (TVR) e la ratio linfonodale (LNR) e studiarne il tipo di relazione e le implicazioni prognostiche; rilevare l'espressione nelle cellule neoplastiche del citocromo CYB5A e studiarne il tipo di relazione con il TVR e il LNR e le implicazioni prognostiche; studiare i sintomi ed i segni clinici inerenti alla patologia neoplastica pancreatica in funzione del TVR, LNR ed espressione del CYB5A.

Materiali e metodi Studio retrospettivo su 173 pazienti affetti da PDAC sottoposti ad intervento chirurgico resettivo tra il 2003 e il 2008. I parametri di TVR ed LNR sono stati valutati in 76. Le variabili cliniche pre-, intra- e post-operatorie tipiche della patologia pancreatica sono state correlate con i due nuovi parametri patologici del tumore (TVR ed LNR) in accordo con l'espressione della proteina CYB5A, riconosciuto come marker oncologico dell'autofagia.

Risultati Nella nostra coorte di pazienti abbiamo trovato un'associazione statisticamente significativa tra lo stato linfonodale e il TVR nei pazienti resecati stadiati come pT3 ($p=0,0070$), secondo una relazione di tipo lineare. Inoltre l'espressione del gene CYB5A è stata correlata in maniera significativa con il tempo di sopravvivenza ed il periodo libero da malattia nei pazienti affetti da PDAC resecabile e metastatico ($p<0,05$). I sintomi ed i segni della semeiotica classica si sono dimostrati di bassa specificità e sensibilità nel discriminare lo status linfonodale (N0/N1). Integrando in un unico modello statistico i tre fattori (TVR/LNR, CYB5A e semeiotica classica) è stato infine possibile rilevare associazioni statisticamente significative tra i caratteri morfo-volumetrici (TVR, LNR) e l'immunofenotipo CYB5A stratificando per variabile clinica.

Conclusioni Indipendentemente dalla possibilità resettiva chirurgica con intento curativo, le caratteristiche patologico-molecolari del singolo individuo giocano un ruolo fondamentale nella progressione della malattia, influenzando la sopravvivenza e comparsa di recidiva nei pazienti affetti PDAC. La relazione tra il TVR ed il LNR dimostrata nel presente studio potrebbe fornire il razionale per chirurgia resettiva pancreatica (o per trattamento multimodale) "tailored" in termini di dissezione linfonodale ed impatto prognostico; l'espressione del citocromo CYB5A dipende dall'interazione tumore/microambiente e si associa alla prognosi del paziente; la semeiotica classica necessita di essere integrata a questi nuovi strumenti diagnostici/prognostici e rappresenta una chiave di lettura per interpretare le dinamiche intercorrenti tra il tumore, il suo microambiente ed il paziente.

CAPITOLO I: INTRODUZIONE

Il pancreas è una ghiandola mista, a secrezione endocrina ed esocrina, anatomicamente e funzionalmente annessa al tratto superiore del tubo digerente, situata in sede retroperitoneale, addossata alla colonna vertebrale. Ha un'origine endodermica, mediante fusione di due abbozzi originatesi a livello dell'intestino primitivo anteriore.

1.1 Cenni di anatomia pancreatica (1) (2) (3)

H. Durmen ha così riassunto i rapporti anatomici del pancreas: “Il pancreas abbraccia teneramente il rene sinistro, con la sua coda fa il solletico alla milza, stringe fra le sue braccia il duodeno, fa da culla all'aorta, fa opposizione alla vena cava, giocherella con il peduncolo renale di destra, si nasconde dietro il peritoneo parietale posteriore e si avvolge tutt'attorno ai vasi mesenterici superiori”.

Il pancreas (Figura 1.1 e 1.2) è la seconda tra le ghiandole extramurali più grandi annesse al tubo digerente, costituita da una porzione a secrezione esocrina (acini pancreatici) ed una a secrezione endocrina (isole di Langerhans).

Riversa i suoi secreti esocrini nella seconda porzione duodenale attraverso due doti: il primo, definito dotto principale o di Wirsung; il secondo, accessorio o di Santorini.

Misura circa 17-20 cm in lunghezza, 4-5 cm in altezza e 2-3 cm in spessore; pesa in media 70-80 g, è di consistenza piuttosto friabile, con colorito giallastro o roseo a seconda dello stato funzionale, dell'età del paziente e di esiti patologici.

Le funzioni esocrine del pancreas risultano fondamentali nel completamento dei processi digestivi intestinali e contribuiscono a neutralizzare il pH del chimo gastrico quando questo giunge nel duodeno. Quelle endocrine, oltre a provvedere all'omeostasi della glicemia principalmente mediante la secrezione di insulina e glucagone, sono deputate inoltre alla produzione e secrezione di altri entero-ormoni ad azione paracrina od endocrina, quali somatostatina, grelina e polipeptide pancreatico.

Il pancreas è situato in sede retroperitoneale, ad un livello corrispondente alla XII vertebra toracica e la III vertebra lombare, e disposto in posizione trasversale; risulta concavo posteriormente, nella sua

parte centrale, ad abbracciare la colonna vertebrale e i grossi vasi.

Si possono distinguere tre porzioni: la testa, il corpo e la coda, a loro volta suddivise dall'inserzione del mesocolon trasverso in una porzione sovramesocolica e una sottomesocolica.

La *testa* è raccolta nella concavità del duodeno e risulta, a livello della sua faccia anteriore, superiormente in rapporto con l'arteria gastroduodenale e inferiormente con le anse dell'intestino tenue. In basso si continua con un prolungamento rivolto a sinistra, il *processo uncinato*, che presenta importanti rapporti con la vena e l'arteria mesenterica superiore. La faccia posteriore si trova in stretto rapporto con il segmento infraduodenale del coledoco, la vena e l'arteria retroduodenale e pancreaticoduodenale inferiore; mediante l'interposizione della fascia di Treitz si trova in rapporto con la vena cava inferiore, con il corpo della II e III vertebra lombare, con il pilastro diaframmatico destro, con il peduncolo renale destro e con l'origine dell'arteria gonadica destra.

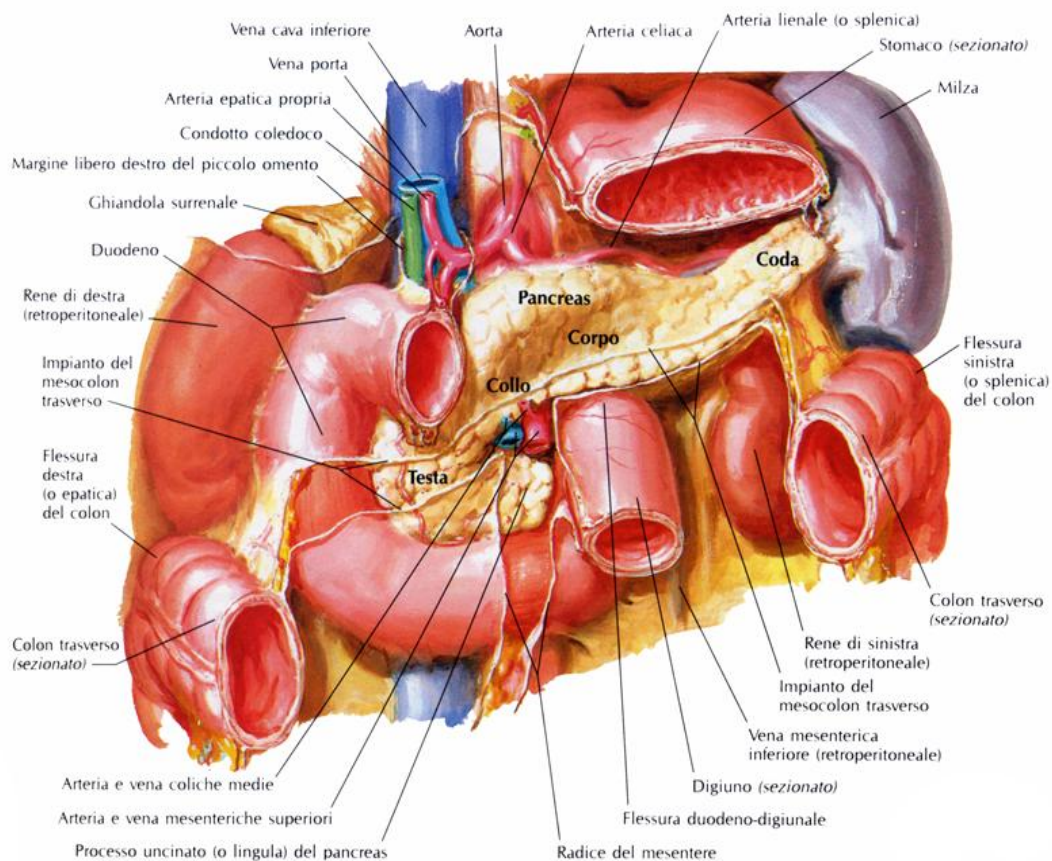
Nella regione di passaggio tra testa e corpo, il pancreas si restringe e tale porzione viene detta *istmo*. Presenta due incisure, una in basso che accoglie i vasi mesenterici superiori

e l'altra in alto dovuta alla prima porzione duodenale. In corrispondenza della sua faccia posteriore si trova l'origine della vena porta.

Il *corpo* fa seguito all'istmo e nella sua faccia anteriore è rivestito dal peritoneo parietale posteriore che delimita la retrocavità degli epiploon ed è pertanto in rapporto con la faccia posteriore dello stomaco. La faccia posteriore si adatta alla convessità della retrostante regione prevertebrale; qui si trova in rapporto con l'aorta, i vasi mesenterici superiori e la confluenza della vena mesenterica inferiore con la vena splenica; inoltre, distalmente, ha rapporti con il polo superiore del rene sinistro, il surrene sinistro e l'ilo renale di sinistra. Il margine superiore del corpo è in rapporto con il tronco celiaco; a questo livello si evidenzia la presenza di un profondo solco nel quale decorrono tortuosi i vasi splenici accompagnati da numerosi linfonodi. Il margine inferiore è in rapporto con la radice del mesocolon trasverso.

La *coda* del pancreas costituisce l'estremità sinistra della ghiandola e si trova in stretto rapporto con l'ilo splenico. Il peritoneo parietale posteriore, nel costituire i foglietti anteriore e posteriore del legamento pancreaticolienale, finisce per avvolgere l'apice della coda pancreatica risultando, nella maggior parte dei casi, in posizione intraperitoneale. Posteriormente, la coda si trova in rapporto con il rene sinistro.

Figura 1.1 – Pancreas, veduta anteriore.



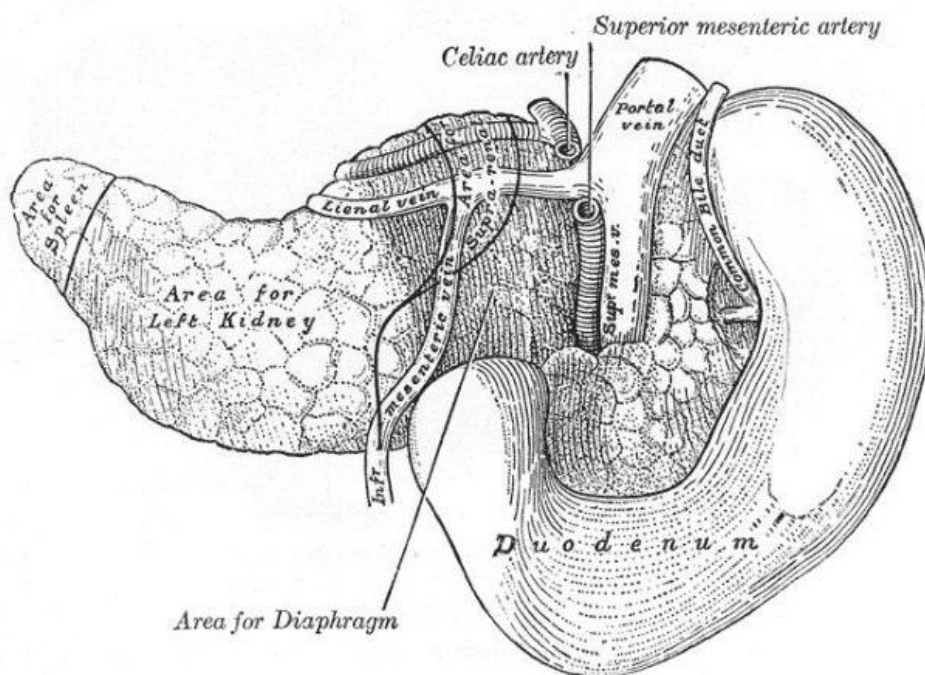


Figura 1.2 – Pancreas, veduta posteriore.

Il pancreas è stato definito come un crocevia delle vie linfatiche addominali.

Il drenaggio linfatico della ghiandola ha inizio nello stroma periacinare e perilobulare ad opera di esili capillari, che confluiscono in vasi di maggior calibro situati negli spazi interlobulari. Di qui la linfa raggiunge la superficie dell'organo ove si costituisce una rete di linfatici e di piccoli canali annessi che a loro volta confluiscono in diverse catene linfatiche che, seguendo i vasi, com'è regola generale, confluiscono nei due poli principali del drenaggio linfatico: il gruppo dei linfonodi mesenterici superiori e il gruppo dei linfonodi celiaci.

Dai linfonodi mesenterici superiori e celiaci attraverso tronchi afferenti, il drenaggio avviene direttamente nella cisterna chyli.

L'elevata frequenza d'interessamento linfonodale e l'importanza dello stato linfonodale quale fattore prognostico nei casi di adenocarcinoma primitivo pancreatico ha dato impulso a proposte di classificazione delle stazioni regionali linfonodali del pancreas,

derivate sia da studi autoptici sia eseguite sul materiale ottenuto da resezione chirurgica, soprattutto da parte di autori giapponesi (Nagakawa 1993).

In figura 1.3 sono raffigurate le principali stazioni linfonodali del pancreas.

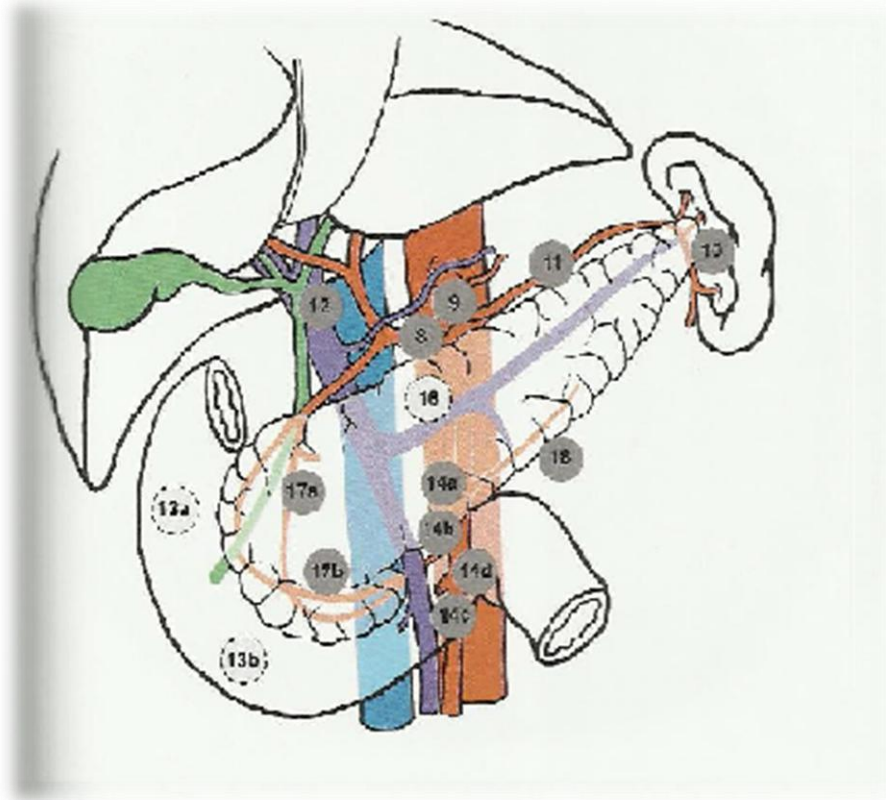


Figura 1.3: Classificazione giapponese dei linfonodi regionali

Linfonodi: 8) dell'arteria epatica; 9) del tripode celiaco; 10) dell'ilo splenico; 11) dell'arteria splenica; 12) del legamento epato-duodenale; 13a) pancreatico-duodenali posteriori sopra la papilla; 13b) pancreatico-duodenali posteriori sotto la papilla; 14a) della radice dell'arteria mesenterica superiore; 14b) dell'arteria pancreatico-duodenale inferiore; 14c) della radice dell'arteria colica media; 14d) della radice della prima digiunale; 16) para-aortici; 17a) pancreatico-duodenali anteriori sopra la papilla; 17b) pancreatico-duodenali anteriori sotto la papilla; 18) inferiori del corpo.

Il pancreas è innervato dal sistema nervoso autonomo e riceve sia fibre simpatiche attraverso i nervi splancnici, sia fibre parasimpatiche attraverso i nervi vaghi.

Le fibre nervose nel loro tragitto verso il pancreas seguono generalmente le arterie. Entrambi i sistemi inviano sia fibre efferenti, destinate alle pareti dei vasi, agli acini e ai dotti pancreatici, sia fibre afferenti viscerali per la conduzione degli stimoli dolorosi.

La maggior parte delle fibre nervose postgangliari del sistema simpatico dirette al pancreas decorre nel contesto della lamina fibrosa retrovenosa e convergono quindi

verso la lamina retroportale del pancreas stesso. A tali fibre è stato dato il nome di "Plexus Pancreaticus Capitalis". Questo viene suddiviso in due parti:

- la lamina unco-lunare (o plesso pancreatico superiore destro) formato dalle fibre che dal ganglio semilunare (celiaco) si dirigono sagittalmente verso il margine superiore mediale del processo uncinato del pancreas;
- la lamina unco-mesenterica (o plesso pancreatico superiore sinistro) formata dalle fibre che dal plesso aortico e da entrambi i gangli semilunari si dirigono al margine mediale del processo uncinato addossandosi all'arteria mesenterica superiore e di qui al pancreas.

E' opportuno ricordare che nella lamina unco-mesenterica decorrono le arterie che si dirigono al pancreas dalla mesenterica superiore e che queste due lamine costituiscono uno dei maggiori mezzi di fissità del pancreas.

Le fibre afferenti simpatiche sono la principale via di conduzione del dolore pancreatico. Le fibre afferenti parasimpatiche che hanno origine dal pancreas si portano al ganglio inferiore del vago e di qui al nucleo dorsale del vago. Le fibre efferenti parasimpatiche hanno origine dai motoneuroni viscerali del nucleo dorsale del vago e sono situate prevalentemente nel tronco vagale posteriore formato in gran parte da fibre del vago destro. Le fibre vagali sono in prevalenza non mieliniche e per il 90% sono afferenti.

Vi sono alcune fibre colinergiche che decorrono negli splancnici: queste, come le fibre vagali, seppure in maniera quantitativamente minore, hanno funzione eccitosecretoria e vasomotoria che si attua mediante vasodilatazione ed aumento del flusso ematico capillare.

In figura 1.4 è mostrato un quadro generale dell'innervazione del pancreas.

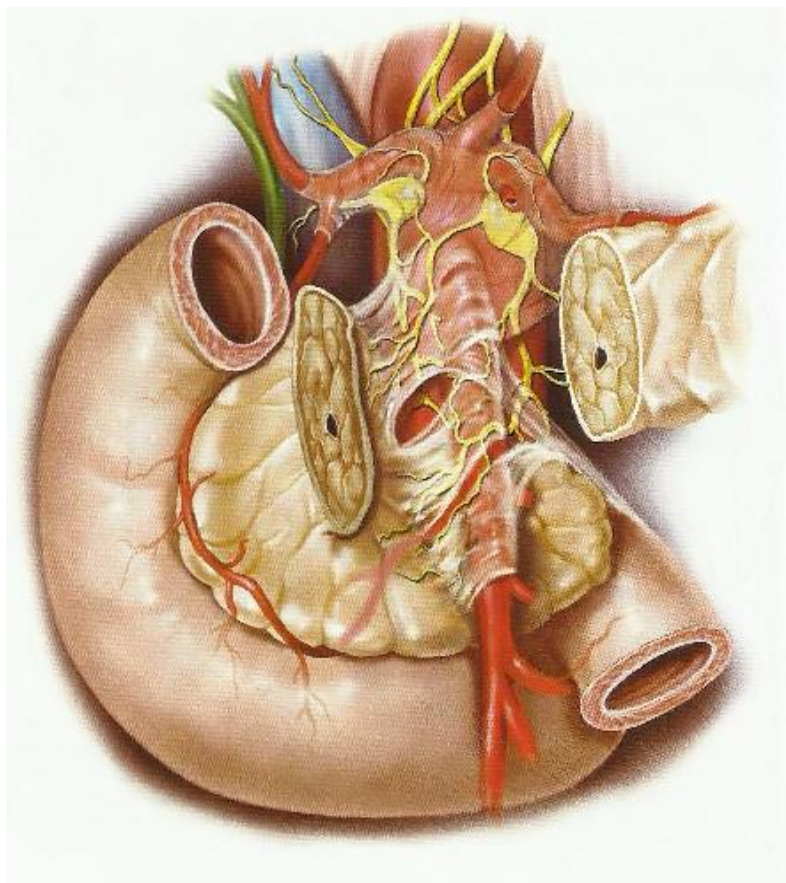


Figura 1.4: Quadro generale dell'innervazione del pancreas

1.2 Aspetti anatomo-patologici

L'adenocarcinoma pancreatico rappresenta, allo stato attuale, la quarta causa più comune di morte per patologia neoplastica maligna in quasi tutti i paesi Occidentali (4).

L'incidenza del tumore del pancreas è aumentata di anno in anno pressoché ovunque. In Europa ha subito un graduale ma progressivo aumento negli ultimi venticinque anni, passando da una incidenza del 2.9/100.000 ad una del 8-12/100.000 e del 4.5- 7/100.000 rispettivamente in maschi e femmine (5).

Il picco di incidenza della neoplasia è massimo nella settima-ottava decade (60-65 anni età media di diagnosi) ed è più frequentemente colpita la razza nera (30-40%), anche se la popolazione in cui si riscontra in assoluto la maggiore incidenza è quella ebraica (6).

Nonostante i notevoli progressi compiuti nella comprensione dei genotipi e dei fenotipi associati al tumore e l'avanzamento tecnologico dei mezzi diagnostici, la prognosi del cancro pancreatico rimane infausta, con una sopravvivenza globale dei pazienti a 5 anni inferiore al 4%: un dato che non è migliorato negli ultimi due decenni (7) e che dimostra come l'adenocarcinoma del pancreas si configuri ancora come il tumore a peggior prognosi nell'ambito delle neoplasie solide con un rapporto di incidenza di mortalità di circa 1/1 e con malattia già metastatica al momento della diagnosi nel 50-60% dei pazienti (8).

Caratteristiche fondamentali di questa patologia a decorso estremamente maligno sono l'eziologia non ben definita, l'assenza di una sintomatologia specifica, il decorso esplosivo, la resistenza alla terapia, la tendenza alle recidive anche nei casi di chirurgia

radicale e, pertanto, bassa sopravvivenza. Dal punto di vista clinico vi sono due aspetti che ancora oggi contribuiscono in modo fondamentale a rendere la prognosi infausta: i dati epidemiologici a nostra disposizione non consentono di individuare una popolazione con rischio definito di sviluppare la neoplasia, sulla quale poter esercitare programmi di sorveglianza periodica; il secondo aspetto è rappresentato dal fatto che anche la più attenta delle valutazioni cliniche offre scarse possibilità di poter porre un sospetto diagnostico in fase precoce di malattia e quindi di poter indirizzare al chirurgo pazienti suscettibili di resezione radicale ad intento curativo (9).

In virtù delle sue popolazioni cellulari, è possibile distinguere numerose tipologie di tumore. Nel 2000 la World Health Organization (WHO) ha classificato i tumori pancreatici esocrini in:

- Benigni
 - o Cistoadenoma sieroso
 - o Cistoadenoma mucinoso
 - o Adenoma intraduttale papillare mucinoso (IPMN)
 - o Teratoma maturo

- Borderline
 - o Neoplasia mucinosa cistica con displasia moderata
 - o Neoplasia intraduttale papillare mucinosa (IPMN) con displasia moderata
 - o Neoplasia solida pseudopapillare

- Maligni
 - o Adenocarcinoma duttale
 - o Cistoadenocarcinoma sieroso
 - o Cistoadenocarcinoma mucinoso
 - o Carcinoma intraduttale papillare mucinoso (IPMC)
 - o Carcinoma a cellule acinari
 - o Carcinoma solido pseudopapillare
 - o Pancreatoblastoma

Nel 2004 la WHO ha classificato le neoplasie endocrine del pancreas in:

- Tumori endocrini ben differenziati
 - o Funzionanti
 - o Non funzionanti

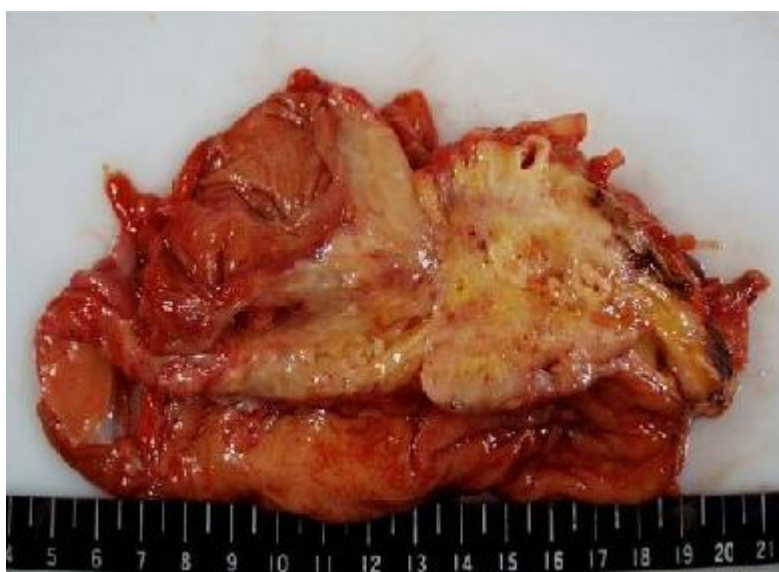
- Carcinomi endocrini ben differenziati
 - o Funzionanti
 - o Non funzionanti
- Carcinomi endocrini scarsamente differenziati
- Carcinomi misti esocrini-endocrini

A questi vanno aggiunti le neoplasie che insorgono nel pancreas come secondarismi di altri tumori, sia per diffusione diretta (stomaco, fegato, surrene) sia per disseminazione linfatica o ematogena, tipico il carcinoma a cellule chiare del rene e i linfomi non Hodgkin a sede addominale.

Gli adenocarcinomi duttali rappresentano l'80-90% di tutti i tumori del pancreas esocrino (10).

Macroscopicamente il tumore si presenta come una massa grigiastra a margini poco definiti (Figura 1.5), di consistenza scirroso, con all'interno possibili aree microcistiche, mentre più rare sono le aree di emorragia o necrosi; generalmente, al momento della diagnosi, il tumore della testa/processo uncinato ha dimensioni minori (2.5-3 cm) rispetto a quello del corpo-coda (5-7 cm) (11).

Figura 1.5 – Immagine di un adenocarcinoma duttale localizzato alla testa del pancreas



Il carcinoma della testa del pancreas contrae precocemente un intimo rapporto con il dotto di Wirsung, infiltrandolo fino ad ostruirlo, con conseguente dilatazione secondaria a monte associata a fibrosi del parenchima con atrofia della componente acinare (espressione di pancreatite cronica secondaria ostruttiva); fin dagli stadi iniziali inoltre, sia le neoplasie che originano dalla testa sia dal processo uncinato hanno un andamento aggressivo con precoce infiltrazione del coledoco, del tessuto adiposo retroperitoneale e delle strutture vascolari (in particolare i vasi del tripode celiaco, l'arteria mesenterica superiore, la vena porta e la vena mesenterica superiore) (11). I tumori del corpo/coda possono infiltrare precocemente gli organi vicini (stomaco, milza, colon) (12).

Microscopicamente l'adenocarcinoma duttale risulta costituito da cellule epiteliali con diversi gradi di atipia, organizzate in strutture simil-duttali, circondate da una reazione fibrosa che determina la consistenza dura del tumore; prima di giungere allo stadio di carcinoma invasivo, numerose alterazioni genetiche si sommano nelle cellule tumorali (mutazioni del gene k-ras, dei geni p16, p53, Er2-NEU e DPC4). Il grading della neoplasia, basato su criteri citoarchitettonici, prevede tre gradi (10) ed è riassunto in Tabella 1.1.

Tabella 1.1 – Gradi di differenziazione dell'adenocarcinoma duttale del pancreas.

Grading	Differenziazione ghiandolare	Produzione di muco	Mitosi (10 HPF)	Atipie nucleari
1	Ghiandole ben differenziate	Intensa	<5	Lievi
2	Ghiandole e strutture tubulari moderatamente differenziate	Irregolare	6-10	Moderate
3	Ghiandole poco differenziate e strutture pleomorfe	Abortiva	>10	Marcate

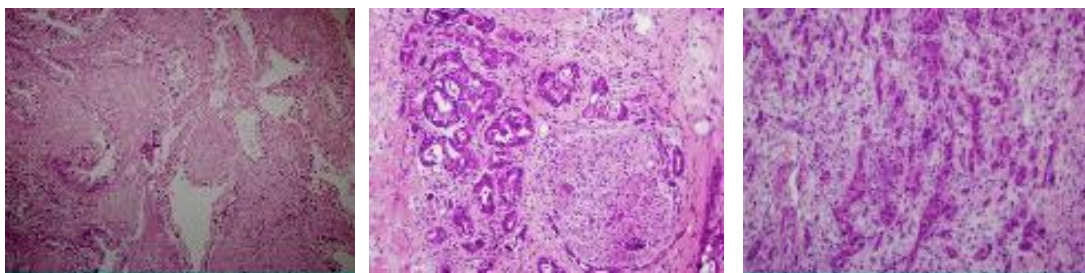


Figura 1.6 – Adenocarcinoma duttale del pancreas. I tre gradi di differenziazione. Da sinistra a destra (G1, G2 e G3).

Come per altri tumori, è accettato che, per potersi sviluppare una lesione maligna a livello pancreatico, siano necessarie una serie di mutazioni e non un singolo evento; sembra infatti verificarsi una progressione multi-step da tessuto pancreatico normale a tessuto neoplastico. Questa ipotesi è supportata, oltre che da studi molecolari, dall'individuazione di una serie di lesioni che risultano essere precursori di forme tumorali aggressive.

Infatti, le lesioni definite PanINs (Pancreatic Intraductal Neoplasm) sono lesioni precancerose costituite dall'epitelio dei piccoli dotti pancreatici produttori mucina. Il PanIN può essere Piatto (PanIN-1A), Papillare senza atipia (PanIN-1B), Papillare con atipia (PanIN-2) o può avere le caratteristiche di un carcinoma in situ (PanIN-3) (13) (14).

Osservando le mutazioni genetiche presenti in queste lesioni è stato evidenziato che l'attivazione del k-ras e l'inattivazione del p16 si dimostrano nelle lesioni PanIN-1 e 2 e che la mutazione del DCP4 si dimostra nelle PanIN-3 (15).

Alla luce di questi rilievi, è stato proposto un modello di progressione delle lesioni da PanIN-1 a PanIN-2 a PanIN-3 a adenocarcinoma infiltrante del pancreas (Figura 1.9) (13) (15).

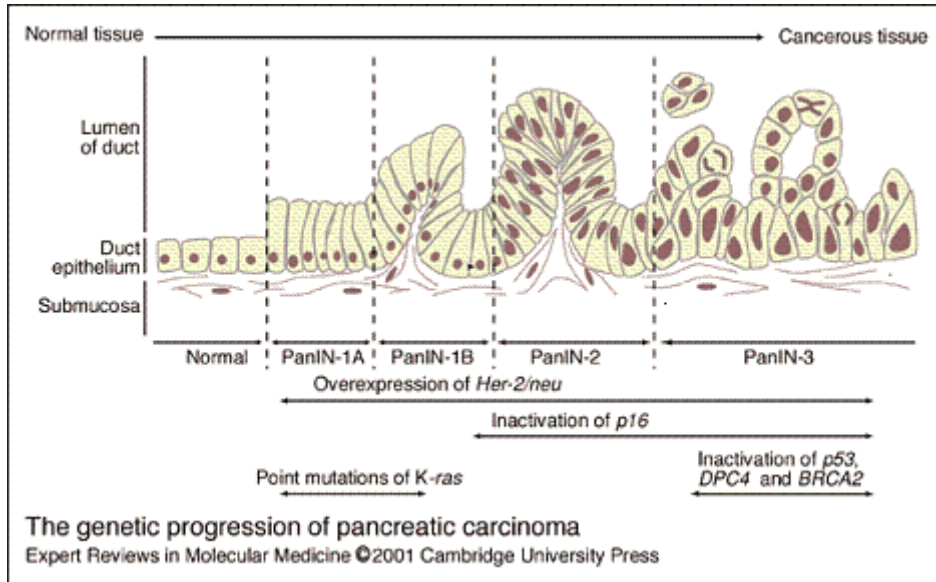


Figura 1.7 – Mutazioni genetiche e lesioni pre-neoplastiche

Il carcinoma mucinoso non cistico (1-3%) (16), il carcinoma con cellule ad anello con castone, la variante adenosquamosa (3-4%) (16) (17), il carcinoma misto duttale-endocrino (rarissimo) (18) rappresentano le varianti della forma classica (80-85%) dell'adenocarcinoma duttale: esse mostrano diversi gradi di atipia cellulare e dunque di malignità e, insieme, costituiscono circa il 7-10% dei casi di adenocarcinoma. Esiste infine la variante anaplastica o indifferenziata (detta anche carcinoma a cellule giganti), che rappresenta il 2-7% dei casi di adenocarcinoma ed ha una prognosi particolarmente infausta: essa è caratterizzata da cellule estremamente pleiomorfiche, con nuclei bizzarri e citoplasma eosinofilo e spesso risulta caratterizzabile solo sulla base della ricerca immunohistochimica delle citocheratine (11).

Il grading istologico è un importante fattore indipendente di prognosi che viene attribuito secondo i criteri WHO (10) (19), come precedentemente illustrato.

Figura 1.8- PanIN 1A

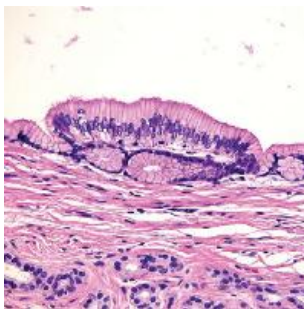


Figura 1.9-PanIN 1B

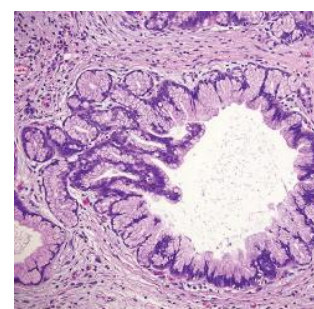


Figura 1.10-PanIN-2

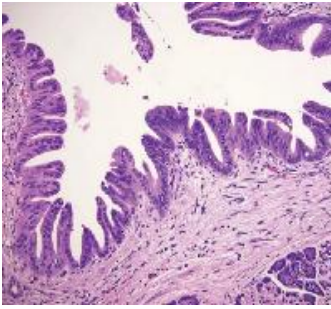
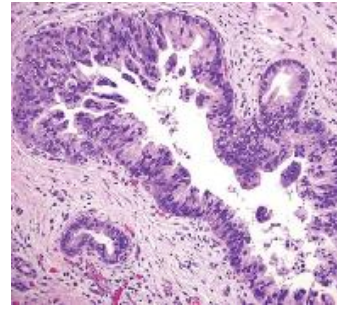


Figura 1.11-PanIN-3



1.2.1 Sistemi di stadiazione

Nel corso degli anni sono stati proposti numerosi sistemi stadiativi del carcinoma pancreatico, ma la classificazione più utilizzata attualmente è quella pubblicata dall'American Joint Committee on Cancer nel 2010 (AJCC-UICC Cancer Staging Manual, VII edizione) (20) (Tabella 1.2**) basata sul sistema internazionale TNM, ovvero sulla valutazione della dimensione ed estensione locale del tumore primitivo (T), dei linfonodi loco-regionali coinvolti (N) e sulla presenza di metastasi a distanza (M).

TABELLA 1.2: TNM ADENOCARCINOMA DEL PANCREAS (AJCC, 2010).

<i>Primary Tumor (T)</i>			
Tx	Primary tumor cannot be assessed		
T0	No evidence of primary tumor		
Tis	Carcinoma in situ; it also includes PanInIII claffication		
T1	Tumor limited to the pancreas, 2 cm or less in greatest dimension		
T2	Tumor limited to the pancreas, more than 2 cm in greatest dimension		
T3	Tumor extends beyond the pancreas but without involvement of the celiac axis or the superior mesenteric artery		
T4	Tumor involves the celiac axis or the superior mesenteric artery (unresectable primary tumor)		
<i>Regional Lymph Nodes (N)</i>			
Nx	Regional lymph nodes cannot be assessed		
N0	No regional lymph node metastasis		
N1	Regional lymph node metastasis		
<i>Distant metastasis (M)</i>			
M0	No distant metastasis		
M1	Distant metastasis		
<i>Stage Grouping</i>			
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage IA	T1	N0	M0
Stage IB	T2	N0	M0
Stage IIA	T3	N0	M0
Stage IIB	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Stage III	T4	Any N	M0
Stage IV	Any T	Any N	M1

Come si evince dalla stadiazione AJCC 2010, i primi criteri di valutazione sono rappresentati dal confinamento o meno del tumore all'interno della capsula pancreatica e dalle sue dimensioni. Gli adenocarcinomi T1 e T2 sono confinati alla ghiandola e si differenziano, rispettivamente, per avere un maggior diametro minore o maggiore di 2 cm.

Un carcinoma T3, indipendentemente dai suoi diametri, si estende al di fuori della capsula pancreatica. E' da notare che l'unica condizione per cui in stadio extracapsulare la malattia sia T3 è l'assenza di interessamento dei grossi vasi arteriosi peripancreatici (tripode celiaco ed arteria mesenterica superiore). Ne deriva che l'infiltrazione delle

grosse vene peripancreatiche (vena porta e sue radici anatomiche, rappresentate dalla vena mesenterica superiore, dalla vena splenica e dalla vena mesenterica inferiore) è considerata parametro T3.

Una neoplasia che interessi i grossi vasi arteriosi peripancreatici è considerata T4 e, in ragione della aggressività biologica della malattia e delle difficoltà tecniche resettive chirurgiche, definita "unresectable primary tumor" ("tumore primariamente non-resecabile"), ovvero non suscettibile di chirurgia primaria ("upfront surgery"). Tale stadio T4 è clinicamente definito come "carcinoma localmente avanzato".

Una recente validazione della concordanza tra la stadiazione AJCC e la sopravvivenza dei pazienti (Overall Survival) è stata riportata dall'analisi di oltre 120.000 pazienti inclusi nel National Cancer Data Base (NCDB) statunitense (21).

Sebbene la classificazione proposta dalla AJCC-UICC sia di più semplice comprensione e risulti essere la più utilizzata in Occidente, ne esiste un'altra proposta dalla Japan Pancreas Society (JPS, 5° edizione) del 2002 (Tabella 1.6), più dettagliata ed accurata, in particolare nella valutazione del parametro T, in quanto integra dati anatomopatologici e clinici; per la definizione dell'estensione loco-regionale del tumore essa prende in esame nove distinti parametri e in particolare, oltre alla valutazione dell'infiltrazione dell'asse venoso mesenterico-portale, analizza anche l'eventuale infiltrazione del tessuto retroperitoneale (22).

Tabella 1.3 - Stadiazione JPS (2002)

Stadio	T	S	RP	VP	N	M
I	T1	(<2 cm) S0	RP0	VP0	N0	M0
II	T2	(2-4 cm) S1	RP1	VP1	N1	M0
III	T3	(4-6 cm) S2	RP2	VP2	N2	M0
IV	T4	(>6 cm) S3	RP3	VP3	N3	M1

*S: invasione sierosa; RP: invasione retroperitoneale; VP: invasione della vena porta.
0: assenza di invasione; 1: invasione sospetta; 2: invasione definitiva; 3: invasione severa.*

1.2.2 Valutazione dei margini di resezione

Poiché alcuni studi hanno dimostrato che circa il 40% delle resezioni pancreatiche risulta non radicale per la presenza di infiltrazione microscopica dei margini di resezione, nel corso dell'esame estemporaneo intraoperatorio e nell'esame istologico definitivo è fondamentale valutare l'indennità dei margini di resezione (23).

Tutti i margini di resezione vanno così valutati in base al residuo tumorale evidenziabile (o

parametro R):

- R0: margine di resezione indenne da infiltrazione;
- R1: margini di resezione microscopicamente infiltrati;
- R2: margini infiltrati macroscopicamente al tavolo operatorio e alla valutazione istologica (23) (24).

I margini analizzati sono (24):

- il margine di resezione pancreatico (nell'intervento di DCP);
- il dotto biliare e il dotto pancreatico principale;
- il margine di resezione duodenale;
- il margine di resezione retroperitoneale (lamina retro portale o dell'arteria mesenterica superiore, come definito nelle ultime linee guida americane) (25);

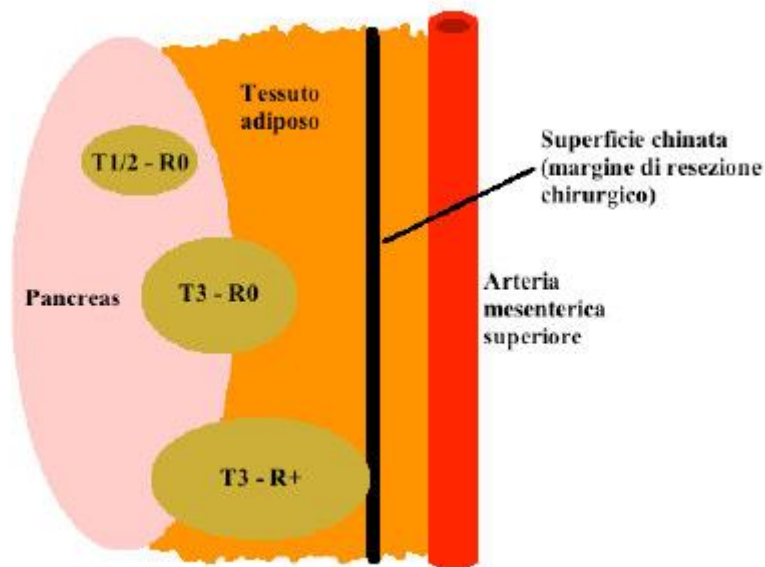
Il margine di resezione della lamina retroportale viene colorato sul pezzo operatorio con inchiostro di china e successivamente vengono ottenute 4-5 sezioni perpendicolari rispetto al dotto pancreatico, che sono analizzate al microscopio (Figura 1.14) (5) (23).



Figura 1.12 – Intervento di duodenocefalopancreasectomia. La parte marcata con l'inchiostro di china rappresenta la lamina retroportale (frecche blu).

Relativamente al margine di resezione retroperitoneale, viene definito come T3 con R0 un tumore che infiltra il tessuto adiposo retroperitoneale in tale sede, senza raggiungere il margine chinato, mentre l'infiltrazione del margine di resezione determina la definizione di R+ (R1/R2) (Figura 1.15) (23).

Figura 1.13 – Valutazione del margine di resezione retroperitoneale (lamina retroportale).



1.2.3 Valutazione dell'infiltrazione vascolare

I segmenti vascolari sottoposti a resezione vengono valutati all'esame istologico, che esprime un giudizio sul grado di infiltrazione secondo tre parametri:

- estensione circonferenziale;
- estensione longitudinale;
- estensione alle diverse tonache della parete vasale (avventizia, muscolare, intima).

La valutazione della lunghezza del segmento di vaso interessato dal tumore è un dato non sempre richiesto e nessuno studio ha ancora correlato questo parametro con la sopravvivenza.

L'invasione delle tonache interessate viene espressa secondo il seguente grading (26):

- Grado 0: assenza di infiltrazione vascolare (Figura 1.16);
- Grado 1: infiltrazione della tonaca avventizia e della tonaca media;
- Grado 2: infiltrazione della tonaca intima (Figura 1.17).

A questi gradi corrispondono differenze statisticamente significative di sopravvivenza del paziente; il grado 2 corrisponde dal punto di vista prognostico ad una potenziale malattia metastatica e dunque ad una ridotta aspettativa di vita (26).

Figura 1.14 – Contatto della neoplasia con la parete arteriosa, senza infiltrazione (G0)

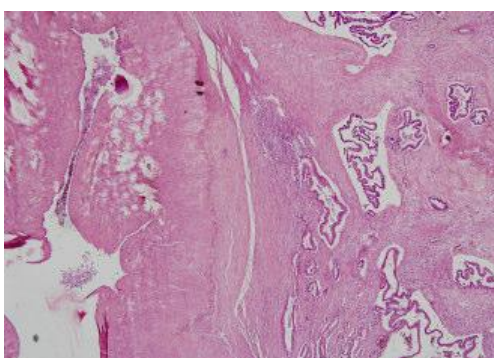
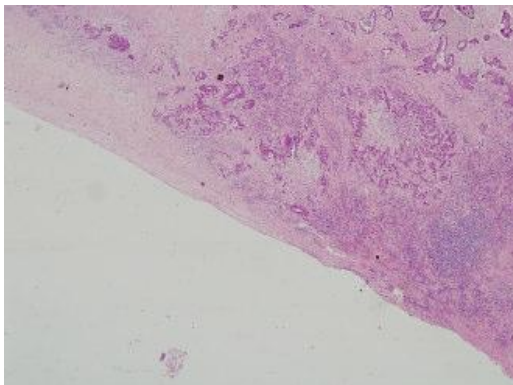


Figura 1.15- infiltrazione della parete arteriosa da parte della neoplasia



1.3 Segni e sintomi

Sintomi e segni dell'adenocarcinoma pancreatico tendono a manifestarsi spesso tardivamente, soprattutto se il tumore è situato a livello del corpo/coda: perciò la maggior parte dei tumori pancreatici sono diagnosticati in fase già localmente avanzata o metastatica. La sintomatologia precoce è infatti vaga, aspecifica e contribuisce a ritardare la diagnosi anche di settimane (27). Inoltre, la mancanza di segni e sintomi specifici fa sì che il carcinoma della testa del pancreas venga facilmente confuso con altre patologie come la gastroenterite, l'epatite, la colecistite, la colangite e la pancreatite (28).

Il sintomo più comune, per quanto non peculiare di questa neoplasia, è il dolore addominale, che costituisce per circa i 2/3 dei pazienti il sintomo iniziale; si tratta di un dolore continuo o intermittente, subdolo, forte; ha sede epigastrica e talvolta irradiato posteriormente alla base dei polmoni (27) (29). La genesi di questo dolore va correlata sia all'infiltrazione del plesso splancnico solare, che all'ostruzione del dotto di Wirsung con conseguente reazione pancreatica a monte e stimolazione dei nervi peripancreatici (2) (26).

Al dolore, si associano spesso anoressia e marcato calo ponderale (26).

Circa il 75% dei pazienti affetti da neoplasia della testa presenta ittero, che si manifesta in fase piuttosto precoce della malattia, causato dalla compressione od ostruzione della porzione intrapancreatica del dotto biliare comune (29). In circa il 25% dei casi si può apprezzare epatomegalia associata a colecisti palpabile e distesa (segno di Courvoisier) (30).

Possono presentarsi inoltre sintomi dovuti all'ostruzione meccanica del duodeno come nausea e vomito, oppure all'incompleta digestione dei grassi come steatorrea; inoltre in circa il 10% dei casi, un diabete mellito di recente insorgenza può essere la prima e unica manifestazione della neoplasia pancreaticata (27).

Nel 5% dei casi, il tumore può infine esordire con sintomi e segni caratteristici di una pancreatite acuta: questo accade quando la neoplasia occlude il dotto pancreatico principale o uno dei suoi rami collaterali; nei casi in cui, all'anamnesi, non si individuano cause possibili di pancreatite come abuso di alcool o calcoli va sempre sospettata la presenza di una massa neoplastica ostruente (30).

La comparsa di uno stato depressivo costituisce un sintomo meno frequente e uno stadio reattivo, verosimilmente secondario a diversi mesi di disagio addominale, perdita di

peso, anoressia, astenia e assenza di una diagnosi chiara; solo in casi eccezionali può costituire il sintomo iniziale della malattia. Alquanto rari sono i sintomi articolari caratterizzati da monoartrite o poliartrite associata a noduli sottocutanei: questi fenomeni sono dovuti alla necrosi grassa indotta dagli enzimi pancreatici e possono precedere il riscontro della patologia pancreatica (31).

La tromboflebite migrante (sindrome di Trousseau), condizione di ipercoagulabilità dovuta alla produzione di mucine da parte del tumore, può infine essere una possibile, sebbene aspecifica, modalità di presentazione dell'adenocarcinoma pancreatico (26).

1.4 Stadiazione preoperatoria

Un trattamento appropriato del carcinoma del pancreas dipende da un'accurata stadiazione preoperatoria. Storicamente, le prime stadiazioni sono state effettuate mediante la laparotomia esplorativa.

Gli odierni progressi della radiodiagnostica permettono di determinare lo stadio della malattia, nella maggior parte dei casi, senza sottoporre i pazienti ad intervento chirurgico esplorativo (32): ciò permette dunque di identificare quei pazienti candidabili ad una resezione curativa e contemporaneamente di far risparmiare, a quei pazienti con malattia metastatica o non resecabile, i rischi associati alla chirurgia con immediato indirizzo alla palliazione (32).

La valutazione preoperatoria ha il ruolo di escludere la presenza di criteri di non resecabilità della neoplasia.

Numerose sono le metodiche di diagnostica per immagini utili nell'individuazione e stadiazione dell'adenocarcinoma pancreatico, così come nella diagnosi differenziale e nel follow-up.

1.4.1 Ecografia (US)

L'US rappresenta in genere la prima indagine diagnostica in caso di sospetto clinico di lesione solida pancreatica. La diretta visualizzazione di una neoplasia risulta comunque spesso difficoltosa, in funzione delle dimensioni, della sede della neoplasia, dell'habitus del singolo paziente e dell'esperienza dell'operatore (33).

La maggior parte degli adenocarcinomi duttali si presentano come lesioni solide ipoecogene con margini sfumati ed irregolari (34) (35). In alcuni casi possono essere identificabili solo segni indiretti della presenza di neoplasia: la dilatazione del dotto di Wirsung e/o delle vie biliari intraepatiche e del coledoco.

In termini di stadiazione, l'ecografia può essere in grado di identificare la presenza di linfadenopatie locoregionali, metastasi epatiche o la presenza di liquido ascitico, espressione quest'ultimo di un possibile impegno peritoneale (carcinosi), permettendo talvolta una identificazione dei casi non resecabili.

Nonostante i progressi tecnologici, il limite maggiore della metodica resta tuttora la scarsa sensibilità nella definizione della stadiazione locoregionale della neoplasia ed in particolare nell'identificazione dell'invasione vascolare (35). Negli ultimi anni l'introduzione dell'imaging armonico associato all'impiego di mezzi di contrasto ecografici di seconda generazione ha apportato un notevole ampliamento nelle capacità diagnostiche dell'ecografia, in particolare in mani esperte (36).

1.4.2 Ecoendoscopia (EUS)

L'EUS è considerata attualmente una metodica non invasiva e altamente attendibile nella determinazione della diffusione loco-regionale delle neoplasie pancreatiche (37). La stretta vicinanza della sonda ecografica alla regione di interesse permette infatti l'utilizzo di alte frequenze di emissione, aumentando così la risoluzione dell'immagine. L'EUS può essere in grado di identificare anche lesioni di piccole dimensioni (35), di individuare accuratamente linfonodi di aspetto patologico e di predire con elevata accuratezza la resecabilità delle neoplasie, in quanto capace di individuare con alta sensibilità e specificità (circa 80%) l'eventuale presenza di invasione vascolare (38).

1.4.3 Risonanza magnetica (RM)

Lo sviluppo tecnologico che la RM ha avuto negli ultimi anni ha destato notevole impulso allo studio del pancreas. L'utilizzo di sequenze veloci (fast imaging) ha permesso di superare alcuni limiti della metodica quali gli artefatti da movimento (respiratori, vascolari e peristaltici) e la bassa risoluzione spaziale (39) (40).

La RM consente di effettuare nel corso di un unico esame una valutazione completa della regione pancreatica, fornendo informazioni circa la composizione e tessitura del parenchima ghiandolare (normale, infiltrazione fibro-adiposa, fibrosi pancreaticita cronica), la morfologia del sistema duttale e sulle strutture vascolari loco regionali, sia con sequenze basali che dopo introduzione di mezzo di contrasto endovenoso (mdc ev).

L'adenocarcinoma pancreatico si presenta caratteristicamente come una lesione ipointensa nelle sequenze T1 pesate e provvista di scarso enhancement nelle immagini dinamiche dopo mdc a distribuzione vascolare-interstiziale (chelati del Gadolinio), in rapporto al suo carattere ipovascolare ed alla reazione desmoplastica perilesionale.

Utilizzando sequenze particolari che esaltano il segnale dei fluidi statici (fortemente pesate in T2) o mediante la somministrazione di mdc ad escrezione biliare (Gadolinio BOPTA), la RM permette di ottenere una ricostruzione wirsung-colangiografica dell'albero biliare (colangio-RM) e del sistema escretore pancreatico, con un'accuratezza diagnostica del tutto simile a quella ottenibile con la colangiopancreatografia retrograda endoscopica (ERCP). In tal caso è possibile ottenere informazioni contemporanee sul sistema duttale bilio-pancreatico, dimostrando in particolare eventuali alterazioni morfologiche, irregolarità intraduttali, la sede di ostruzione e la probabile causa (40). La somministrazione di secretina può inoltre migliorare la visualizzazione e caratterizzazione di eventuali irregolarità endoluminali (41).

In modo analogo a quanto avviene per studi vascolari (angio-RM) in altri distretti, anche in ambito pancreatico la RM può fornire informazioni sui rapporti tra neoplasia e vasi (42).

Tuttavia, allo stato attuale, la risoluzione spaziale della RM risulta inferiore rispetto a quella fornita dalla tecnologia TC multistrato, che rappresenta pertanto la metodica di elezione per la stadiazione locoregionale e a distanza delle neoplasie pancreatiche.

1.4.4 Tomografia computerizzata (TC)

La TC rappresenta attualmente la metodica di riferimento per la diagnosi delle neoplasie pancreatiche, in quanto è in grado di identificare e caratterizzare le lesioni parenchimali (solide/cistiche) e di permetterne in un unico esame la stadiazione locoregionale ed a distanza (43).

In particolare, la tecnologia multidetettore ha introdotto un ulteriore miglioramento nella risoluzione spaziale ed una notevole riduzione nei tempi di acquisizione, con la

possibilità di ottimizzare lo studio post-contrastografico, imponendosi pertanto come metodica di prima scelta nella diagnosi e nella stadiazione dei tumori pancreatici (44).

Nel sospetto di neoplasia pancreatica lo studio TC deve essere finalizzato all'identificazione della lesione, mediante l'individuazione di segni diretti e indiretti. Segni diretti sono considerati: la presenza di una lesione focale di aspetto solido o misto, l'alterazione focale della struttura lobulare, l'aumento di volume focale o diffuso del pancreas, l'alterazione del profilo ghiandolare e, infine, la deformazione del processo uncinato. Quelli indiretti più frequenti sono essenzialmente legati all'infiltrazione delle strutture contigue: la dilatazione del coledoco, la dilatazione del Wirsung, l'atrofia del parenchima pancreatico a monte della lesione e la presenza di cisti da ritenzione (26).

L'adenocarcinoma pancreatico presenta allo studio TC un carattere peculiare: un aspetto ipodenso nelle fasi pancreatica e venosa, con, in alcuni casi, un'impregnazione contrastografica tardiva in rapporto alla presenza di componente desmoplastica (35).

Lo studio TC è pertanto finalizzato ad evidenziare la differenza post-contrastografica esistente tra neoplasia e parenchima pancreatico sano e, a tal fine, un ritardo di acquisizione di 35-40" ("fase pancreatica") è stato considerato ottimale, mentre, fasi di acquisizione più precoci (< 20"), non rilevano significative differenze di densità tra la neoplasia e parenchima sano (43) (45).

La stadiazione TC della malattia è rivolta a definire i parametri T, N e M ed i criteri di non resecabilità chirurgica della neoplasia.

Per quanto riguarda la valutazione del fattore linfonodale, attualmente la TC non risulta una metodica ad elevato valore predittivo: il criterio dimensionale è l'unico attualmente valutabile, considerato patologico quando l'asse corto di un linfonodo è maggiore di un centimetro (46). Risulta attualmente non eseguibile la caratterizzazione di eventuali foci microscopici di metastatizzazione in linfonodi di dimensioni normali (47).

Il fegato rappresenta la sede di metastatizzazione più frequente della neoplasia pancreatica e le lesioni ripetitive riproducono in genere le caratteristiche della lesione primitiva. In caso di carcinoma duttale esse si riconoscono in fase di acquisizione venosa e presentano un aspetto costantemente ipodenso, a volte ombelicate, a contorni spesso sfumati, privi di capsula (45).

Nella valutazione della carcinosi peritoneale la TC presenta scarsa accuratezza; spesso il sospetto di carcinosi è avanzato per la presenza di ascite, anche se non sono identificabili nodulazioni peritoneali (26).

Nell'ambito della stadiazione loco-regionale del carcinoma pancreatico, il fattore che assume maggior rilevanza è la valutazione dei parametri che contribuiscono alla determinazione del parametro T.

La TC consente di valutare: la sede e le dimensioni della lesione ed i rapporti che essa contrae con le strutture circostanti (dotto biliare, duodeno, tessuto adiposo retroperitoneale, strutture vascolari e organi adiacenti) (35). Naturalmente, in base a quanto precedentemente esposto circa la stadiazione della neoplasia, la valutazione dell'invasione delle strutture circostanti è di fondamentale importanza per determinare la resecabilità del tumore (T1-T3/T4).

La possibilità di eseguire ricostruzioni su piani coronali e sagittali e tridimensionali della lesione neoplastica mediante il processing delle scansioni acquisite mediante TC multistrato trifasica permette ad oggi di pianificare l'approccio terapeutico, in particolare la tattica e la tecnica chirurgica per aggredire il tumore secondo intenti di radicalità.

In Centri ad alta specializzazione, pur essendo la TC convenzionalmente definita una metodica "oggettiva" ovvero meno dipendente dall'operatore rispetto ad un esame ecografico, si assiste tuttavia, anche per questa forma di imaging, ad una correlazione

positiva tra expertise del radiologo dedicato alle patologie pancreatiche ed accuratezza ed affidabilità diagnostica, sottolineando che anche per questa tecnologia la presenza di solide basi culturali ed il continuo aggiornamento clinico siano fondamentali per migliorare l'assistenza ai pazienti.

Numerosi studi hanno confrontato le differenti tecniche di imaging al fine di definire tra queste quella più accurata nel predire la resecabilità del tumore; in tutti gli studi, in confronto alle metodiche di EUS e RM, la TC multistrato ha mostrato valori predittivi positivi del 95-100% nel giudicare la non resecabilità (48) (49) (50) (51), mentre risultati peggiori sono stati ottenuti nella determinazione della resecabilità (valori predittivi negativi che vanno dal 67% al 90%) (47) (48) (49) (50) (51). Utilizzando l'EUS nella determinazione della resecabilità, il valore predittivo positivo è stato inferiore (64%) o uguale alla TC (48).

1.4.5 Valutazione TC dell'infiltrazione vascolare

L'invasione vascolare nel cancro del pancreas ha ruolo chiave nel determinare il trattamento e la prognosi (52).

In passato la metodica più utilizzata per la valutazione dell'infiltrazione vascolare era l'angiografia; la classificazione angiografica dell'interessamento vascolare proposta da Nakao, che distingue 4 aspetti angiografici di ingravescente rapporto tra la neoplasia e l'asse venoso mesenterico portale (53), ben correla con lo stadio istologico della infiltrazione vascolare di parete valutato alla anatomia patologica (26).

Oggi l'angiografia non rientra più nel protocollo di indagine delle neoplasie pancreatiche e la stadiazione vascolare è affidata alle metodiche tomografiche non invasive (TC ed RM).

I segni TC di infiltrazione vascolare sono definiti dai rapporti di contiguità che la neoplasia contrae con le strutture vascolari (54).

I segni rilevabili all'esame TC che pongono il sospetto di invasione vascolare sono:

- la presenza di tessuto neoplastico ipodenso che giunge in contatto con il vaso (35);
- la presenza di un manicotto che determina oblitterazione del piano di clivaggio adiposo perivascolare (encasement) e che circonda il tumore per una porzione più o meno completa della sua circonferenza (55);
- la riduzione del calibro del vaso o l'ostruzione completa del lume vasale;
- la presenza di materiale trombotico endoluminale (56).

In uno studio del gruppo di Pisa pubblicato nel 2007 (57) è stato introdotto un nuovo sistema di grading TC del coinvolgimento vascolare, così suddiviso:

- grado 0: nessun contatto tra la lesione e il vaso;
- grado I: contiguità focale tra lesione e vaso, senza alterazione di calibro del vaso;
- grado II: qualsiasi contiguità circonferenziale tra lesione e vaso, con conservazione del calibro vascolare,
- grado III: qualsiasi contiguità circonferenziale tra lesione e vaso, con riduzione di calibro od

ostruzione del lume.

Secondo i risultati di tale lavoro di confronto tra grado TC e analisi istopatologica di infiltrazione, il grado 0 e I indicano una rapporto neoplasia-vaso di non infiltrazione con un valore predittivo di non infiltrazione dell'82%, mentre i gradi II e III sono risultati indicativi di infiltrazione nell'80% dei casi.

1.5 Tecniche chirurgiche

La chirurgia pancreaticata ha mosso i suoi primi passi solamente a partire dalla seconda metà del diciannovesimo secolo, grazie al progressivo miglioramento nella diagnostica e al parallelo avanzamento della tecnica chirurgica.

Una tappa importante fu segnata da nel 1898 da Codivilla e Halsted: essi eseguirono la prima duodenocefalopancreasectomia (DCP) della storia, anticipando di soli due anni la prima pancreasectomia totale (PT), eseguita da Franke nel 1900 (58).

Codivilla, operando una paziente affetta da carcinoma pancreatico, preferì eseguire, invece della classica enucleazione eseguita fino ad allora, una resezione in blocco non solo della porzione cefalica del pancreas, ma anche, data l'estensione della patologia, dello stomaco distale e del duodeno prossimale, ristabilendo la continuità alimentare tramite una gastro-digiunostomia su ansa ad Y secondo Roux (59). Nonostante le enormi difficoltà tecniche incontrate all'epoca, la chirurgia pancreaticata continuò ad evolversi fino a che Kausch, nel 1909, e Hirschel, nel 1912, eseguirono due DCP, che prevedendo nella fase ricostruttiva la triplice anastomosi gastrica, biliare e pancreaticata, possono essere considerate come le prime DCP moderne (58).

La vera svolta per la chirurgia pancreaticata si deve ad Allen O. Whipple, che nel 1935 pubblicò i primi risultati della sua esperienza (60) e nel 1940 eseguì l'intervento, che divenne lo standard mondiale di riferimento e che tutt'oggi viene indicato con il suo nome: la resezione in un unico tempo in blocco della testa del pancreas e delle strutture bilio-digestive attigue, cioè antro gastrico, C duodenale, prima ansa digiunale e porzione distale del coledoco (Figura 1.18).

Nei trenta anni successivi questo intervento fu soggetto a numerose variazioni per ridurre le complicanze, evitare le anomalie, garantire una maggiore e migliore sopravvivenza. L'intervento di Whipple rimase il più utilizzato fino a quando, nel 1978, Traverso e Longmire, modificando un precedente intervento di Watson del 1942 (61), introdussero la DCP con preservazione del piloro (Figura 1.19) (62). Questa procedura attualmente è la più diffusa, in relazione soprattutto, a parità di outcome a lungo termine, alla riduzione dei tempi operatori e alla diminuzione del sanguinamento intra-operatorio rispetto alla resezione classica di Whipple (63).

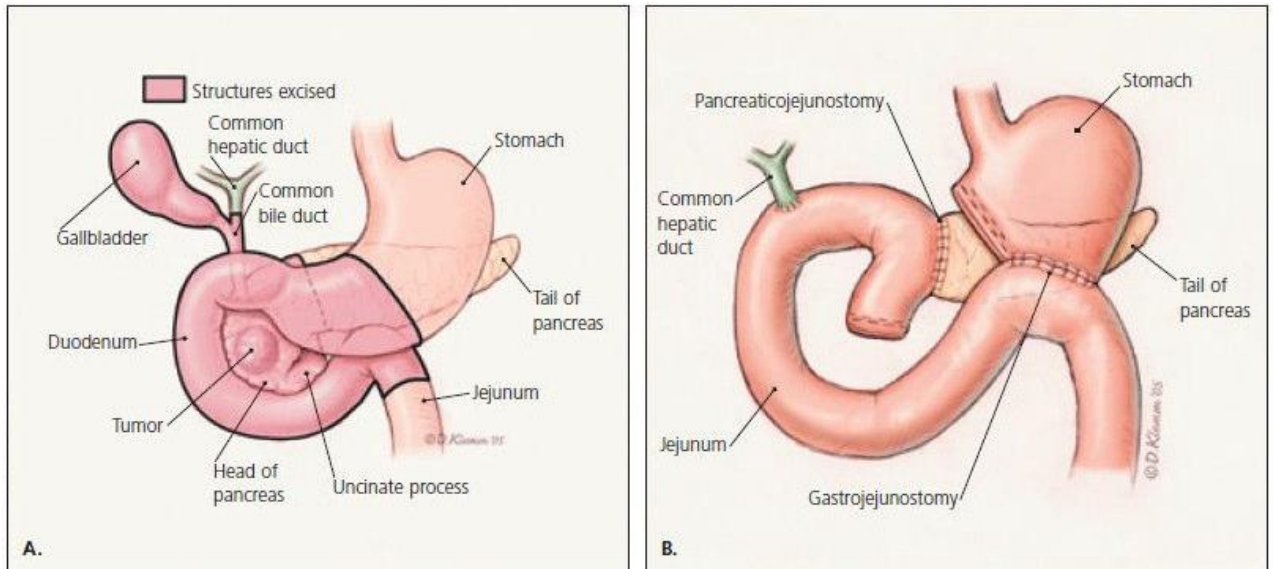


Figura 1.16 – DCP secondo Whipple. A) Anatomia della resezione, B) Ricostruzione

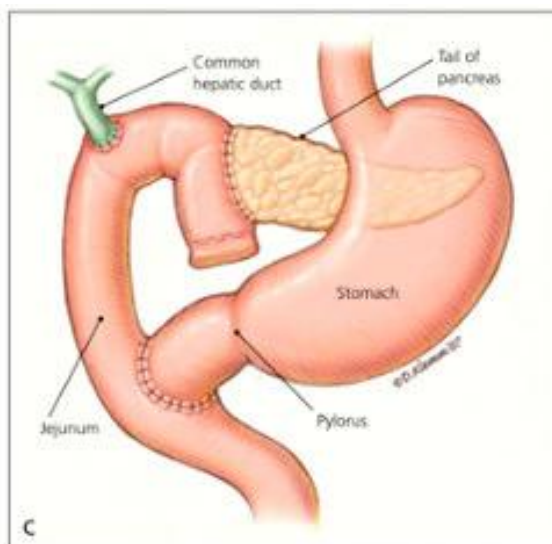


Figura 1.17: DCP secondo Traverso-Longmire

Sebbene l'esperienza di Whipple sia stata decisiva per l'evoluzione della chirurgia resettiva pancreaticca, i risultati, soprattutto per quanto concerne la DCP, rimasero comunque per lungo tempo non soddisfacenti (64) fino agli anni '80, in cui si assistette ad un'importante riduzione della mortalità post-operatoria (< 10%), che, associata alla maggiore sopravvivenza e alla migliore qualità di vita del paziente, portò a preferire la chirurgia resettiva, peraltro, unica procedura potenzialmente curativa (65). A partire dagli anni '90 la necessità di migliorare il recupero post-operatorio nonché di ridurre i tempi di degenza ha portato all'introduzione di metodiche mininvasive (66). Queste ultime (la laparoscopia a cui, più recentemente si è affiancata la robotica) sono ad oggi riservate ai casi di malattia confinata alla ghiandola pancreaticca ed a casi selezionati di malattia ad estensione extraghiandolare.

1.5.1 Duodenocefalopancreasectomia (DCP)

Questo intervento è indicato nei casi di processi espansivi patologici a carico della porzione cefalica della ghiandola pancreatica. L'intervento consiste nell'asportazione della testa del pancreas. Per ragioni anatomiche, la testa del pancreas deve essere rimossa insieme al duodeno, alla porzione terminale della via biliare (coledoco) e alla colecisti.

L'intervento comporta le seguenti fasi:

- esplorazione del pancreas e degli organi circostanti, per verificare i reperti degli esami diagnostici preoperatori;
- liberazione del pancreas dalle aderenze coi tessuti circostanti. Questa fase può essere molto delicata per le aderenze, di tipo tumorale o di tipo infiammatorio, che possono essere presenti tra il pancreas e le vene e le arterie che decorrono a stretto contatto con la ghiandola;
- sezione della via biliare, del duodeno, della prima ansa digiunale, e del pancreas a livello del passaggio tra testa e corpo della ghiandola;
- asportazione del pezzo operatorio, costituito da testa del pancreas- duodeno- via biliare terminale;
- ricostruzione degli organi sezionati, attraverso l'unione di un'ansa digiunale al pancreas residuo, alla via biliare residua ed alla prima porzione duodenale.

La sutura tra pancreas e intestino, per le caratteristiche del pancreas, è la più delicata ed è la fonte delle maggiori complicazioni postoperatorie.

1.5.2 Pancreasectomia distale

Questo intervento è indicato nei casi di lesioni a carico della porzione distale della ghiandola. L'intervento viene eseguito per i tumori o le infiammazioni croniche localizzate nella parte denominata corpo-coda del pancreas. Questo intervento nella maggior parte dei casi comporta anche l'asportazione della milza, dato che questo organo ha una posizione anatomica in stretta vicinanza con la coda del pancreas. In questo intervento si seziona il pancreas a livello del passaggio tra testa e corpo, e si rimuove la parte sinistra dell'organo. Non sono necessarie altre suture o ricostruzioni.

1.5.3 Pancreasectomia intermedia

Questo intervento è indicato nei casi di tumore benigno del corpo del pancreas (cistico o endocrino). E' un intervento eseguito raramente, in alternativa alla pancreasectomia distale, quando non è possibile eseguire l'intervento di enucleazione a causa della posizione del tumore nella ghiandola. E' eseguito in casi selezionati, per ridurre il rischio di diventare diabetici dopo l'intervento. L'intervento ha lo scopo di asportare solamente la porzione intermedia del pancreas, conservando la testa e la coda. Si seziona il pancreas, sia a livello del passaggio tra testa e corpo, che a livello del passaggio tra corpo e coda, rimuovendo il corpo. Si deve poi anastomizzare un'ansa intestinale alla coda pancreatica rimasta, per raccoglierne le secrezioni. Il vantaggio di questo intervento è la conservazione della maggior parte del parenchima pancreatico, riducendo le possibili conseguenze di insufficienza esocrina ed endocrina. Lo svantaggio è il rischio di maggiori complicanze, rispetto all'intervento di pancreasectomia distale, dovuto alla

presenza di una anastomosi tra la coda del pancreas e l'ansa intestinale. Questa sutura, per le caratteristiche del pancreas, è molto delicata con possibile sviluppo di fistola pancreatica e conseguente rischio di gravi complicazioni.

1.5.4 Pancreasectomia totale

Questo intervento è indicato nei casi di coinvolgimento generalizzato della ghiandola. L'intervento viene eseguito quando il tumore cresce lungo tutto il pancreas, oppure quando è multifocale e non è possibile conservare una parte della ghiandola. L'intervento consiste nell'asportazione di tutto il pancreas. Per ragioni anatomiche, la testa del pancreas viene asportata insieme al duodeno, alla porzione terminale della via biliare (coledoco) e alla colecisti.

L'intervento comporta le seguenti fasi:

- esplorazione del pancreas e degli organi circostanti, per verificare i reperti degli esami diagnostici preoperatori;
- liberazione del pancreas dalle aderenze coi tessuti circostanti. Questa fase può essere molto delicata per le aderenze, di tipo tumorale o di tipo infiammatorio, che possono essere presenti tra il pancreas e le vene e le arterie che decorrono a stretto contatto con la ghiandola;
- sezione della via biliare, del duodeno, della prima ansa digiunale;
- asportazione del pezzo operatorio, costituito da pancreas- duodeno- via biliare terminale;
- ricostruzione degli organi sezionati, attraverso l'unione di un'ansa digiunale alla via biliare residua ed alla prima porzione duodenale.

1.5.5 Indicazioni all'intervento (67)

L'opportunità di eseguire una resezione pancreatica in caso di malattia "borderline resectable" o "localmente avanzata", cioè neoplasie che coinvolgono, o sembrano coinvolgere, rispettivamente i grossi tronchi venosi ed i grossi tronchi arteriosi peripancreatici, è dibattuta da un punto di vista concettuale, oncologico e tecnico.

La necessità di resecare un grosso tronco vascolare peripancreatico non può essere, tuttavia, prevista con certezza alla stadiazione pre- e/o intraoperatoria e, non di rado, diviene evidente solo dopo aver sezionato l'istmo del pancreas, una fase in cui è comunque necessario portare a termine l'intervento resettivo.

La prima resezione della vena mesenterica superiore in corso di pancreasectomia fu effettuata nel 1951 da Moore (68). Il segmento vascolare resecato fu ricostruito con un'anastomosi diretta termino-terminale. Si susseguirono alcune tecniche alternative fino agli anni '70, quando J. Fortner fece il primo tentativo di identificare il razionale oncologico e di definire la tecnica chirurgica di questi interventi, senza tuttavia arrivare a risultati incoraggianti nel breve e lungo periodo (69). Più recentemente l'esperienza maturata ha dimostrato che questi interventi, se eseguiti in centri specializzati, non si associano ad un aumento della morbilità e mortalità postoperatorie, risvegliando un certo interesse circa il loro significato oncologico (70) (71).

Esistono limiti tecnici ed indicazioni oncologiche (72). Il programma terapeutico può variare in relazione al tipo istologico.

Tradizionalmente, i limiti legati all'istotipo possono essere così riassunti:

- *Adenocarcinoma duttale*: l'intervento resettivo è controindicato in caso di:

- metastasi a distanza istologicamente documentate;
- infiltrazione della lamina retroportale con interessamento dell'arteria mesenterica superiore;
- infiltrazione circonferenziale dell'asse venoso mesenterico-portale con trombosi neoplastica;
- infiltrazione di segmenti vascolari multipli.

L'infiltrazione isolata breve dell'arteria epatica comune non controindica in modo assoluto la resezione, come non la controindica l'infiltrazione di un segmento dell'asse mesenterico-portale circondato per meno di metà della sua circonferenza.

• *Neoplasie periampollari ed altri istotipi tumorali del pancreas esocrino*: l'exeresi è controindicata in caso di metastasi a distanza, d'infiltrazione di segmenti multipli o di trombosi mesenterico-portale neoplastica. Nelle altre circostanze la resezione può essere eseguita.

• *Neoplasie neuroendocrine*: in assenza di limiti tecnici, le neoplasie neuroendocrine (eccetto quelle scarsamente differenziate) dovrebbero essere resecate sempre. Le metastasi epatiche non costituiscono una controindicazione assoluta, a patto che siano resecabili o trattabili con terapie locali.

I principali limiti tecnici sono dettati dalla localizzazione della neoplasia. Infatti non sono primariamente resecabili le neoplasie che si estendono nella radice del mesentere tanto da coinvolgere i rami di origine della vena mesenterica superiore e/o i rami di biforcazione dell'arteria mesenterica superiore. Anche il coinvolgimento dell'aorta, e/o dei rami di divisione ilare della vena porta o dell'arteria epatica rappresentano limiti tecnici difficilmente valicabili con una upfront surgery.

CAPITOLO 2: SCOPI DELLO STUDIO

- 1) Valutare in pazienti resecati per PDAC:
 - La volumetria della massa tumorale (TVR)
 - La "ratio" delle metastasi linfonodali (NR)
- 2) Correlazione di TVR e NR con il TMN
- 3) Correlazione con un marcatore biologico:
 - Espressione proteica del Citocromo B5 tipo A (CYB5A)
- 4) Correlazione con SEGNI e SINTOMI CLINICI con TVR, LNR e CYB5A

CAPITOLO 3 : PAZIENTI E METODI

Nel periodo compreso tra il 2004 e il 2008, sono stati eseguiti 173 interventi chirurgici di pancreatectomia per adenocarcinoma duttale (PDAC), di cui 126 duodenocefalopancreatectomie (DCP).

Per ogni paziente, il pezzo operatorio, conservato in soluzione fisiologica ed in condizioni sterili, veniva inviato al laboratorio dedicato di anatomia patologica.

Il protocollo di analisi anatomopatologica era in accordo con gli standard internazionali vigenti al momento dell'analisi (WHO 2004). In particolare, si segnala l'esecuzione dell'analisi macroscopica del pezzo operatorio, durante la quale venivano riportate le parti anatomiche pervenute con le relative misure lineari: veniva registrata l'altezza, la larghezza e lo spessore sia del pezzo operatorio che della neoplasia. Tali misure lineari sono state in seguito utilizzate per calcolare rispettivamente i *volumi* dello stesso pezzo operatorio e della neoplasia.

Oltre all'analisi della neoplasia primitiva venivano campionati i margini di resezione ed i linfonodi regionali asportati insieme al tumore, per valutarne l'infiltrazione neoplastica a livello microscopico. In questa fase veniva inoltre valutata l'infiltrazione degli spazi neurali.

Tutti i dati di ogni singolo caso sono stati inseriti in un Database dedicato che è stato costruito per razionalizzare e relazionare le varie attività che riguardano lo studio dei tumori pancreatici.

Ogni caso viene indicizzato con un codice alfa-numerico progressivo (PPxxx) attraverso il quale è possibile risalire a tutte le informazioni di carattere clinico, anatomopatologico e molecolare.

Per ogni paziente è stato ottenuto il pTNM in accordo con il sistema TNM-AJCC 6TH, 2002.

Per ogni singolo paziente è stato calcolato il volume relativo della neoplasia duttale, rispetto al volume del pezzo operatorio, riportando esclusivamente le misurazioni (H x L x P) del parenchima pancreatico.

Di conseguenza, il volume relativo della neoplasia (*TVR*) è stato calcolato come rapporto tra il volume del tumore (*TV*) ed il volume del parenchima pancreatico resecato (*RV*), secondo la seguente formula :

$$TVR = TV / RV$$

E' stato quindi sviluppato un secondo parametro, inerente al comportamento biologico che il tumore primitivo può avere rispetto ai linfonodi locoregionali: il *lymphnode ratio* (LNR). Lo LNR esprime il rapporto tra il numero dei linfonodi metastatici (pN+) valutati microscopicamente ed il numero dei linfonodi totali, individuati a livello istologico (TN), secondo la seguente formula:

$$LNR = N+ / NT$$

I rapporti TVR e LNR sono stati quindi espressi in percentuale (%).

I pazienti arruolati nello studio sono stati in prima istanza suddivisi in base al fattore T del TNM (UICC 2002) e quindi in base al fattore linfonodale N (pN0 vs pN1 = pN+).

I pazienti pM1 (stadio IV - pazienti con metastasi a distanza) non sono stati presi in considerazione nel presente studio.

E' stata inoltre eseguita l'analisi del grading tumorale (G1, G2, G3) in accordo con i criteri della World Health Organization (WHO).

I pezzi operatori sono stati campionati e ridotti secondo le procedure standard usate in anatomia patologica al fine di ottenere frammenti tissutali inclusi in paraffina. Con tali frammenti di parenchima pancreatico contenenti aree tumorali, sono stati allestiti TMA (Tissue Macro Array) di tessuto incluso in paraffina rappresentativo della casistica selezionata per tale analisi, allo scopo di eseguire uno studio immunohistochimico per

valutare l'espressione del gene CYB5A nei pazienti affetti da PDAC. L'indagine immunohistochimica è stata condotta su 101 dei 173 tumori presi in esame, di cui 76 erano tessuti provenienti da pazienti sottoposti a DCP e di cui è stata fatta una valutazione completa clinico-molecolare, sia per i pazienti risultati pT3N0 (n = 10) sia per i pazienti pT3N1 (n = 66).

Per ogni paziente è stata valutata l'espressione della proteina CYB5A contando il numero di cellule positive (0=Nessuna; 1=inferiore al 25%; 2=compresa tra il 25% ed il 50%; 3=Maggiore del 50%), sommando questo punteggio con il loro grado di intensità colorimetrica (0=Negativa; 1=Debole; 2=Media; 3=Intensa). Per ogni area tumorale è stato ottenuto uno score finale basato su un *range* di punteggio compreso tra 0 e 6. (0= proteina assente; 6= proteina molto espressa). L'espressione della proteina CYB5A è stata considerata con bassa espressione nei casi con score inferiore o uguale a 3. Per punteggi di score superiori a 3, l'espressione della proteina è stata considerata alta.

Al termine della procedura i vetrini sono stati contro colorati con ematossilina, differenziati in ammoniaca, deidratati in alcoli progressivi (etanolo 95°, etanolo 99°, xilene) e montati permanentemente con balsamo sintetico.

I preparati sono stati osservati e fotografati al microscopio ottico ad ingrandimento 40x. Da un punto di vista clinico, sono stati inoltre indagati ed analizzati, in modo retrospettivo, i dati anamnestici e clinico-laboratoristici di tutti i pazienti, sia pT3N0 che pT3N1.

I dati anamnestici e clinico-laboratoristici, di cui è stata condotta la valutazione nella coorte dei pazienti, sono stati scelti tra variabili pre-operatorie e variabili post-operatorie e risultano essere i seguenti:

variabili pre-operatorie categoriali:

- Fumo
- Assunzione di alcool
- Ittero all'ingresso in clinica
- Dolore addominale tipico
- Dimagrimento
- Diabete mellito (DM) di nuova insorgenza o peggioramento di DM preesistente

variabili pre-operatorie continue:

- Valore di Ca19.9 (ng/mL)
- Albuminemia pre-operatoria (g/dL)

variabili post-operatorie categoriali:

- Infiltrazione vascolare documentata all'esame istologico definitivo
- DM post-operatorio
- Terapia enzimatica sostitutiva post-operatoria.

La scelta di tali variabili cliniche è giustificata dalle seguenti considerazioni:

- fumo e alcool: nota associazione con l'insorgenza della patologia neoplastica pancreatico, come fattori causali e promuoventi l'insorgenza e/o progressione della neoplasia
- ittero, dimagrimento, dolore, diabete mellito di nuova insorgenza o in peggioramento, aumento dei livelli di CA19.9 e valore dell'albumina pre-operatoria: nota elevata frequenza clinica al momento della diagnosi nella coorte di pazienti con adenocarcinoma duttale del pancreas

L'infiltrazione vascolare, il valore di Ca 19.9, dell'albuminemia pre-operatoria sono inoltre in rapporto con la possibilità che tali variabili possano esplorare la biologia ed il "behaviour" tumorale; infine sono state scelte variabili relazionabili al tipo di trattamento che tale neoplasia richiede (terapia enzimatica sostitutiva, diabete mellito post-operatorio).

In ragione dell'arco temporale abbracciato dallo studio molecolare nell'arruolamento dei pazienti e dei campioni anatomico-patologici, della revisione retrospettiva, ed in ragione del differente inquadramento clinico dei pazienti in funzione dell'epoca di arruolamento a seguito delle migliori conoscenze della patologia tumorale pancreatica sopravvenute, siamo consci che tali variabili cliniche non sono uniformemente presenti per tutti i pazienti. La loro numerosità e distribuzione, comunque, è tale da permettere le analisi precedentemente indicate come obiettivi dello studio.

Le variabili continue sono state analizzate tra le coorti mediante il test t di Student. Le variabili categoriche sono state analizzate tra le coorti mediante il test χ^2 . Il valore di significatività adottato è pari a $p < 0.05$.

CAPITOLO 4: RISULTATI

È stata eseguita la stadiazione TNM, seguendo la classificazione UICC 2002 e il grado di differenziazione seguendo i criteri stabiliti dalla Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO).

Sono stati così individuati nell'ambito dei pazienti sottoposti a DCP, 10 pazienti pT3N0 e 66 pazienti pT3N1Mx.

La valutazione del valore di TVR e' stata eseguita su tutti i campioni arruolati nello studio, assieme alla valutazione di LNR, successivamente rapportati alle variabili cliniche sopra citate, per entrambi i gruppi di pazienti.

Analisi dati pazienti pT3N0 (n = 10)

Nella popolazione esaminata (4 maschi e 6 femmine), l'età media di insorgenza è stata $67,4 \pm 10$ anni, con insorgenza più precoce nel sesso maschile (età media 64 anni) rispetto al sesso femminile (età media 69,7 anni).

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico di duodenocefalopancreasectomia (DCP); in 4 casi su 10 è stato necessario eseguire una resezione vascolare in blocco: in 2 casi è stata effettuata la resezione del confluente mesenterico-portale (CMP), in 1 caso è stata resecata la vena mesenterica superiore (VMS) ed in 1 caso è stato necessario resecare la vena Porta e la v. Renale. In un solo caso (10%) l'infiltrazione vascolare è stata confermata istologicamente.

È stato calcolato per ogni paziente il valore percentuale del TVR, ottenendo così un TVR medio pari a $11,99\% \pm 0,082$.

In tale coorte di pazienti il numero medio di linfonodi totali asportati è risultato essere di $30,2 \pm 12,09$, tutti risultati, in accordo alla definizione di stadio T3N0, negativi, determinando di fatto un *LNR pari allo 0,00%*.

I pazienti che presentavano entrambe le copie del gene indicati come CYB5A+ ed i pazienti con perdita di una copia dello stesso gene indicati come CYB5A-, sono risultati in tale gruppo equamente distribuiti:

CYB5A+ : CYB5A- = 5 : 5

Il numero di pazienti in cui è stato possibile risalire ai fattori di rischio quali fumo e alcool sono stati 3 su 10, con positività per esposizione ad alcool e fumo in un solo caso; negli altri 2 casi in anamnesi non si evidenziava assunzione di alcool o esposizione voluttuaria alla fumo di sigaretta:

fumo si = 1 fumo no = 2

alcool si = 1 alcool no = 2

I pazienti che al momento del trattamento risultavano itterici sono stati 4, in 3 non era presente ittero.

Il dolore era presente in 3 pz su 10, in 4 tale sintomo non compariva.

Da 3 pazienti su 10 veniva riferito dimagrimento, 4 pz su 10 affermavano di non aver osservato cambiamenti del proprio peso corporeo.

In 2 pazienti si riscontrava DM pre-operatorio, mentre era assente tale reperto in 4 pazienti su 10.

Il valore medio dell'albumina pre-operatoria è risultato essere in tale gruppo di pazienti pari a $3,475 \pm 0,53$ mg/dL.

Il valore medio del Ca 19.9 è risultato essere $785,22$ U/mL con un valore di deviazione standard pari a $923,96$, a testimonianza dell'ampio range entro cui varia il valore di tale marker, della sua distribuzione non normale e della limitata validità che esso può avere nella fase pre-operatoria.

Nessun paziente, a seguito dell'intervento, ha sviluppato DM; in 2 pazienti è stato necessario iniziare una terapia enzimatica sostitutiva, in 2 pazienti non è stato necessario, mentre degli altri non è stato possibile reperire tale informazione.

Analisi dati pazienti pT3N1 (n = 66)

Coorte costituita da 66 pazienti, in cui l'incidenza di PDAC è risultata analoga in entrambi i sessi (33F; 33M) con un rapporto dunque M:F di 1:1.

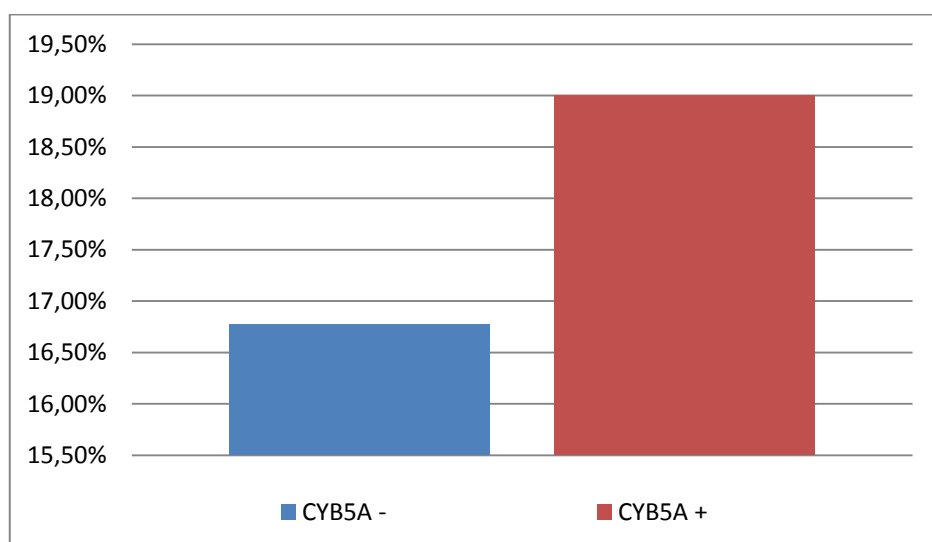
L'età media dei pazienti alla diagnosi è stata pari a $64,47 \pm 9,4$ anni; l'insorgenza della neoplasia avviene più precocemente nel sesso maschile con età media alla insorgenza pari a $63,54 \pm 8$ anni, mentre nel sesso femminile l'età media di insorgenza è stata $65,39 \pm 10,65$ anni.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a DCP; retrospettivamente, la resezione vascolare è nota per 24 pazienti ed in particolare in 21 casi è stata eseguita la resezione della sola vena mesenterica superiore (VMS), in 1 paziente è stata effettuata una resezione combinata di arteria mesenterica superiore e vena mesenterica superiore, 1 caso ha visto resezione di vena mesenterica superiore e arteria epatica mentre in 1 caso è stata resecata la sola arteria epatica.

L'infiltrazione vascolare è stata confermata in 15 casi ($15/24 = 62.5\%$), mentre in 4 all'esame istologico definitivo non è stato riscontrato tale reperto.

In tale gruppo di pazienti *il valore medio del TVR è stato $17,72\% \pm 0,146$.*

Confrontando il valore medio di TVR dei pazienti CYB5A+ (coloro che presentavano entrambe le copie degli alleli del gene) con quello dei pazienti CYB5A- (perdita di uno o entrambi gli alleli del gene) è risultato che il volume relativo della neoplasia (TVR) è maggiore nei pazienti con espressione completa del gene rispetto al volume relativo presente nei pazienti con perdita di copie alleliche, con una differenza statisticamente significativa (CYB5A+ vs CYB5A- = $19,00\%$ vs $16,77\%$, $p < 0.05$).



La linfadenectomia è stata eseguita in tutti i pazienti ed il numero medio di linfonodi asportati è stato $35,68 \pm 15,51$.

Attraverso l'analisi microscopica è stato possibile valutare il numero medio linfonodi interessati da metastasi, che è stato pari a $5,67 \pm 4,57$.

Calcolando dunque il rapporto, per ogni paziente, tra numero di linfonodi totali asportati e il numero di essi che sono risultati positivi si rileva un *LNR medio pari a $18,44\% \pm 0,16$.*

Il numero di pazienti in cui è stata riscontrata la perdita di uno o entrambi gli alleli del gene CYB5A, attraverso l'analisi immunohistochimica, è risultato pari a 38, contro i 28 in cui erano conservate entrambe le copie di alleli: il LNR medio dei pazienti CYB5A+ era pari a 19.7% e quello dei pazienti CYB5A- era pari a 17.52% ($p < 0,05$, NS).

Le analisi di tutte le variabili cliniche e di laboratorio ha messo in evidenza in questo sottogruppo di pazienti:

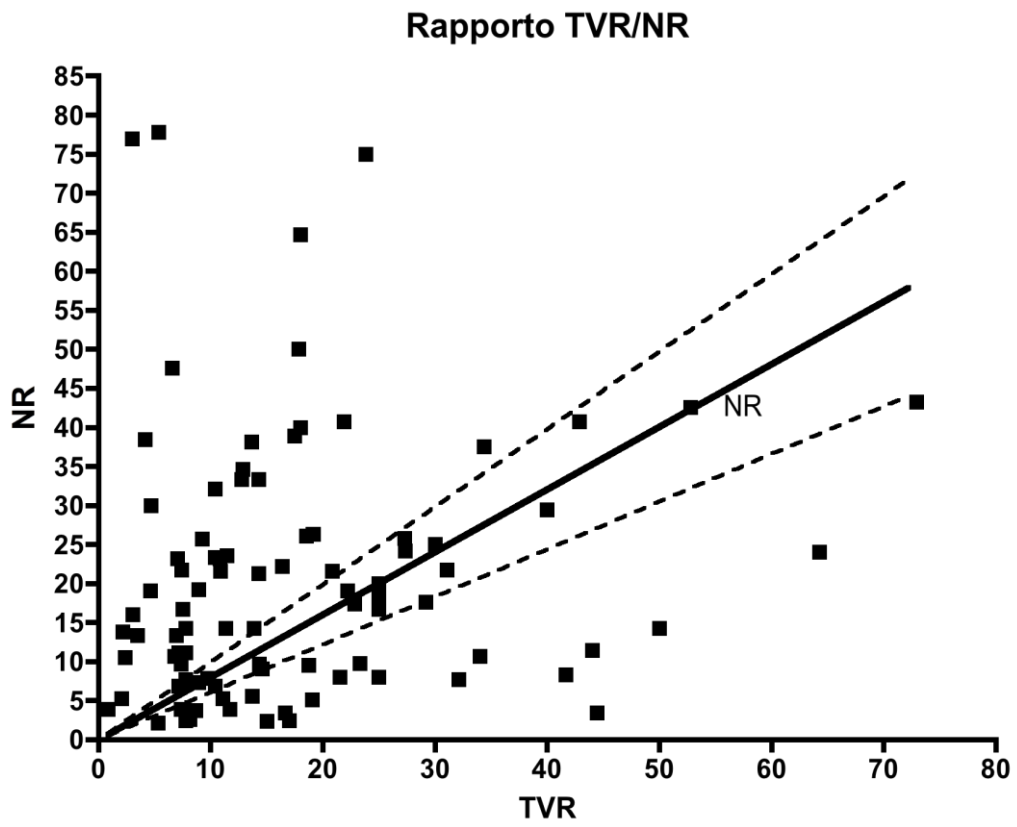
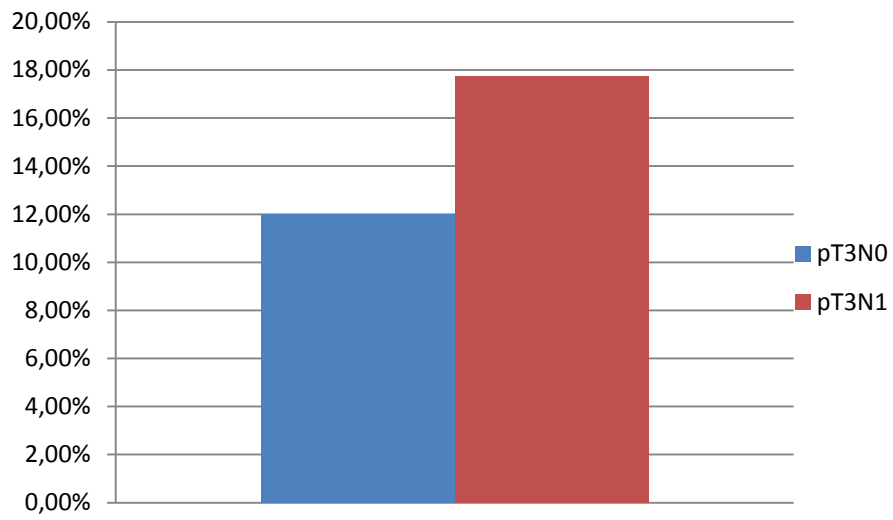
- la positività anamnestica per il fumo in 9 pz, 14 negavano tale abitudine voluttuaria.
- il consumo di alcool è stato negato da 21 pazienti, contro di 2 che affermavano il consumo di tale sostanza.
- alla diagnosi 20 pazienti presentavano ittero, contro i 15 in cui questo non è stato rilevato.
- in 6 pazienti è stato riscontrato diabete mellito in fase pre-operatoria, contro i 30 pz che non presentavano tale alterazione endocrina.
- da 6 pazienti veniva riferito dolore addominale corrispondente al dolore di origine pancreatica, mentre in 26 pazienti tale sintomo non è stato riscontrato
- il dimagrimento sintomo di frequente riscontro in tale neoplasia è stato riscontrato in questa casistica in 9 pazienti, in 26 non era stato osservato un particolare cambiamento del peso corporeo.
- il valore medio dell'albumina pre-operatoria riportata in 16 pazienti, presenta un valore medio di 3,49 g/dL con una DS pari a 0,40.
- il marcatore tumorale Ca 19.9 misurato pre-operatoriamente è stato rilevato in 29 pazienti, con un valore medio di $1240,29 \pm 1929,5$ UI/mL.
- nel post- operatorio (in base ai dati che è stato possibile reperire) su 15 pazienti, in 8 è stato necessario effettuare terapia enzimatica sostitutiva, in 7 tale necessità non si è presentata.
- in 3 pazienti è stato riscontrato diabete mellito post-operatorio, contro i 9 in cui tale complicanza non si è concretizzata.

Analisi comparativa tra pazienti pT3N0 e pT3N1

Le analisi condotte al fine di valutare eventuali variabili che potessero essere discriminanti tra i due gruppi di pazienti non hanno portato alla luce nessuna differenza statisticamente significativa per ciò che riguarda l'incidenza di segni e sintomi della neoplasia pancreatica, tra i due gruppi di pazienti.

Confrontando i valori medi di TVR attraverso il Test t di Student, tra la coorte di pazienti pT3N0 ed i pazienti appartenenti al gruppo pT3N1, è risultato esistere una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p < 0,0001$)

	pT3N0	pT3N1
TVR	11,99%	17,72%
DS	0,146	0,0082



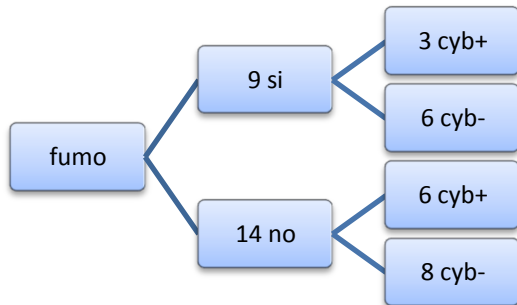
Analizzando i parametri di TVR ed NR in 66 duodenocefalopancreasectomie, è stata trovata una corrispondenza lineare diretta tra la volumetria del tumore e la corrispettiva ratio linfonodale.

ANALISI COMPARATIVA pT3N1 CYB5A+ vs pT3N1 CYB5A -

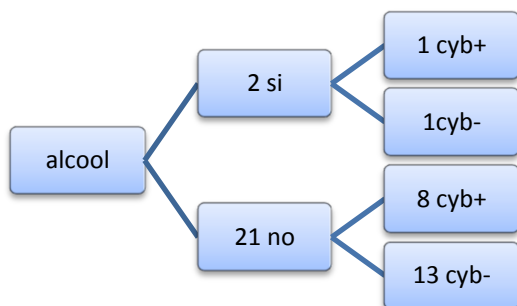
In ragione della numerosità campionaria del gruppo dei pazienti pT3N1 ed in ragione della positività linfonodale per metastasi, che ha permesso di sviluppare il calcolo della variabile LNR, abbiamo eseguito un'analisi comparativa tra le due coorti di pazienti pT3N1 (quella dei pazienti con immunohistochimica positiva per la molecola CYB5A e quella dei pazienti con immunohistochimica negativa per tale molecola) circa la significatività o meno di prevalenza delle sopracitate variabili cliniche.

Premettiamo che la prevalenza di tali variabili è risultata nota e documentabile con certezza non per la totalità dei pazienti, in ragione dell'arco temporale abbracciato dal reclutamento dei pazienti, della natura retrospettiva dello studio e delle mutate abitudini cliniche circa la raccolta anamnestica di alcune delle variabili nel tempo. Il numero dei pazienti di ogni coorte è risultato tuttavia adeguato per eseguire una valutazione statistica affidabile (ad eccezione della variabile diabete mellito post-operatorio).

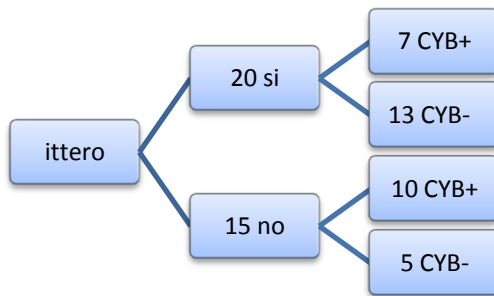
Per ogni variabile è stata eseguita una stratificazione in base al diverso assetto del gene CYB5A, distinguendo così, per ogni variabile categoriale, i pazienti appartenenti al gruppo si/no e CYB+ / CYB- . Si ottiene così la seguente stratificazione:



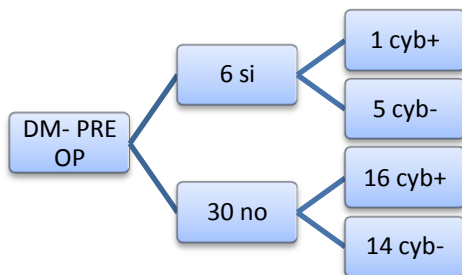
Confrontando i due gruppi attraverso il test X^2 , non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa nella distribuzione dell'assetto genico tra fumatori e non fumatori ($X^2= 0,208$; $p= 0,9848$)



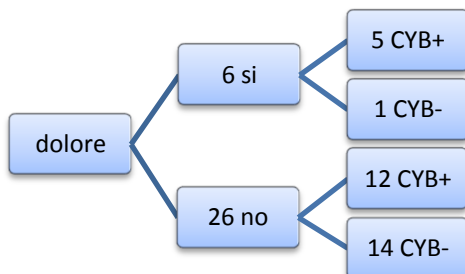
Confrontato i due gruppi, non risulta una differenza statisticamente significativa tra abitudine o meno all'uso di alcool e la distribuzione dell'assetto genetico ($X^2 = 0,108$; $p=1$).



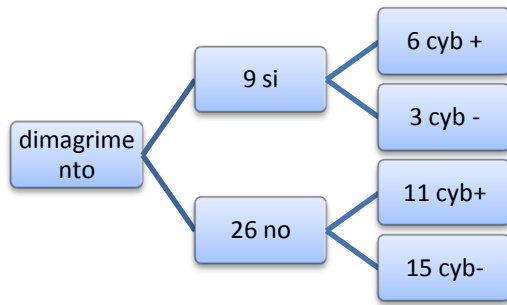
Dal confronto tra pazienti con e senza ittero, non risulta una differenza statisticamente significativa nelle frequenze dell'espressione genica CYB5A + / - ($X^2 = 3,44$; $p= 0,0922$).



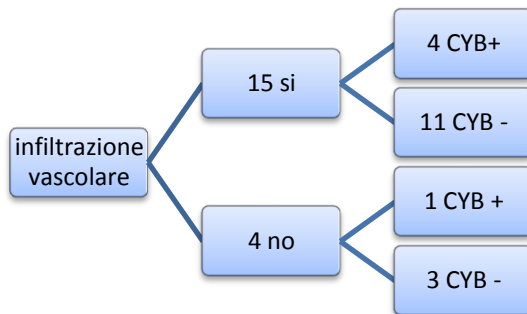
Il test del X^2 non evidenzia differenza statisticamente significativa tra prevalenza del DM pre-operatorio ed espressione genica ($X^2 = 2,7$; $p= 0,1821$).



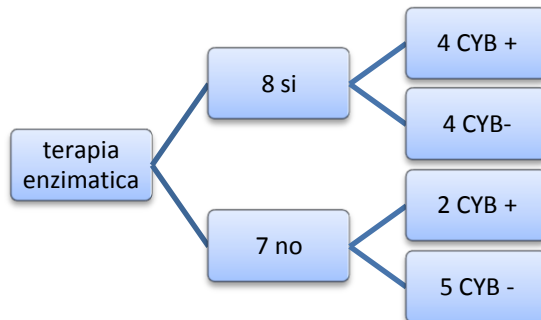
Nel confronto tra pazienti che presentavano dolore o meno al momento della diagnosi, non risulta esserci differenza statisticamente significativa nella distribuzione dell'assetto genetico ($X^2 = 2,7$; $p= 0,1772$).



Per tale variabile non risulta differenza statisticamente significativa in funzione della diversa espressione genetica ($X^2 = 1,6$; $p = 0,2642$).



Riguardo la presenza o meno di infiltrazione vascolare dimostrata all'esame istologico non risultano differenze statisticamente significative in funzione della diversa espressione genetica ($X^2 = 0,0045$; $p = 1$).



La necessità o meno di terapia enzimatica risulta essere indipendente dalla variabile genetica ($X^2 = 0,71$; $p = 0,6048$).

Per le variabili continue:

- Ca 19.9: i pazienti CYB5A – (che presentavano la perdita di una o entrambe le copie alleliche del gene) sono 16, con un valore medio di tale marcatore pari a $1021,23 \pm 2144,097$ UI/mL, i pazienti CYB5A + (che conservano entrambe le copie) sono 13, con un valore medio di Ca 19.9 $1509,911 \pm 1672,651$ UI/mL. Dall'analisi dei due gruppi non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa circa la distribuzione di tale parametro ($p = 0,5075$).

- Albumina pre-operatoria: i pazienti CYB5A- sono 9, con un valore medio della proteina di $3,455 \pm 0,421$ g/dL; i pazienti CYB5A+ sono 7, con valore medio pari a $3,543 \pm 0,3905$ g/dL.

Confrontando attraverso il test t di Student i valori medi riportati nelle due popolazioni, al fine di evidenziare un eventuale differenza statisticamente significativa da relazionare eventualmente con la diversa espressione genica, non è stata rilevata alcuna differenza statisticamente significativa ($p = 0,3905$).

La tabella seguente riporta la sintesi dell'analisi comparativa per variabili categoriche e continue tra i pazienti CYB5A + E CYB5A -:

<i>VARIABILE</i>	<i>NUMERO PZ</i>	$\chi^2 ; t$	<i>p</i>
fumo	23	0,2	1
alcool	23	0,108	1
ittero	35	3,44	0,0922
diabete preoperatorio	36	2,69	0,1821
dolore	32	2,7	0,1772
dimagrimento	35	1,6	0,2642
infiltrazione vascolare	19	0,0045	1
diabete postoperatorio	-	-	-
terapia enzimatica	15	0,71	0,6048
Ca 19.9	29		0,5075
albuminemia preoperatoria	16		0,3905

ANALISI pT3N1 IN FUNZIONE DI TVR E LRN.

Nel gruppo di pazienti pT3N1, per ogni variabile clinica precedentemente studiata è stata quindi condotta un'analisi comparativa tra pazienti CYB5A + e CYB5A - in funzione della distribuzione del TVR e del LNR.

Questo al fine di valutare una eventuale differenza significativa nella distribuzione dei valori assunti dal TVR e dal LNR, utilizzando i rispettivi valori medi con le rispettive deviazioni standard.

Il presente studio risulta pertanto il primo che cerca di esplorare i fenotipi clinici potenzialmente correlabili alla funzione della molecola CYB5A.

I risultati finali ottenuti dalle diverse analisi comparative, sono rappresentate nella seguente tabella

PARAMETRI CLINICI	TVR				LNR				
	SI		NO		SI		NO		
	CYB+	CYB-	CYB+	CYB-	CYB+	CYB-	CYB+	CYB-	
fumo									
media	17,59%	15,74%	23,66%	11,59%	8,46%	14,15%	34,35%	24,86%	
ds	0,0699	0,0858	0,25	0,0896	0,0717	0,096	0,255	0,295	
n	3	6	6	8	3	6	6	8	
ittero									
media	15,55%	15,39%	24,83%	12,59%	25,00%	21,44%	20,40%	17,01%	
ds	0,09	0,091	0,198	0,069	0,27	0,187	0,169	0,268	
n	7	13	10	5	7	13	10	5	
dolore									
media	21,69%	18%	20,72%	13,85%	22,87%	64,71%	22,05%	17,03%	
ds	0,14		0,18	0,088	0,188		0,224	0,193	
n	5		12	14	5		12	14	
dimagrimento									
media	16,43%	18,20%	19,70%	13,41%	22,86%	38,19%	20,03%	15,50%	
ds	0,071	0,09	0,0117	0,081	0,26	0,23	0,176	0,19	
n	6	3	11	15	6	3	11	15	
DM-preop									
media	17,86%	16,88%	21,20%	13,14%	50,00%	16,88%	20,56%	19,75%	
ds		0,063	0,17	0,091		0,063	0,202	0,189	
n		5	16	14		5	16	14	

Le significatività indicate sono nell'intervallo di confidenza del 95% tutte significativamente inferiori a 0,05 e sono state indicate qui di seguito con il simbolo dell'asterisco.

fumo si		fumo no	
TVR	LNR	TVR	LNR
*	*	*	*
ittero si		ittero no	
TVR	LNR	TVR	LNR
*	*	*	*
0,0014			
dolore no			
TVR	LNR		
*	*		
dimagrimento si		dimagrimento no	
TVR	LNR	TVR	LNR
*	*	*	*
DM-PREOP NO			
TVR	LNR		
*	*		

CAPITOLO 5: DISCUSSIONE

L'adenocarcinoma duttale del pancreas presenta un comportamento biologico estremamente sfavorevole. La maggior parte dei tumori sono diagnosticati in fase non precoce, in riferimento al semplice criterio dimensionale ed in riferimento al criterio linfonodale, come da classificazione TNM. La distribuzione dei pazienti nella nostra coorte di studio conferma tale dato: il numero dei casi pT3N0 risulta essere esiguo (10 pazienti) rispetto al sottogruppo pT3N1 (66 pazienti). Tale dato, se da una parte conferma la aggressività biologica dell'adenocarcinoma duttale, dall'altra rappresenta un elemento di potenziale bias, determinando una ridotta potenza statistica dell'analisi di tale coorte. D'altra parte il carcinoma duttale del pancreas è pur sempre una neoplasia non frequente, che richiede da un punto di vista clinico-assistenziale la concentrazione dei casi in centri ad "alto volume" (Birkmeyer 2002): la raccolta di dati inerenti ad un pur ridotto numero di casi pT3N0 rappresenta pertanto un'interessante prospettiva circa questo fenotipo tumorale.

Gruppo di pazienti pT3N0

Nel gruppo pT3N0, l'età media di presentazione appare in linea con le decadi di maggiore incidenza della neoplasia riportate in letteratura. Anche la distribuzione per sesso non risulta sostanzialmente differente con l'epidemiologia classica dell'adenocarcinoma duttale. Quattro pazienti su 10 (40%) sono stati sottoposti a resezione vascolare in blocco con la resezione cefalica ed in un solo caso (25%; 10%) è stata confermata l'infiltrazione dall'analisi anatomico-patologica.

Il TVR medio è risultato pari a $11,99\% \pm 0,082$.

In questo gruppo di pazienti il numero medio di linfonodi totali asportati è risultato essere di $30,2 \pm 12,09$, tutti risultati, in accordo alla definizione di stadio T3N0, negativi, determinando di fatto un LNR pari allo 0,00%.

I pazienti che presentavano entrambe le copie del gene indicati come CYB5A + ed i pazienti con perdita di una copia dello stesso gene indicati come CYB5A-, sono risultati in tale gruppo equamente distribuiti (5; 5, rispettivamente).

Tra le variabili cliniche osservate, si segnala la presenza di ittero e di dolore addominale nel 40% e nel 30% dei pazienti, rispettivamente. Il primo segno è da riferire alla sede di insorgenza della neoplasia, indipendentemente dalla positività linfonodale (coorte N0), per diretta compressione della via biliare principale; il secondo sintomo, dolore, è da riferire alla distensione della capsula pancreatica ed alla invasione perineurale, quasi costantemente documentabile a livello mistologico nell'adenocarcinoma duttale del pancreas (DEMIR IE, FRIESS H, CEYHAN GO Nerve-cancer interactions in the stromal biology of pancreatic cancer. *Frontiers in Physiology*, April 2012, Vol. 3;97; 1)

Gruppo di pazienti pT3N1

Il gruppo di pazienti pT3N1 risulta essere più numeroso, in accordo con l'epidemiologia clinica classica dell'adenocarcinoma duttale. In tale gruppo si concentrano infatti i pazienti "primary resectable", ovvero i pazienti che sono sottoposti a chirurgia come trattamento di prima linea. Si segnala infatti che alla diagnosi clinica il 50-60% dei pazienti si presenta già con malattia metastatica (stadio IV) e che il 30-40% dei pazienti si presenta con malattia localmente avanzata o non resecabile (T4) (Gillen S, 2010). Da tali dati emerge che il fenotipo pT3N1Mx è particolarmente frequente.

La distribuzione, nel presente studio, dei casi pT3N1Mx in funzione dell'età e del sesso non dimostra differenze con l'epidemiologia classica.

Si segnala che 24/66 (36.3%) pazienti sono stati sottoposti a resezione vascolare in blocco, con infiltrazione vascolare confermata in 15/24 casi (62.5%). Tali dati sono in accordo con le prevalenze riportate in letteratura per resezione vascolare. Il significato clinico-biologico dell'infiltrazione vascolare non è a tutt'oggi completamente definito ed è oggetto di attuale dibattito: se da una parte la probabilità d'interessamento vascolare

sembra intuitivamente legata alla sede d'insorgenza del tumore primitivo (lesione prossima ai vasi principali peripancreatici), dall'altro lato si ipotizza che il neurotropismo del tumore e la conseguente migrazione nel plesso nervoso periavventiziale vascolare possano rappresentare un fattore promuovente l'interessamento di vasi indipendentemente quindi dalla minore o maggiore vicinanza del tumore ai vasi stessi. In tale ottica, sono necessari ulteriori studi che possano correlare lo status linfonodale alla probabilità di infiltrazione vascolare confermata allo studio anatomico-patologico in funzione della biologia tumorale.

In tale gruppo di pazienti il valore medio del TVR è stato $17,72\% \pm 0,146$.

Confrontando il valore medio di TVR dei pazienti CYB5A+ (coloro che presentavano entrambe le copie degli alleli del gene) con quello dei pazienti CYB5A – (perdita di uno o entrambi gli alleli del gene) è risultato che il volume relativo della neoplasia (TVR) è maggiore nei pazienti con espressione completa del gene rispetto al volume relativo presente nei pazienti con perdita di copie alleliche, con una differenza statisticamente significativa.

La linfadenectomia è stata eseguita in tutti i pazienti ed il numero medio di linfonodi asportati è stato $35,68 \pm 15,51$. Attraverso l'analisi microscopica è stato valutato il numero medio dei linfonodi metastatici, pari a $5,67 \pm 4,57$.

In questo gruppo la media della ratio linfonodale (LNR) è stata pari a $18,44\% \pm 0,16$. Il numero di pazienti in cui è stata riscontrata la perdita di uno o entrambi gli alleli del gene CYB5A, attraverso l'analisi immunohistochimica, è risultato pari a 38, contro i 28 in cui erano conservate entrambe le copie di alleli: il valore di LNR medio dei pazienti CYB5A+ era pari a 19.7% e quello dei pazienti CYB5A- era pari a 17.52%, differenza statisticamente significativa. 20/66 (30%) pazienti presentavano ittero alla diagnosi.

Analisi comparativa pT3N0 e pT3N1

L'analisi comparativa tra il gruppo di pazienti pT3N0 e quello pT3N1 riguardo alla frequenza dei sintomi e segni clinici e laboratoristici non ha dimostrato differenze statisticamente significative tra i due gruppi. Questo dato conferma la bassa sensibilità e specificità diagnostica di alcuni sintomi e segni, che, pur essendo descritti universalmente come tipici delle malattie neoplastiche pancreatiche, non sono in grado di discriminare un paziente affetto o meno da interessamento linfonodale. La loro presentazione clinica conclamata d'altra parte spesso corrisponde a fasi della malattia dimensionalmente associate ad un detrimento della prognosi a 5 anni marcato (es. T3); l'ittero può rappresentare un'eccezione in ragione del suo carattere di segno di allarme, provocato anche da tumori molto piccoli ma con sede di insorgenza adiacente alla via biliare principale. In conclusione, i sintomi ed i segni delle neoplasie pancreatiche sono spesso tardivi, con sensibilità e specificità basse rispetto alle fasi precoci della storia

naturale della malattia; assumono la loro caratteristica associazione alla patologia pancreaticata solo per fasi della malattia più avanzate (es. T3), pur non differenziando tumori metastatici o meno ai linfonodi locoregionali, quando la prognosi del paziente già risulta condizionata dalla biologia aggressiva dell'adenocarcinoma. Un dato interessante è il rilievo, tra i due gruppi di pazienti pT3N0 e pT3N1, di una differenza statisticamente significativa nella distribuzione dei TVR, che appaiono significativamente superiori per i tumori pT3N1 (TVR medio 17.72%) rispetto al gruppo pT3N0 (11.99%) ($p < 0,0001$).

Il dato è in linea con la dimostrazione espressa in altra sede del presente lavoro e richiama l'attenzione sulla possibilità di esprimere la morfologia della neoplasia non in termini di semplice misura lineare (sistema TNM), ma bensì in termini di volumetria solida; d'altra parte, ciò potrebbe permetterebbe di poter "predire" lo status linfonodale (N0 vs N1) sulla base del TVR stimato preoperatoriamente e, di conseguenza, avere una ripercussione decisionale circa l'estensione e quindi il tipo di linfadenectomia da eseguire.

Analisi comparativa pT3N1 CYB5A + e pT3N1 CYB5A -

In ragione della prevalenza di pazienti pT3N1 nell'ambito della patologia neoplastica pancreaticata, così come confermato dalla distribuzione della nostra popolazione di pazienti sottoposti a duodenocefalopancreasectomia, è stata quindi esplorata la distribuzione delle variabili cliniche in funzione della positività o meno dell'espressione della proteina CYB5A per ciascuna di esse. A conferma della bassa sensibilità e specificità delle variabili cliniche (sintomi e segni), non abbiamo rilevato alcuna differenza statisticamente significativa nella prevalenza di sintomi e segni in funzione della positività o meno dell'espressione della proteina CYB5A. Tale risultato a nostro avviso s'inquadra in coerenza con la bassa sensibilità e specificità che la semeiotica classica presenta per la patologia neoplastica pancreaticata. Pur non mettendo in discussione il ruolo fondamentale che la semeiotica classica riveste nella pratica clinica quotidiana, la correlazione tra un sintomo o un segno della semeiotica classica ed un marcatore (il CYB5A), che potremmo definire appartenere ad una "semeiotica molecolare" in evoluzione, appare scarsa.

Analisi pT3N1 in funzione di TVR e LRN

Al fine di esplorare ed eventualmente colmare il "gap clinico" intercorrente tra un marcatore molecolare (il CYB5A) ed i segni e sintomi, è stata eseguita un'analisi della distribuzione, per ogni variabile clinica, del TVR e del LNR in funzione della positività o meno dell'espressione della proteina CYB5A all'immunoistochimica. La proteina CYB5A è un citocromo di membrana (Giovannetti 2014), la cui delezione genica, al pari di quella di altri geni adiacenti in sede 18q22.3, appare associata ad un peggioramento della *overall survival* in pazienti sottoposti a resezione pancreaticata per adenocarcinoma duttale.

Le funzioni biologiche note di questo citocromo di membrana sono:

- riduzione della metaemoglobina ad emoglobina ferrosa, nella via metabolica della stearyl-CoA desaturasi
- carrier di elettroni per svariate ossigenasi di membrana, inclusa la via metabolica della detossificazione riduttiva delle aril-idrossil-amine (gruppo carcinogeno)
- componente della via trasduzionale metabolica che induce/promuove l'autofagia cellulare (autolisosomiale)

Sussistono evidenze in modelli sperimentali in vivo che la espressione della proteina CYB5A può determinare una riduzione del volume tumorale e della capacità metastatizzante delle cellule di adenocarcinoma duttale rispetto ai controlli, con conseguente differenza significativa nelle curve di sopravvivenza dei modelli. L'analisi ultrastrutturale, in questi casi, dimostra l'induzione di autofagia, con caratteri morfo-strutturali ed immunoistochimici/molecolari tipici del processo autolisosomico. L'esistenza, altresì, di evidenze di verso opposto circa il ruolo della proteina CYB5A e dell'autofagia in modelli sperimentali di adenocarcinoma duttale lascia tuttavia aperto il dibattito: è possibile infatti che l'autofagia rappresenti un meccanismo di difesa della massa tumorale in condizioni microambientali sfavorevoli.

I risultati contrastanti dei modelli sperimentali potrebbero dipendere dall'eterogeneità intra- ed inter-tumorale in termini di complessità delle aberrazioni genetiche con conseguente attivazione e modulazione di molteplici vie di trasduzione del segnale.

Alla luce di queste evidenze sperimentali oggetto tutt'oggi di ulteriori studi, avanziamo alcune considerazioni circa i dati rilevati nel nostro gruppo di pazienti pT3N1, avendo creato un modello comprendente sia le variabili cliniche, sia quelle volumetriche (TVR, LNR), sia infine quelle molecolari (pCYB5A + / -):

- ITTERO: nel paziente itterico, il fenotipo immunoistochimico CYB5A + si associa a maggior TVR e LNR rispetto al CYB5A -, pur presentando una differenza tra i valori medi modesta.

Nel paziente non itterico, la positività del CYB5A si associa a maggior TVR e LNR rispetto al fenotipo CYB5A -, ma con delta tra le medie (Δ) nettamente superiore.

Nell'itterico, dunque, si può ipotizzare che il fattore sede giochi un ruolo fondamentale e che i tumori insorti vicino alla via biliare presentino valori medi di TVR e LNR quasi uguali, sia nel caso di CYB5A positività che CYB5A negatività. Appare plausibile avanzare l'ipotesi che la bile e/o alcuni dei suoi componenti possano avere un'azione modulatrice l'espressione e la funzione del CYB5A, rendendo conto del minor Δ osservato tra i due gruppi CYB5A + e CYB5A - nel paziente itterico.

In assenza del fattore sede, ovvero in assenza di vicinanza alla via biliare, l'espressione del CYB5A potrebbe non essere modulata da "fattori biliari"

(solubili?) e determinare quindi una più marcata differenza nei valori medi assunti dal TVR e dal LNR.

Ulteriori studi che correlino l'espressione/funzione del CYB5A al micro-/macroambiente rappresentato dalla via biliare e dai composti presenti nella bile umana sembrano necessari per trarre ulteriori conclusioni al riguardo.

- FUMO: nel fumatore, il gruppo di pazienti CYB5A + ha un TVR maggiore rispetto al gruppo CYB5A - ; il LNR è maggiore nei pazienti CYB5A - rispetto ai pazienti CYB5A +.

Nel non fumatore, sia il TVR che il LNR sono maggiori nei pazienti CYB5A +.

Apparentemente, nel fumatore la down-regulation/delezione del CYB5A si associa ad una maggior probabilità di metastatizzazione linfonodale.

Si può avanzare l'ipotesi che nel fumatore l'elevata concentrazione relativa di metaemoglobina induca l'espressione del CYB5A (via scavenger) che a sua volta induce/sostiene una eventuale via metabolica autofagica, risultando pertanto protettivo sulla metastatizzazione.

Dai dati emerge inoltre che nei non fumatori le medie del TVR e dello LNR sono maggiori rispetto a quelle osservate nei fumatori: ciò potrebbe essere segno di un'induzione metabolica del fumo e dei suoi composti sull'azione del CYB5A.

Ulteriori studi sono necessari circa i fattori in grado di indurre l'espressione del CYB5A.

- DOLORE: il gruppo di pazienti che presentava dolore tipico presentava nello 80% dei casi la down-regulation/delezione del CYB5A (CYB5A -). Si può ipotizzare una ridotta autofagia con conseguente migrazione ed invasione neoplastica perineurale.

Ulteriori studi sono necessari (es. espressione del CYB5A a livello della infiltrazione perineurale).

- DIMAGRIMENTO: nei pazienti che riferivano calo ponderale, sia il TVR medio che il LNR medio risultano significativamente superiori nei pazienti CYB5A - . Si può ipotizzare un ruolo nella funzione di autofagia della cellula tumorale svolto dal CYB5A: i tumori CYB5A + presenterebbero un'aumentato tasso di autofagia che "compenserebbe" l'azione pro-catabolica indotta da fattori umorali tumore-relati e/o tumore-indotti nell'ospite; tale "equilibrio" si perderebbe nel gruppo dei pazienti CYB5A -, laddove si potrebbe ipotizzare un minor tasso autofagico con conseguente incremento della massa tumorale (primitiva e metastatica) e quindi conseguente induzione di una sindrome cachettica.

Nei pazienti che non riferivano calo ponderale, invece, il TVR medio e il LNR medio risultavano significativamente superiori nei pazienti CYB5A + rispetto ai CYB5A -. Si può ipotizzare una diversa biologia tumorale in questi pazienti, ovvero tumori non associati a fattori umorali pro-cachettici.

Ne deriva che ulteriori studi circa il ruolo dei mediatori solubili autocrini, paracrini ed endocrini delle sindromi cachettiche neoplasia-correlate appare

necessario, nell'ipotesi che tali fatto possano influenzare l'espressione/funzione della molecola CYB5A e quindi il fenotipo clinico risultante.

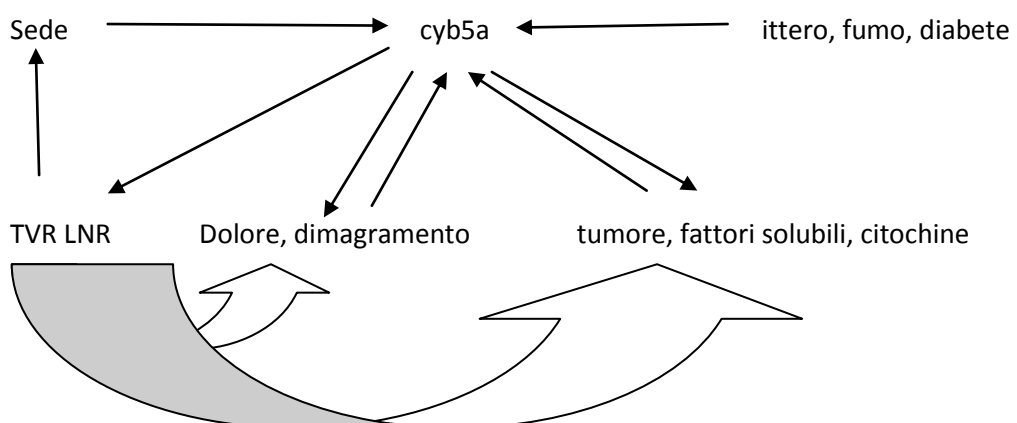
- **DIABETE PRE-OPERATORIO:** nei pazienti non diabetici, i valori medi di TVR e LNR sono significativamente superiori nei pazienti CYB5A + rispetto ai pazienti CYB5A -.
Ulteriori studi sono necessari per verificare l'espressione/funzione del CYB5A nel paziente diabetico in funzione dello stato iperglicemico/glicosilativo (scavenger?).

CAPITOLO 6: CONCLUSIONI

Il ruolo/funzione del citocromo CYB5A nel carcinoma duttale del pancreas è a tutt'oggi in corso di definizione. Il presente studio risulta il primo che cerca di sviluppare un modello interpretativo sperimentale che comprenda sia le variabili cliniche classiche, sia nuove variabili morfo-volumetriche dei tumori duttali del pancreas (TVR, LNR), sia infine variabili genetiche recentemente associate alla biologia di tali tumori.

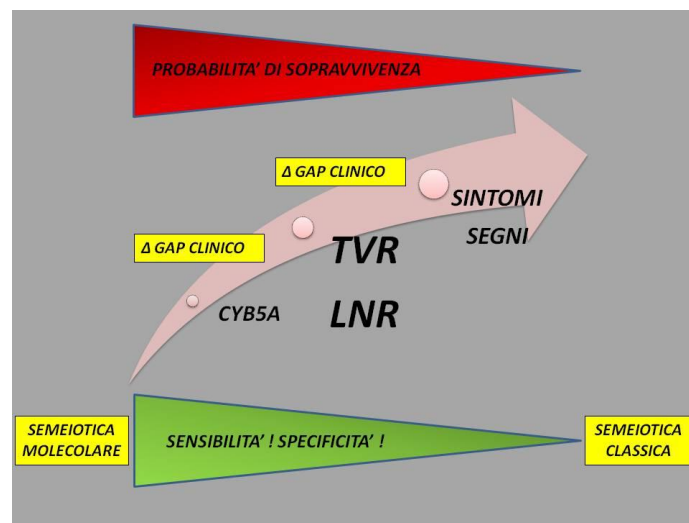
Il modello sperimentale appare complesso e siamo consci della presenza di bias che ne potrebbero il campo di speculazione. Ciononostante, in ragione della bassa incidenza delle neoplasie pancreatiche nella popolazione generale, la nostra coorte di pazienti appare un interessante modello sperimentale pilota per avanzare ipotesi circa le interrelazioni tra la sopracitate variabili.

Il modello e le interazioni possibili, oggetto di auspicabili ulteriori studi di carattere genetico-molecolare, potrebbero essere schematizzati con il seguente diagramma di flusso:



Il presente studio infine permette di avanzare una revisione critica circa le capacità diagnostiche attuali delle neoplasie pancreatiche e le loro implicazioni

circa le strategie terapeutiche (tipologia di intervento / tipologia di linfadenectomia) e la probabilità di sopravvivenza del paziente.



La probabilità di sopravvivenza dei pazienti è direttamente correlata allo stadio della malattia alla diagnosi. La precocità della diagnosi rappresenta pertanto un fattore critico nel trattamento multimodale di tali patologie.

La "semeiotica classica" si dimostra dotata in genere di bassa sensibilità e specificità, a fronte della recente "semeiotica molecolare" (markers genetici/immunofenotipici, es. CYB5A), la cui sensibilità e specificità potrebbero risultare superiori, ma il cui rapporto tra espressione/funzione risulta ancora da definire.

Tra i due estremi dello spettro si colloca la proposta di inquadrare le neoplasie pancreatiche secondo criteri morfo-volumetrici che superino lo schematismo delle stadiazioni attuali e che rappresentino un ponte tra quelli che sono i caratteri biologici del tumore (es. CYB5A e sua funzione) e quelli che sono i caratteri clinici classici della neoplasia. E' evidente quindi la necessità di colmare un "gap clinico" che sussiste tra lo studio di base della biologia del tumore e la pratica clinica quotidiana con nuovi strumenti che siano in grado di coniugare i due aspetti.

Il presente studio pertanto offre un modello sperimentale che cerca di coniugare le più recenti evidenze della ricerca di base e dello studio morfo-volumetrico con gli aspetti clinici della pratica quotidiana che si rilevano nel paziente affetto da adenocarcinoma duttale del pancreas.

Bibliografia

1. **Anastasi, G e al, et.** *Pancreas. Trattato di anatomia umana.* Milano : Edi Ermes, 2007, p. 186-194.
2. **Dionigi, R.** *Chirurgia.* s.l. : Elsevier, 2006.
3. **Paletto, AE e Gaetini, A.** *Nuovo trattato di tecnica chirurgica.* Torino : UTET, 2006.
4. *Prognostic implications of tumor invasion or adhesion to peripancreatic vessels in resected pancreatic cancer.* **Boggi, U, et al.** 5, 2009, *Surgery*, Vol. 146, p. 869-881.
5. *Localized adenocarcinoma of the pancreas: the rationale for preoperative chemoradiation.* **Wayne, JD, et al.** 1, 2002, *The Oncologist*, Vol. 7, p. 34-45.
6. *Epidemiology and risk factors in pancreatic cancer.* **Ahlgren, JD.** 2, 1996, *Seminars in oncology*, Vol. 23, p. 241-250.
7. *Cancer of pancreas.* **de Braud, F, Cascinu, S e Gatta, G.** 2, 2004, *Critical reviews in oncology/hematology*, Vol. 50, p. 147-155.
8. *Preoperative/Neoadjuvant Therapy in Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Response and Resection Percentages.* **Gillen, S, et al.** 4, April 2010, *PLoS Medicine*, Vol. 7, pp. 1-15.
9. *Pancreatic cancer and thromboembolic disease.* **Khorana, AA e Fine, RL.** 11, 2004, *The Lancet Oncology*, Vol. 5, p. 655-663.
10. **Kloppel, G.** *Histological Typing of Tumours of the Exocrine Pancreas.* s.l. : Springer, 1996.
11. **Solcia, E, Capella, C e al, et.** *Tumors of the pancreas.* 3th ed. Washington, DC : Armed Forces Institute of Pathology, 1995.
12. **Kumar, V, et al.** *Robbins e Cotran - Le basi patologiche delle malattie.* s.l. : Elsevier, 2011.
13. **Yeo, TP, Hruban, RH e al, et.** *Pancreatic Cancer.* 2002.
14. *Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions.* **Hruban, RH, et al.** 5, 2001, *The American Journal of Surgical Pathology*, Vol. 25, p. 579-586.
15. *Loss of expression of Dpc4 in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence that DPC4 inactivation occurs late in neoplastic progression.* **Wilentz, RE, et al.** 7, 2000, *Cancer Research*, Vol. 60, p. 2002-2006.
16. **Kloppel, G.** *Pancreatic, non-endocrine tumors.* [a cura di] G Kloppel e PH Heitz. *Pancreatic pathology.* 1984, p. 79-113.

17. *Signet ring carcinoma of the pancreas, a rare variant with very high CEA values. Immunohistologic comparison with adenocarcinoma.* **Tracey, KJ, et al.** 6, 1984, Digestive Diseases and Sciences, Vol. 29, p. 573-576.
18. *Mucin-hypersecreting carcinoma of the pancreas.* **Itai, Y, et al.** 1, 1987, Radiology, Vol. 165, p. 51-55.
19. **Tsiotos, G.** Diagnosis and clinical staging of pancreatic cancer. [a cura di] CG Dervenis e C Bassi. *Pancreatic tumors.* Stuttgart : s.n., 2000, p. 80-99.
20. **AJCC, American Joint Committee on Cancer.** *AJCC Cancer Staging Manual.* Seventh Edition. Chicago, Illinois : Springer Science and Business Media, 2010.
21. *Validation of the 6th edition AJCC Pancreatic Cancer Staging System: report from the National Cancer Database.* **Bilimoria, KY, et al.** 2007, Cancer, Vol. 110, p. 738-744.
22. *Perioperative mortality for pancreatectomy: a national perspective.* **McPhee, JT, et al.** 2, 2007, Annals of Surgery, Vol. 246, p. 246-253.
23. *The retroperitoneal resection margin and vessel involvement are important factors determining survival after pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas.* **Luttges, J, et al.** 3, 1998, Virchows Archives, Vol. 433, p. 237-242.
24. *Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Definitions and the Importance of Multimodality Therapy.* **Evans, D, Erickson, B e Ritch, P.** 11, 2010, Annals of Surgical Oncology, Vol. 17, p. 2803-2805.
25. *Surgical treatment of resectable and borderline resectable pancreas cancer: expert consensus statement.* **Evans, DB, et al.** 7, 2009, Annals of surgical oncology, Vol. 16, p. 1736-1744.
26. **Di Candio, G e Pea, G.** *Pancreas: imaging diagnostico e interventistico.* Milano : s.n., 1997.
27. *Pancreatic cancer: 1998 update.* **Yeo, CJ.** 4, 1998, Journal of the American College of Surgeons, Vol. 187, p. 429-442.
28. *Pancreatic head carcinoma: clinical analysis of 189 cases.* **Hua, YP, et al.** 1, 2009, Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International, Vol. 8, p. 79-84.
29. *AGA technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma.* American Gastroenterological Association. **DiMagno, EP, Reber, HA e Tempero, MA.** 6, 1999, Gastroenterology, Vol. 117, p. 1464-1484.
30. *Pancreatic adenocarcinoma: an update.* **Tan, HP, Smith, J e Garberoglio, CA.** 2, 1996, Journal of the American College of Surgeons, Vol. 183, p. 164-184.

31. *A prospective pancreatographic study of the prevalence of pancreatic carcinoma in patients with diabetes mellitus.* **Ogawa, Y, et al.** 9, 2002, *Cancer*, Vol. 94, p. 2344-2349.
32. *Preoperative staging of cancer of the pancreatic head: is there room for improvement?* **Croome, KP, Jayaraman, S e Schlachta, CM.** 3, 2010, *Canadian Journal of Surgery*, Vol. 53, p. 171-174.
33. *The role of ultrasound in biliary and pancreatic diseases.* **Gandolfi, L, et al.** 3, 2003, *European Journal of Ultrasound*, Vol. 16, p. 141-159.
34. *Nonfunctioning islet cell tumors of the pancreas: clinical, imaging and pathological aspects in 16 patients.* **Furukawa, H, et al.** 4, 1998, *Japanese Journal of Clinical Oncology*, Vol. 28, p. 255-261.
35. *Radiologic diagnosis and staging of pancreatic ductal adenocarcinoma.* **Balci, NC e Semelka, RC.** 2, 2001, *European journal of radiology*, Vol. 38, p. 105-112.
36. *Contrast-enhanced ultrasonographic detection of small pancreatic insulinoma.* **D'Onofrio, M, et al.** 4, 2003, *Journal of Ultrasound in Medicine*, Vol. 22, p. 413-417.
37. *Radiologic staging of pancreatic adenocarcinoma.* **Nghiem, HV e Freeny, PC.** 1, 1994, *Radiologic Clinics of North America*, Vol. 32, p. 71-79.
38. *Endoscopic ultrasound criteria for vascular invasion in the staging of cancer of the head of the pancreas: a blind reevaluation of videotapes.* **Rosch, T, et al.** 4, 2000, *Gastrointestinal Endoscopy*, Vol. 52, p. 469-477.
39. *Local extension of pancreatic carcinoma: assessment with thin-section helical CT versus with breath-hold fast MR imaging--ROC analysis.* **Nishiharu, T, et al.** 2, 1999, *Radiology*, Vol. 212, p. 445-452.
40. *Pancreatic head mass: what can be done? Diagnosis: magnetic resonance imaging.* **Ragozzino, A e Scaglione, M.** 3 Suppl, 2000, *JOP : Journal of the pancreas*, Vol. 1, p. 100-107.
41. *Malignant obstructive jaundice: comparison of MRCP and ERCP in the evaluation of distal lesions.* **Di Cesare, E, et al.** 5-6, 2003, *La Radiologia medica*, Vol. 105, p. 445-453.
42. *Prospective evaluation of pancreatic tumors: accuracy of MR imaging with MR cholangiopancreatography and MR angiography.* **Lopez Hanninen, E, et al.** 1, 2002, *Radiology*, Vol. 224, p. 34-41.
43. *Multi-detector-row helical CT of the pancreas: effect of contrast-enhanced multiphasic imaging on enhancement of the pancreas, peripancreatic vasculature, and pancreatic adenocarcinoma.* **McNulty, NJ, et al.** 1, 2001, *Radiology*, Vol. 220, p. 97-102.
44. *Multidetector CT and three-dimensional imaging of the pancreas: state of the art.* **Horton, KM.** 2, 2002, *Journal of gastrointestinal surgery*, Vol. 6, p. 126-128.

45. *Pancreatic-phase versus portal vein-phase helical CT of the pancreas: optimal temporal window for evaluation of pancreatic adenocarcinoma.* **Boland, GW, et al.** 3, 1999, American Journal of Roentgenology, Vol. 172, p. 605-608.
46. **Lee, JKT, et al.** *Computed Body Tomography with MRI Correlation.* s.l. : Lippincott Williams & Wilkins, 1997.
47. *Dual-phase helical CT of pancreatic adenocarcinoma: assessment of resectability before surgery.* **Valls, C, et al.** 4, 2002, American Journal of Roentgenology, Vol. 178, p. 821-826.
48. *Pancreatic cancer: value of dualphase helical CT in assessing resectability.* **Diehl, SJ, et al.** 2, 1998, Radiology, Vol. 206, p. 373-378.
49. *The value of minimal access surgery in the staging of patients with potentially resectable peripancreatic malignancy.* **Conlon, KC, et al.** 2, 1996, Annals of Surgery, Vol. 223, p. 134-140.
50. *Two-dimensional multiplanar and three-dimensional volume-rendered vascular CT in pancreatic carcinoma: interobserver agreement and comparison with standard helical techniques.* **Baek, SY, et al.** 6, 2001, American Journal of Roentgenology, Vol. 176, p. 1467-1473.
51. *Pancreatic tumors: comparison of dual-phase helical CT and endoscopic sonography.* **Legmann, P, et al.** 5, 1998, American Journal of Roentgenology, Vol. 170, p. 1315-1322.
52. *Computed tomography in diagnosing vascular invasion in pancreatic and periampullary cancers: a systematic review and meta-analysis.* **Zhao, WY, et al.** 5, 2009, Hepatobiliary & pancreatic diseases international, Vol. 8, p. 457-464.
53. *Clinical significance of portal invasion by pancreatic head carcinoma.* **Nakao, A, et al.** 1, 1995, Surgery, Vol. 117, p. 50-55.
54. *CT and MR evaluation of pancreatic cancer.* **Bluemke, DA e Fishman, EK.** 1, 1998, Surgical Oncology Clinics of North America, Vol. 7, p. 103-124.
55. *Dual-phase versus single-phase helical CT to detect and assess resectability of pancreatic carcinoma.* **Imbriaco, M, et al.** 6, 2002, American Journal of Roentgenology, Vol. 178, p. 1473-1479.
56. *Helical CT with CT angiography in assessing periampullary neoplasms: identification of vascular invasion .* **Lepanto L, Arzoumanian, Y, et al.** 2, 2002, Radiology, Vol. 222, p. 347-352.
57. *Evaluation of vascular infiltration in resected patients for pancreatic cancer: comparison among multidetector CT, intraoperative findings and histopathology.* **Mazzeo, S, et al.** 6, Nov 2007, Abdominal Imaging, Vol. 32, p. 737-742.

58. *Forgotten pioneers of pancreatic surgery: beyond the favorite few.* **Schnelldorfer, T, et al.** 1, 2008, *Annals of Surgery*, Vol. 247, p. 191-202.
59. *Alessandro Codivilla and the first pancreatoduodenectomy.* **Schnelldorfer, T e Sarr, MG.** 12, 2009, *Archives of Surgery*, Vol. 144, p. 1179-1184.
60. *Treatment of Carcinoma of the Ampulla of Vater.* **Whipple, AO, Parsons, WB e Mullins, CR.** 4, 1935, *Annals of Surgery*, Vol. 102, p. 763-779.
61. *The surgical treatment of pancreatic and bile duct tumors.* **Watson, WG.** 7, 1950, *Pennsylvania Medical Journal*, Vol. 53, p. 700-702.
62. *Preservation of the pylorus in pancreaticoduodenectomy a follow-up evaluation.* **Traverso, LW e Longmire, WP Jr.** 3, 1980, *Annals of Surgery*, Vol. 192, p. 306-310.
63. *WITHDRAWN: Pancreaticoduodenectomy (classic Whipple) versus pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma.* **Diener, MK, et al.** CD006053, 2011, *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
64. *Adenocarcinoma of the pancreas: a statistical analysis of biliary bypass vs Whipple resection in good risk patients.* **Shapiro, TM.** 6, 1975, *Annals of Surgery*, Vol. 182, p. 715-721.
65. *Experience with 647 consecutive tumors of the duodenum, ampulla, head of the pancreas, and distal common bile duct.* **Michelassi, F, et al.** 4, 1989, *Annals of Surgery*, Vol. 210, p. 544-554.
66. *Laparoscopic biliary and gastric bypass: a useful adjunct in the treatment of carcinoma of the pancreas.* **Rhodes, M, Nathanson, L e Fielding, G.** 5, 1995, *Gut*, Vol. 36, p. 778-780.
67. **Boggi, U, Del Chiaro, M e Signori, S.** Problemi vascolari in corso di interventi resettivi. [a cura di] AE Paletto e A Gaetini. *Nuovo trattato di tecnica chirurgica*. Torino : UTET, 2006, p. 111-122.
68. *Radical pancreatoduodenectomy with resection and reanastomosis of the superior mesenteric vein.* **Moore, GE, Sako, Y e Thomas, LB.** 3, 1951, *Surgery*, Vol. 30, p. 550-553.
69. *Advances in the treatment of pancreatic cancer.* **Papachristou, DN e Fortner, JG.** 1980, *International Advances in Surgical Oncology*, Vol. 3, p. 157-177.
70. *En bloc vascular resection for locally advanced pancreatic malignancies infiltrating major blood vessels: perioperative outcome and long-term survival in 136 patients.* **Yekebas, EF, et al.** 2, 2008, *Annals of Surgery*, Vol. 247, p. 300-309.
71. *An evidence-based approach to the surgical management of resectable pancreatic adenocarcinoma.* **Stojadinovic, A, et al.** 6, 2003, *Journal of the American College of Surgeons*, Vol. 196, p. 954-964.

72. *Indications and techniques of extended resection for pancreatic cancer.* **Nakao, A, et al.** 6, 2006, World Journal of Surgery, Vol. 30, p. 976-982.
73. *Multimodality therapy of localized unresectable pancreatic adenocarcinoma.* **Whittington, R, et al.** 1984, Cancer, Vol. 54, p. 1991–1998.
74. *Resection margin involvement and tumor origin in pancreatic head cancer.* **Verbeke, CS e Gladhaug, IP.** 8, August 2012, British Journal of Surgery, Vol. 99, p. 1036-1049.
75. *Redefining the R1 resection in pancreatic cancer.* **Verbeke, CS, et al.** 2006, Br J Surg, Vol. 93, p. 1232–1237.
76. *Redefining resection margin status in pancreatic cancer.* **Verbeke, CS e Menon, KV.** 4, June 2009, HPB, Vol. 11, p. 282-289.
77. *Adjuvant gemcitabine alone versus gemcitabine-based chemoradiation after curative resection for pancreatic cancer: updated results of a randomized EORTC/FFCD/GERCOR phase II study (40013-22012/9203).* **Van Laethem, JL, et al.** 2009, J Clin Oncol, Vol. 27, p. 4527.
78. *Chronic diarrhea in diabetes mellitus: mechanisms and approach to diagnosis and treatment.* **Valdovinos, MA, Camilleri, M e Zimmerman, BR.** 7, July 1993, Mayo Clinic Proceedings, Vol. 68, p. 691-702.
79. *FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer.* **Thierry, C, et al.** Maggio 2011, The New England Journal of Medicine, Vol. 364, p. 1817-1825.
80. *Pancreatic adenocarcinoma. Clinical Practice Guidelines in Oncology.* **Tempero, M, et al.** 2007, J Natl Compr Canc Netw, Vol. 5, p. 998–1033.
81. *NCCN Guidelines Version 1.2013 Pancreatic Adenocarcinoma.* **Tempero, M, et al.** 2013, National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology.
82. *National Comprehensive Cancer Network: Practice guidelines in oncology—v.1.2008: Pancreatic adenocarcinoma.* **Tempero, M, et al.** 2008, Available at www.nccn.org.
83. *International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas.* **Tanaka, M, et al.** 2012, Pancreatology, Vol. 12, p. 183-197.
84. *Is postoperative adjuvant chemotherapy useful for gallbladder carcinoma? A phase III multicenter prospective randomized controlled trial in patients with resected pancreaticobiliary carcinoma.* **Takada, T, et al.** 2002, Cancer, Vol. 95, p. 1685–1695.
85. *A single-center experience of modified FOLFOX-6 in locally advanced and metastatic pancreatic adenocarcinomas.* **Sumrall, BT.** 2012, Journal of Clinical Oncology, Vol. 30, p. suppl 34; abstr 303.

86. *Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer: results of secondary end points analyses.* **Sultana, A, et al.** 2008, Br J Cancer, Vol. 99, p. 6-13.
87. *Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer.* **Stocken, DD, et al.** 2005, Br J Cancer, Vol. 92, p. 1372–1381.
88. *Pancreatic resection for M1 pancreatic ductal adenocarcinoma.* **Shrikhande, SV, et al.** 2007, Ann Surg Oncol, Vol. 14, p. 118-127.
89. *Preoperative irradiation in carcinoma of the pancreas.* **Pilepich, MV e Miller, HH.** 1980, Cancer, Vol. 46, p. 1945–1949.
90. *resection of the retroportal pancreatic lamina during pancreaticoduodenectomy: first dissection of the superiore mesenteric artery.* **Pessaux, P, Regent, N e Amaud, JP.** 9, November 2003, Annales de Chirurgie, Vol. 128, p. 633-636.
91. *heterogeneity and targeting of pancreatic cancer stem cells.* **Penchev, Vesselin R, et al.** 16, 2012, Clinical Cancer Research, Vol. 18, p. 4277-4284.
92. *Cell volume regulation in epithelial physiology and cancer.* **Pedersen, Stine F, Hoffmann, Else K e Novak, Ivana.** 2013, Frontiers in Physiology, Vol. 4, p. 1-12.
93. *Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial.* **Oettle, H, et al.** 2007, JAMA, Vol. 297, p. 267–277.
94. *A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer.* **Neoptolemos, JP, et al.** 2004, N Engl J Med, Vol. 350, p. 1200–1210.
95. *SCALOP: Results of a randomized phase II study of induction chemotherapy followed by gemcitabine (G) or capecitabine (Cap) based chemoradiation (CRT) in locally advanced pancreatic cancer (LANPC).* **Mukherjee, S e al, et.** 2012, Journal of Clinical Oncology, Vol. 30, p. suppl 34; abstr LBA 146.
96. *Long-Term Outcome of Initially Unresectable Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated with 5-Fluorouracil/Leucovorin, Oxaliplatin, and Irinotecan (FOLFOXIRI) Followed Radical Surgery of Metastases.* **Masi, G, et al.** May 2007, Journal of Clinical Oncology, Vol. 25.
97. *Adjuvant radiotherapy and 5-fluorouracil after curative resection of cancer of the pancreas and periampullary region: phase III trial of the EORTC gastrointestinal tract cancer cooperative group.* **Klinkenbijn, JH, et al.** 1999, Ann Surg, Vol. 230, p. 776–782. discussion 782-774.
98. *Surgery for recurrent pancreatic ductal adenocarcinoma.* **Kleeff, J, et al.** 2007, Ann Surg, Vol. 245, p. 566–572.

99. *Neoadjuvant therapy for pancreatic cancer*. **Kleeff, J, Friess, H e Buchler, MW**. 2007, Br J Surg, Vol. 94, p. 261-262.
100. *Cancer statistics, 2009*. **Jemal, A, et al**. 2009, CA Cancer J Clin, Vol. 59, p. 225-249.
101. *A retrospective study of neoadjuvant FOLFIRINOX in unresectable or borderline-resectable locally advanced pancreatic adenocarcinoma*. **Hosein, PJ, et al**. 2012, BMC Cancer, Vol. 12, p. 199.
102. *Metaanalysis of randomized trials: evaluation of benefit from gemcitabine-based combination chemotherapy applied in advanced pancreatic cancer*. **Heinemann, V, et al**. 2008, BMC Cancer, Vol. 8, p. 82.
103. *Further evidence of effective adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection of pancreatic cancer*. *Gastrointestinal Tumor Study Group*. **GITSG**. 1987, Cancer, Vol. 59, p. 2006–2010.
104. *The mesopancreas is the primary site for R1 resection in pancreatic head cancer: relevance for clinical trials*. **Gaedcke, J, et al**. 4, April 2010, Langenbecks Archives of Surgery, Vol. 395, p. 451-458.
105. *Most pancreatic cancer resections are R1 resections*. **Esposito, I, et al**. 2008, Ann Surg Oncol, Vol. 15, pp. 1651–1660.
106. *Emerging targets in pancreatic cancer: epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells*. **Castellanos, Jason A, Merchant, Nipun B e Nagathihalli, Nagaraj S**. 2013, OncoTargets and Therapy, Vol. 6, p. 1261-1267.
107. *National failure to operate on early stage pancreatic cancer*. **Bilimoria, KY, et al**. 2007, Ann Surg, Vol. 246, p. 173-180.
108. *Adjuvant combination chemotherapy (AMF) following radical resection of carcinoma of the pancreas and papilla of Vater—results of a controlled, prospective, randomised multicentre study*. **Bakkevold, KE, et al**. 1993, Eur J Cancer, Vol. 29A, p. 698–703.
109. *Diabetes-related alterations in the enteric nervous system and its microenvironment*. **Bagyanszki, M e Bodi, N**. 5, 2012, World Journal of Diabetes, Vol. 3, p. 80-93.
110. *S3-Guidelines “Exocrine pancreatic cancer”*. **Adler, G, et al**. 2007, Z Gastroenterol, Vol. 45, p. 487–523.
111. *Evolutionary dynamics in response to targeted combination therapy*. **Bozic, I, et al**. 2013, eLife, Vol. 2.
112. *Insights into Pancreatic Cancer Etiology from Pathway Analysis of Genome-Wide Association Study Data*. **Peng, W, Tang, H e Li, D**. 10, 2012, PLoS ONE, Vol. 7, p. e46887.

113. *Outcomes with FOLFIRINOX for locally advanced pancreatic cancer.* **Boone, BA e al, et.** 2012, *Journal of Clinical Oncology*, Vol. 30, p. suppl 34; abstr 256.
114. *Classification of surgical complications.* **Dindo, D, Demartines, N e Clavien, PA.** 2, 2004, *Annals of Surgery*, Vol. 240, p. 205-213.
115. *Postoperative pancreatic fistula: An international study group (ISGPF) definition.* **Bassi, C, et al.** 1, 2005, *Surgery*, Vol. 138, p. 8-13.
116. *The lymph node ratio is the strongest prognostic factor after resection of pancreatic cancer.* **Riediger, H, et al.** 7, 2009, *Journal Gastrointestinal Surgery*, Vol. 13, p. 1337-1344.
117. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Version 2.2014.* **Tempero, MA, et al.** 2014, National Comprehensive Cancer Network.
118. *Hospital volume and surgical mortality in the United States.* **Birkmeyer, JD, et al.** 15, 2002, *New England Journal of Medicine*, Vol. 346, p. 1128-1137.

Ringraziamenti

Vorrei ringraziare innanzitutto il Prof. Boggi, per la Sua disponibilità, per avermi concesso l'opportunità di condurre questo lavoro in piena libertà, per avermi dato la possibilità di esplorare un campo che esula un po' dalla chirurgia in senso stretto, ed inoltre per aver ascoltato le mie idee, per i preziosi consigli sulla mia futura carriera ed in merito a questo per aver usato nella giusta misura cautela e incoraggiamento. La Ringrazio Professore!

Un ringraziamento speciale va al Dott. Mario Belluomini, per la sua professionalità, per avermi seguito passo dopo passo durante quest'ultimo anno, per la sua estrema bontà e gentilezza, per la disponibilità praticamente 24/24h, per il tono, le parole rassicuranti e per l'effetto "ansiolitico" che ha avuto su di me....se tutto questo è stato scritto, è anche grazie a Lui Grazie di cuore!

Grazie al Dott. Funel che mi ha dato la possibilità di frequentare il laboratorio di anatomia patologica, e che mi ha fatto affacciare al mondo della ricerca e mi ha dato la possibilità di imparare e sperimentare direttamente con mano piccole procedure importanti nella ricerca di base, questo mi ha permesso di capire quanto anche questo aspetto della medicina mi affascini.