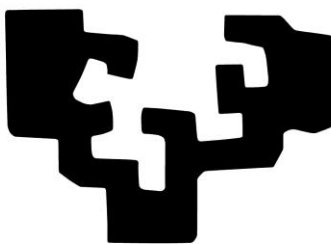


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Facultad de Medicina y Enfermería

**Cáncer de Páncreas en el Hospital Universitario
Donostia: Resultados. Implicaciones del Factor
de Transcripción SOX2**

**Xabier Arteaga Martin
Tesis doctoral
2020**

**AUTORIZACION DE LOS DIRECTORES DE TESIS
PARA SU PRESENTACION**

Dra. Marta Herreros Villanueva, con NIF 71267893-R y Dr. Luis Bujanda Fernandez de Pierola con DNI 16544702 C, como Directores de la Tesis Doctoral **Cáncer de Páncreas en el Hospital Universitario Donostia: Resultados. Implicaciones del Factor de Transcripción SOX2** realizada en el Programa de Doctorado en Medicina y Cirugía por el Doctorando Don **Xabier Arteaga Martín**, autorizamos la presentación de la citada Tesis Doctoral, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En Donostia, a 3 de julio de 2.020

La Directora de la Tesis

El Director de la Tesis

HERREROS
VILLANUEVA
MARTA - 71267893R

Firmado digitalmente por
HERREROS VILLANUEVA
MARTA - 71267893R
Fecha: 2020.07.08
07:12:42 +01'00'



Fdo.: Dra. Marta Herreros Villanueva

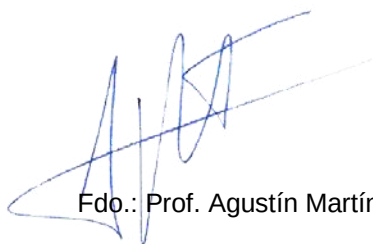
Fdo.: Dr. Luis Bujanda

AUTORIRACIÓN DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO

La Comisión Académica del Programa de Doctorado en Medicina y Cirugía, en reunión celebrada el día 10 de julio de 2020, ha acordado dar la conformidad a la presentación de la Tesis Doctoral titulada: **Cáncer de Páncreas en el Hospital Universitario Donostia: Resultados. Implicaciones del Factor de Transcripción SOX2** dirigida por la **Dra. Marta Herreros Villanueva** y el **Dr. Luis Bujanda Fernandez de Pierola** y presentada por **D. Xabier Arteaga Martín** adscrita al Departamento de Cirugía y Radiología y Medicina Física.

En Leioa a 10 de julio de 2020

EL RESPONSABLE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO



Fdo.: Prof. Agustín Martínez Ibargüen

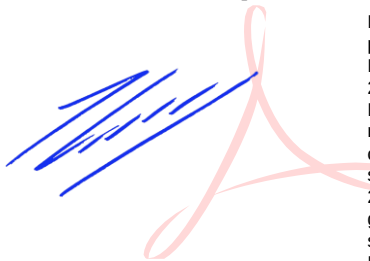
AUTORIZACION DEL DEPARTAMENTO

El Consejo del Departamento de Cirugía y Radiología y Medicina Física, en reunión celebrada el día 9 de julio de 2.020, ha acordado dar la conformidad a la admisión a trámite de presentación de la Tesis Doctoral titulada: “**Cáncer de Páncreas en el Hospital Universitario Donostia: Resultados. Implicaciones del Factor de Transcripción SOX2**” dirigida por la **Dra. Marta Herreros Villanueva** y el **Dr. Luis Bujanda Fernandez de Pierola** y presentada por **D. Xabier Arteaga Martín** ante este Departamento.

En Leioa, a 14 de julio de 2.020

Vº Bº

Director del Departamento



Firmado digitalmente
por GARCIA ALONSO
MONTOLYA IGNACIO -
24405265B
Nombre de
reconocimiento (DN):
c=ES,
serialNumber=IDCES-
24405265B,
givenName=IGNACIO,
sn=GARCIA ALONSO
MONTOLYA,
cn=GARCIA ALONSO
MONTOLYA IGNACIO -
24405265B
Fecha: 2020.07.14 14:10:10 +02'00'

Fdo.:

Secretario del Departamento



Prof. Ignacio García-Alonso Montoya

Prof. Teodoro Palomares Casado



ACTA DE GRADO DE DOCTOR
ACTA DE DEFENSA DE TESIS
DOCTORAL

Doctorando: **D. Xabier Arteaga Martín**

Título de la tesis: **Cáncer de Páncreas en el Hospital Universitario Donostia:**

Resultados. Implicaciones del Factor de Transcripción SOX2

El Tribunal designado por la Subcomisión de Doctorado de la UPV/EHU para calificar la Tesis Doctoral arriba indicada y reunido en el día de la fecha, una vez efectuada la defensa por el doctorando y contestadas las objeciones y/o sugerencias que se le han formulado, ha otorgado por _____ la calificación de:

unanimidad ó mayoría

--

Sobresaliente, Notable, Aprobado, No apto,

Idioma de la defensa: Castellano

En _____ a ____ de _____ de 2.020

El Presidente,

El Secretario,

Prof. _____

Prof. _____

Vocal 1º

Prof. _____

El doctorando

Agradecimientos

Por muy individual y personal que pueda parecer la redacción de una tesis doctoral, sería imposible llevar a cabo este trabajo sin que muchas personas hubieran colaborado con interés, opinión o trabajo.

En primer lugar quería agradecer a mis dos directores de tesis, la Dra Marta Herreros Villanueva y el Dr Luis Bujanda de Pierola, tanto su buen hacer a la hora de dirigir mi trabajo, como el apoyo que me han dado durante los años que he estado redactando esta tesis doctoral. No hubiera salido adelante sin vuestra colaboración y vuestro ánimo en esos momentos en los que mi trabajo no progresaba.

Debo hacer una mención especial a mi compañero el Dr. Carlos Placer Galán. El análisis estadístico de los datos y la corrección de los mismos, son un arduo trabajo que no hubiera sido posible sin tu desinteresada colaboración. Aunque el análisis estadístico sea un “hobby” para ti, ha sido un apoyo fundamental en mi trabajo. Gracias.

Mis compañeros de sección y de servicio han estado ahí, con sus opiniones, correcciones o aportaciones. No puedo olvidar esas tardes en las que han asumido una mayor carga de trabajo que me ha permitido dedicar más tiempo a finalizar esta tesis.

A mis padres. Gracias a su esfuerzo pude estudiar la carrera que me llevó a poder dedicarme a mi vocación que es este bonito trabajo.

Por último, y no menos importantes, debo agradecer a mi familia por todo este tiempo que les he quitado y que no he estado. Su entendimiento ha sido la mayor participación en este trabajo y la pasión por aprender que me han contagiado mis hijas, una ilusión que me ha estimulado para intentar mejorarlo. Gracias Belén. Mila esker Ainhoa eta Nagore.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

5-FU	5- Fluorouracilo
AAS	Ácido Acetil Salicílico
ADM	Metaplasia Acino-Ductal.
ADC	Adenocarcinoma
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ARN	Ácido Ribonucleico
Art	Arteria
ASA	American Society of Anesthesiologists
ASCO	American Society of Clinical Oncology
C-ADN	Ácido Desoxirribonucleico Complementario
CEA	Antígeno Carcinoembrionario
CEP	Células Estrelladas Pancreáticas
CP	Cáncer de Páncreas
CPRE	Colangio Pancreatografía Retrógrada Endoscópica
CSCs	Cancer Stem Cells
DM	Diabetes Mellitus
DFS	Supervivencia Libre de Enfermedad o Disease Free Survival
DPC	Duodenopancreatectomía cefálica
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGF	Factor de Crecimiento Epidérmico
EMT	Epithelial-Mesenchymal transition
FBS	Suero Fetal Bovino
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Factor de Crecimiento de Fibroblastos
FOLFIRINOX	5-Fluorouracilo+Leucovorin+Irinotecan+Oxaliplatino
GAP	GTPasa Activating Protein
GECA	Gemcitabina+Erlotinib+Capecitabina oral
Gemox	Gemcitabina+Oxaliplatino
GTP	Guanosín Trifosfato
IARC	International Agency for Research on Cancer
IGF-1	Factor de Crecimiento Insulínico Tipo 1
IMC	Índice de Masa Corporal
m-ARN	Ácido Ribonucleico Mensajero
Mts	Metástasis
NIPM	Neoplasias Intraductales Papilares Mucinosas
NNAL	Metabolito del NNK
NNK	4-(methylnitroamino)-1-(3 pyridyl)-1 butanona
NQM	Neoplasias Quísticas Mucinosas
NQS	Neoplasia Quística Serosa
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
OxLDL	Lipoproteínas de Baja Densidad Oxidadas
PanIN	Pancreatic Intraepithelial Neoplasm
PC	Pancreatitis crónica
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PET-TC	Tomografía de Emisión de Positrones-TC
RAMPS	Radical Antegrade Modular Pancreato-Splenectomy
RM	Resonancia Magnética
RR	Riesgo Relativo
Sd. FAMMM	Síndrome de Melanoma Familiar Atípico con Molas múltiples

SLE	Supervivencia Libre de Enfermedad
SOX2	Sex-Determining Region Y(SRY)-box2
STAT3	Signal transduction and activation of transcription3
TC	Tomografía computerizada
TGF-β	Transforming Growth Factor-beta
TMA	Tissue Microarray
TNFα	Factor de Necrosis Tumoral α
UBE	Unidad de Bebida Estandar
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
Xeloda®	Capecitabina oral

Índice

Introducción	25
1. Cáncer de Páncreas.....	27
1.1. Epidemiología y etiología.....	27
1.1.1. Incidencia y mortalidad.....	27
1.1.2. Etiología	28
a. Consumo de tabaco.....	28
b. Consumo de alcohol.....	29
c. Diabetes mellitus.....	31
d. Obesidad	32
e. Pancreatitis Crónica.....	33
f. Cáncer Pancreático Familiar	35
g. Otros factores de riesgo	35
1.2. Tipos de tumores	37
1.2.1. Adenocarcinoma de Páncreas	37
1.2.2. Otros tumores exocrinos de Páncreas	38
2. Tratamiento del Adenocarcinoma de Páncreas.....	38
2.1. Indicaciones de resección quirúrgica	38
2.2. Tratamiento quimioterápico sistémico.....	41
2.2.1 Quimioterapia Adyuvante	42
2.2.2. Quimioradioterapia Adyuvante	44
2.2.3. Quimioterapia y radio-quimioterapia neo-adyuvante	45
2.3. Tratamiento del dolor asociado al CP	46
3. Modelos de desarrollo de CP	47
3.1. Neoplasias Pancreáticas Intraepiteliales (PanIN)	48
3.1.1. Clasificación y nomenclatura de lesiones PanIN.....	49
a. Epitelio pancreático normal	49
b. Metaplasia escamosa.....	49
c. PanIN-1A (Neoplasia pancreatica intraepitelial 1-A).....	49
d. PanIN-1B (Neoplasia pancreática Intraepitelial 1-B)	50
e. PanIN-2 (Neoplasia pancreática intraepitelial 2).....	50
f. PanIN-3 (Neoplasia pancreática intraepitelial 3).....	50
3.1.2. Características inmunohistoquímicas.....	50
3.1.3. Características genéticas	51
3.1.4. Relevancia Clínica de las lesiones PanIN	53
3.2. Neoplasias Intraductales Papilares Mucinosas (NIPM)	54
3.2.1. Histología e inmunohistoquímica.....	54
3.2.2. Patología molecular y cambios genéticos	55

3.2.3. Relevancia clínica de la NIPM	55
3.2.4. Características diferenciales de los PanIN y NIPM	56
3.3. Neoplasias Quísticas Mucinosas (NQM).....	57
3.3.1. Histología e inmunohistoquímica. Cambios genéticos.	58
3.3.2. Relevancia Clínica de las NQM.	58
3.3.3. Diagnóstico diferencial de lesiones quísticas pancreáticas	59
4. Alteraciones genéticas en el CP	59
4.1. Oncogen K-RAS.....	59
4.2. Pérdida de la función del gen p16/CDKN2A/INK4A y ARF	60
4.3. Pérdida de función supresora del gen p53.....	60
4.4. Pérdida de la función supresora del gen SMAD4/DPC4 y de la señal de TGF-beta	61
4.5. Mutación del gen supresor LKB1/STK11	61
4.6. Mutación del gen supresor BRCA-2.....	62
4.7. Mutación de los genes PRSS1 y SPINK1 o de pancreatitis familiar	62
4.8. Mutación del Gen PALB2	62
4.9. Mutación del Gen ATM	63
5. Cancer Stem Cells (CSCs)	63
6. SOX2	67
Hipótesis	69
Material y métodos	77
1. Selección de pacientes y diseño del estudio	79
2. Estudio in vitro de la presencia del SOX2 en CSC pancreáticas	82
2.1. Inmunohistoquímica	82
2.2. Cultivo celular.....	83
2.3. Proliferación celular, ciclo celular y apoptosis	83
2.4. Extracción de RNA y PCR a tiempo real	84
2.5. Análisis de proteína.....	84
2.6. Inmunofluorescencia	85
3. Consideraciones éticas.....	85
4. Datos Clínicos.....	86
5. Análisis Estadístico	91
Resultados	93
1. Características de los pacientes	95
2. Diagnóstico radiológico.....	99
3. Diagnóstico histológico	100
4. Estadía del CP al diagnóstico	101

5. Tratamiento del Cáncer de Páncreas	102
5.1. Características clínicas de las 2 muestras de pacientes.....	102
5.2. Características de la muestra de pacientes intervenidos.....	108
5.3. Complicaciones quirúrgicas	110
5.6. Tratamiento quimioterápico adyuvante	112
5.7. Tratamiento quimioterápico paliativo	113
5.8. Supervivencia libre de enfermedad	114
5.9. Supervivencia	117
6. Expresión de SOX2 en el cáncer de páncreas.....	120
Discusión	127
Conclusiones.....	141
Bibliografía	145
Anexos	159

Índice de figuras y tablas

Figura 1: Modelo de progresión del cáncer pancreático	49
Figura 2: Compendio de cambios moleculares durante el modelo de progresión PanIN.	52
Figura 3 Microambiente tumoral del CP Imagen.....	64
Figura 4: Modelo de cáncer stem cells (CSC).....	65
Figura 5: Diagrama de decisión del Comité de Tumores	90
Figura 6. Diagrama de Flujo de descripción de pacientes	95
Figura 7: Curva de Kaplan Meyer de supervivencia libre de enfermedad entre los pacientes intervenidos.....	114
Figura 8: Curva de Kaplan Meyer de supervivencia libre de enfermedad según el grado de diferenciación tumoral	116
Figura 9: Curvas de supervivencia Kaplan Meyer intervenidos y no intervenidos en meses	118
Figura 10: Curva de supervivencia de Kaplan Meyer según localización del CP	119
Figura 11: Expresión de SOX2 en tejido pancreático humano	120
Figura 12 : Expresión del SOX2 en líneas celulares de cáncer pancreático humano.....	121
Figura 13: Efecto del bloqueo de SOX2.....	122
Figura 14 : Regulación de la proliferación células de cáncer de páncreas por SOX2	123
Figura 15: Análisis ChIP	124
Figura 16 : SOX2 es necesario para el mantenimiento de las propiedades de las CSC.....	126

Tabla 1: Clasificación inmunohistoquímica NIPM con análisis inmunohistoquímico y el carcinoma invasivo originado.....	55
Tabla 2. Primer usados para qRT-PCR.....	84
Tabla 3: Características histológicas según el grado de diferenciación	88
Tabla 4. Características clínicas de los pacientes.....	97
Tabla 5. Características clínicas de los pacientes en función del estadio precoz o avanzado de la enfermedad	98
Tabla 6: Estadiaje al diagnóstico de ictericia.....	98
Tabla 7: Resultados ecográficos diagnósticos según estadio	99
Tabla 8: Grado de diferenciación del CP de la serie	100
Tabla 9: Estadios por grupos de pacientes	101
Tabla 10: Características clínicas de los pacientes en función de su pertenencia al grupo de no intervenidos o intervenidos.	103
Tabla 11: Localización del CP y frecuencia de ictericia.....	104
Tabla 12: Frecuencia de debut clínico con dolor y resecabilidad del CP	104
Tabla 13: Clínica al diagnóstico por estadios	105
Tabla 14: Resultados de estudios diagnósticos en pacientes intervenidos y no intervenidos	106
Tabla 15: Causas de irresecabilidad	107
Tabla 16: Porcentaje de resecabilidad según el grado de diferenciación.....	107
Tabla 17: Frecuencias de utilización de técnicas paliativas.	109
Tabla 18: Tabla Cruzada de morbilidad, según escala Clavien Dindo, e intervención quirúrgica	110
Tabla 19: Número de reintervenciones según la técnica quirúrgica.....	111
Tabla 20: Esquemas de quimioterapia utilizados en adyuvancia	112
Tabla 21: Supervivencia media en meses en pacientes no intervenidos según el tratamiento quimioterápico	113
Tabla 22: Media para el tiempo de supervivencia libre de enfermedad según la A. Patológica.	115
Tabla 23: Medias e Intervalos de confianza (I.C.) de la supervivencia en pacientes no intervenidos e intervenidos	117
Tabla 24: Supervivencia según la localización anatómica	118

Introducción

1. Cáncer de Páncreas

1.1. Epidemiología y etiología

1.1.1. Incidencia y mortalidad

El Cáncer de Páncreas (CP) es uno de los tumores sólidos más agresivos y que independientemente del estado en el que se diagnostique comporta un mal pronóstico en todas las series descritas en los últimos años. Teniendo en cuenta todos los estadios, la supervivencia global a los 5 años del diagnóstico es inferior al 6%.

Aunque es variable según las series consultadas, se estima que nivel mundial en 2018 se diagnosticaron 458918 casos de cáncer de páncreas, y habría causado 432242 fallecimientos (1). El aumento de la incidencia a nivel mundial resulta preocupante, teniendo en cuenta que en 2008 se describieron unos 277000 nuevos casos 266000 fallecidos (2), siendo considerado el cáncer de páncreas la 7ª causa de muerte por cáncer a nivel mundial (1).

Considerando separadamente los dos sexos, esta tipo de cáncer es la 8ª causa de muerte en hombres y la 9ª en mujeres, haciendo todo ello que el cáncer de páncreas sea el decimotercer cáncer más frecuente a nivel mundial (3)(4), con una incidencia 30% mayor en hombres que en mujeres (2), aunque otros estudios no hallan diferencias entre sexos (4).

Si se analizan los datos en relación a la incidencia por edad, se observa en las diferentes series, que la edad media de aparición del cáncer de páncreas está alrededor de la 7ª década de la vida, siendo menos del 10% de los pacientes menores de 50 años (2) incluyendo los pacientes con predisposición genética (5).

En cuanto al estudio de la incidencia según la raza, se objetiva una

incidencia 50% mayor en la raza afroamericana si se compara con la raza caucasiana (6).

1.1.2. Etiología

Desde que se comenzó a conocer la incidencia y mortalidad del cáncer de páncreas, se han intentado buscar factores de riesgo directamente relacionados con el desarrollo de la enfermedad. Consecuentemente, diferentes hábitos y/o factores han sido asociados y estudiados en relación al cáncer de páncreas.

a. Consumo de tabaco

Múltiples estudios epidemiológicos (7–10), han demostrado una relación causal entre el hábito tabáquico y el desarrollo del cáncer de páncreas y algunos casos se ha descrito una asociación entre la intensidad y la duración del hábito de consumo de cigarrillos (3,4).

El tabaco, tanto en el fumador activo como pasivo y el consumo de tabaco no fumado son considerados carcinógenos del grupo 1 por la *International Agency for Research on Cancer (IARC)* (11) siendo identificado por Pandol et al. como factor de riesgo independiente para el cáncer de páncreas (2). El consumo de tabaco conlleva un aumento del riesgo, pudiendo llegar a ser el doble, con respecto a los no fumadores.

El estudio epidemiológico realizado por Duel et al. (9) describe un aumento del riesgo de CP del 75% en pacientes fumadores activos con respecto a los no fumadores, aumentando el riesgo un 1% por cada año y un 16% por cada década de hábito tabáquico. El riesgo de los ex-fumadores con respecto a los no fumadores según diferentes estudios se iguala tras 15-20 años de abstinencia tabáquica (9,11).

En cuanto al riesgo en fumadores pasivos, los datos existentes son contradictorios y mientras que la correlación es positiva en algunos estudios (9) ésta no se confirma en otros, sobre todo cuando las fumadoras pasivas son mujeres (11).

Además del consumo de tabaco en cigarrillos, no se debe olvidar el consumo en pipa, puros y mascado, pero dado su bajo consumo no existen estudios que demuestren relación estadística, siendo revisada esta relación en el estudio PanC4 sin obtener resultados relevantes (10).

En cuanto a los mecanismos carcinogénicos del tabaco, se han descrito diferentes componentes, con diferente implicación patológica.

Así, de todos ellos, las nitrosaminas son el carcinogénico más importante del humo del tabaco, siendo la 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1butanona (NNK) el componente con mayor capacidad carcinogénica. El metabolito del NNK resultante del procesamiento por el Cit P-450 (NNAL) es un potente carcinogénico animal y se ha demostrado que produce mutaciones en puntos de activación en genes como el *KRAS*, que es el más precoz y la alteración genética más común en la progresión del CP (9). Otros autores citados en el mismo trabajo no relacionan el tabaco con la mutación del *KRAS*, por lo que la lesión genómica del *KRAS* no parece tener clara relación con el tabaco.

b. Consumo de alcohol

Se han realizado diferentes y amplios estudios para intentar demostrar una asociación epidemiológicamente significativa entre el consumo de alcohol y el CP.

Varios autores han descrito un aumento del riesgo del CP en los bebedores, en principio, de alta graduación (2,9,12) habiendo relación entre el consumo de alcohol y tabaco, lo que en ocasiones puede enmascarar la verdadera relación epidemiológica (12).

Citando el trabajo de Duell et al. (9), se estudian diferentes aspectos según la cantidad de alcohol ingerida diariamente así como la relación de la cantidad con el sexo del paciente, sin evidenciar clara relación. También Lucenteforte et al (12) comparan los bebedores ocasionales y los diarios (según diferentes criterios) y no objetiva diferencias significativas en su relación con el CP.

Por otro lado, Duell et al. (9), citan el estudio de caso-control de Gupta et al. en relación al consumo de fin de semana (definido como el consumo de 5 o más bebidas en 1 episodio con 70 gr de alcohol aproximadamente), que existe un riesgo 3,5 veces mayor de CP en hombres que cumplen esos criterios, aumentando el riesgo con el número de bebidas tomadas en cada episodio. Además relaciona el consumo intenso y el de fin de semana con un aumento del riesgo de CP si son fumadores activos.

El alcohol y su metabolito directo, el acetaldehído, están considerados como carcinogénicos Grado 1 por la *International Agency for Research on Cancer* (IARC), sin encontrar una evidencia clara de la presencia de agentes potencialmente beneficiosos (flavonoides y otros polifenoles) (9).

El mecanismo de lesión directa del páncreas por el alcohol es debido a la presencia de la enzima que metaboliza el alcohol (alcohol deshidrogenasa) entre otras células, en las Células Estrelladas o *stellate cells del páncreas*, directamente implicadas en la producción de fibrosis en las (PC) (9).

El acetaldehído, produce lesiones directas del DNA, genera radicales libres o se fija directamente a proteínas reparadoras del DNA, generándose cambios ante la protección ante genes carcinogénicos, estando el grado del daño producido en relación directa con el grado de consumo de alcohol (9). La no reparación del daño en el DNA y la reparación defectuosa pueden contribuir a la iniciación de la tumorigenesis.

c. Diabetes mellitus

Se ha descrito una relación epidemiológica en diferentes estudios entre la *diabetes mellitus* (DM) y el CP (13,14) siendo el riesgo independiente de la localización geográfica, sexo, consumo de alcohol, IMC o consumo de tabaco (13).

Los diferentes estudios consultados describen un aumento del riesgo de CP en pacientes diagnosticados de DM tipo II, incluido un meta-análisis de 17 casos/control y 19 estudios de cohortes (13) que obtiene un Odds Ratio (OR) de 1,82 (95%CI 1,66-1,89) o el meta-análisis de Ben et al. (15) que describe un riesgo relativo (RR) de 1,94 (95%IC, 1,66-2,27), siendo este aumento del riesgo mayor en DM de reciente aparición (entre 2 y 5 años antes del diagnóstico). Así, autores como Ben et al. (15) llegan a afirmar que la Diabetes Mellitus puede considerarse una manifestación precoz de CP.

En este sentido, diferentes autores han intentado relacionar epidemiológicamente el momento de aparición de la DM con el CP, objetivándose una relación significativa con la DM tipo II de nueva aparición o DM new-onset. Illes et al. (16) cita en su trabajo el metaanálisis de Huxley et al. que demuestra que en la DM tipo II de menos de 4 años de evolución hay un riesgo 50% veces mayor de presentar un CP, comparado con los pacientes con DM de más de 5 años de evolución. Además Illes et al, demuestra en su trabajo prospectivo que la incidencia de CP en pacientes con DM tipo II new-onset (definida como DM tipo II de menos de 36 meses de evolución) es 198,6 veces mayor que la población normal, clasificando a los pacientes con DM tipo II new-onset como grupo de alto riesgo de padecer CP. La etiología de la aparición de la DM, no está clara, pero autores como Lu et al. (17) defienden incluirlo como fenómeno paraneoplásico relacionado con el CP por posibles productos secretados por el tumor.

d. Obesidad

La obesidad, que es considerada la epidemia del siglo XXI, adquiere importancia en relación al CP, dado el aumento de su incidencia a nivel de la población general.

Diferentes autores han realizado estudios epidemiológicos para intentar definir la relación epidemiológica entre la obesidad y el CP, valorando diferentes datos antropométricos.

Entre ellos, cabe citar el meta-análisis realizado por Larsson et al. (18), en el que estudia la relación entre el IMC y diferentes tipos de cáncer, como son el endometrial, mama en mujeres postmenopáusicas, carcinoma de células renales, colon, páncreas o esófago. Los autores concluyen que un aumento de 5 kg/m^2 en el IMC se asocia a un incremento del riesgo de sufrir un CP. Este aumento del riesgo de CP se relaciona con una asociación biológica entre la obesidad, sobre todo la central, con la intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y desarrollo de DM tipo II. Esta asociación de la DM con el riesgo de CP en diabéticos tipo II de reciente diagnóstico, es apoyada por otros estudios, como ya hemos citado anteriormente (16,17).

En este mismo sentido, Bracci (19) describe, además, que el aumento del riesgo de CP en pacientes obesos se relaciona con un aumento de producción de IGF (*Insulin Growth Factor*) que junto al aumento de producción de insulina, favorecen el crecimiento de las células tumorales. Además el tejido adiposo produce leptina y adiponectina, las cuales aumentan el número de macrófagos y la producción de, entre otras interleuquinas, factor de necrosis tumoral α (TNF α) e IL-6, favoreciendo la actividad inflamatoria crónica, aumentando la angiogénesis y la proliferación celular y produciendo una disminución de la apoptosis celular.

Por otro lado, se han descrito diferentes carcinogénicos, como las

aminas heterocíclicas, relacionadas con dietas no-equilibradas (presentes sobre todo en carne frita o asada a alta temperatura, conservas y algunos vegetales y/o granos) (19).

Por el contrario, el mantenimiento de una actividad física habitual moderada se ha asociado a un aumento de citoquinas anti-inflamatorias, aumento de la actividad de las células Natural-Killer, aumento de la actividad de reparación del DNA, alteración de la sensibilidad a la insulina y reduce la angiogénesis tumoral, por lo que además de disminuir el IMC también ejerce un efecto protector contra lesiones tumorales.

Autores como Genkinger et al. (20) o Arslan et al. (21) comparan individuos con diferentes IMC u otras medidas antropométricas, concluyendo que el riesgo de CP aumenta en relación a la obesidad, siendo este riesgo mayor cuanto más precoz es la instauración de la obesidad (20).

e. Pancreatitis Crónica

La relación entre PCy CP está ampliamente descrita por varios autores en diferentes estudios epidemiológicos (2,3,22,23), llegando a describir hasta una incidencia 3 veces mayor (22).

Pero trabajos como el de Talamini et al. (23) han tratado de analizar la relación epidemiológica de la PC y el CP en un seguimiento de 10 años. En el estudio se describe un aumento de CP en pacientes diagnosticados de PC cuando se ha asociado el hábito tabáquico. Con estos hallazgos, concluye que la degeneración a CP del páncreas enfermo con PC puede depender de varios factores además de la inflamación crónica.

Pandol et al. (2) describe la relación del CP con la PC asociada o no al alcohol y hábito tabáquico, y los pasos para la progresión a CP de las células pancreáticas en el contexto del estímulo por parte de las células estrelladas pancreáticas.

Las células estrelladas pancreáticas son las responsables de la reacción desmoplásica tanto en la PC como en el CP. Estas células estrelladas, que normalmente se localizan en el espacio peri-acinar, se encuentran en estado quiescente con un bajo índice de proliferación y de producción de matriz extracelular y citoquinas. Cuando estas células se activan (estableciendo un estado conocido como estado miofibroblástico) migran y comienzan a producir gran cantidad de proteínas de matriz extracelular, citoquinas y factores de crecimiento, y durante la enfermedad estas células mantienen su estado activado a través de la exposición a citoquinas, factores de crecimiento y proteínas de la matriz extracelular probablemente producidas por células acinares, células cancerígenas, células inflamatorias, plaquetas, células endoteliales y las propias células estrelladas.

Uno de los factores que se ha descrito que pueden activar a las células estrelladas es el alcohol y sus metabolitos, principalmente el acetaldehído, no así el tabaco. Además el abuso de alcohol se asocia con él de los niveles circulatorios de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (OxLDL) y $\text{TNF}\alpha$, este último también aumentado su producción desde los macrófagos del tejido adiposo de los pacientes con aumento del IMC, teniendo ambos efectos potenciales en la activación de las células estrelladas.

Pandol et al., además, describieron el potencial mecanismo por el cual la desmoplasia promueve las células tumorales a través de la acción directa de las proteínas de la matriz extracelular (laminina y fibronectina) y los factores de crecimiento producidos por las células estrelladas (IGF-1) que promueven la supervivencia de la célula pancreática tumoral y su crecimiento por activación intracelular.

Estos hallazgos revelan la relación simbiótica entre las células pancreáticas cancerígenas y las células estrelladas pancreáticas, favoreciendo la velocidad de crecimiento y las posibles metástasis.

A su vez las células estrelladas tienen una importante relación en la progresión del CP en las lesiones PanIN (*Pancreatic Intraepithelial Neoplasm*), en las que se aprecia una marcada reacción desmoplásica con depósito de colágeno, favoreciendo la evolución de las lesiones PanIN a CP.

f. Cáncer Pancreático Familiar

Diferentes estudios epidemiológicos han descrito una tendencia a la agregación familiar de pacientes con CP.

Silverman et al. (24) en su estudio epidemiológico publicado el año 1999, describe el aumento del riesgo con un odds ratio de hasta 3,2 (IC 1,8-5,6) en pacientes con historia familiar de CP. Además, el riesgo de CP con agregación familiar aumenta hasta 5 veces más si se asocia el hábito tabáquico de larga duración (>20 años), con un OR de 5,3 (IC 2,1-13,4).

Olson et al. (25) realiza un análisis de diferentes enfermedades hereditarias y/o alteraciones genéticas que se relacionan con el CP hereditario, siendo especialmente característico el cáncer pancreático familiar, descrito como la predisposición inherente a sufrir CP en familiares de primer y segundo grado, todo ello en ausencia de susceptibilidad genética conocida, calculándose su incidencia en aproximadamente entre el 5-10%, variando el riesgo según el número y grado de la relación familiar. Además nos describe someramente las diferentes enfermedades hereditarias con relación conocida con el CP que pasaremos a citar en un capítulo dedicado a las alteraciones genéticas relacionadas con el CP.

g. Otros factores de riesgo

Dentro de los múltiples estudios epidemiológicos realizados en relación al CP, se han analizado diferentes factores, que aunque presentan una correlación con la enfermedad, esta es poco significativa, aunque cabe citarlos en este trabajo.

Así, entre ellos se encuentra la infección por *Helicobacter pylori* descrita por Trikudanathan et al. (26) o la reducción del riesgo de CP con la toma de Ácido Acetil salicílico (AAS) de larga duración descrita por Bradley et al. (27,28).

Además se ha estudiado a nivel epidemiológico la influencia del grupo sanguíneo, por ejemplo por Wolpin et al. (29) concluyendo que los grupos A, AB y B tienen mayor riesgo de CP que el grupo O, siendo significativamente mayor el grupo B con alelos BB. Por último se han valorado otros diferentes factores como la ingesta de carne roja, temperatura de cocción, ingesta de azúcar, grasa o ingesta de frutas con diferentes resultados (3).

Otros autores, como Gómez-Rubio P. et al. (30) han realizado un trabajo epidemiológico de cohortes para intentar describir la relación epidemiológica entre el CP y la descripción clínica del paciente de la asociación de diferentes síntomas que denomina “multimorbilidad”. Divide 3 grandes grupos: un primer grupo que incluye síntomas asociados a problemas gástricos (ulcus, ardor, positividad a *Helicobacter pylori*... etc), un segundo grupo asociado al síndrome metabólico (obesidad, Diabetes mellitus tipo II, hipercolesterolemia e hipertensión arterial); y un tercero con síntomas de pacientes atópicos (asma, rinitis, dermatitis).

El autor analiza la relación de las diferentes asociaciones con el posterior diagnóstico de CP. Describe una mayor asociación del CP con la presencia de multimorbilidad gástrica o metabólica, presentando un efecto protector en el grupo de síntomas atópicos. Pero la mayor asociación con el CP la describe con la presencia de multimorbilidad de poco tiempo de evolución previo al diagnóstico de CP. Dentro de este grupo entraría la diabetes mellitus new-onset, descrita en un apartado anterior.

Para explicar la relación entre la multimorbilidad de poco tiempo de evolución con el CP, el autor describe un contexto de inflamación sistémica

secundaria al tumor y una relación que explicaría el desarrollo de los síntomas, y a su vez la mejoría de alguno de ellos tras la resección tumoral (como la diabetes mellitus) (30).

1.2. Tipos de tumores

El hecho de que la glándula pancreática presente función exocrina y endocrina, conlleva que sea el origen de diferentes tipos de tumores malignos, tanto de estirpe exocrina y endocrina.

Los tumores de origen endocrino, originarios de las células de los islotes de Langerhans, a grosso modo, se pueden clasificar en benignos y malignos, y a su vez estos 2 tipos pueden ser funcionantes (secretoras de hormonas) o no funcionantes.

Dado que el motivo de este trabajo es el adenocarcinoma de páncreas, no nos vamos a extender en la fisiología o fisiopatología de los tumores neuroendocrinos de páncreas, pasando a describir los diferentes tumores malignos exocrinos del páncreas.

1.2.1. Adenocarcinoma de Páncreas

Se trata de un tumor que ocurre casi exclusivamente en adultos y probablemente se origina del epitelio ductal dado su similitud fenotípica con producción de mucina y expresión característica de citoqueratinas (31), con una localización típica en cabeza pancreática (60-70%).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe diferentes variantes de CP (31), ya que todos ellos presentan glándulas neoplásicas con diferenciación ductal:

- .- Carcinoma mucinoso no quístico
- .- Carcinoma de células en anillo de sello

- .- Carcinoma adenoescamoso
- .- Carcinoma anaplásico
- .- Carcinoma indiferenciado
- .- Carcinoma indiferenciado con células osteoclasticas tipo células gigantes
- .- Carcinoma mixto ductal-endocrino.

Todas las variantes se caracterizan por su baja frecuencia, siendo el más frecuente entre ellos el carcinoma anaplásico, con una frecuencia dentro de los CP no superior al 7% (31). Cada una de las variantes presenta diferentes características histológicas y/o inmunohistoquímicas, que no vamos a describir por extenderse fuera del objetivo de este trabajo.

1.2.2. Otros tumores exocrinos de Páncreas

Existen diferentes tumores de origen exocrino a nivel pancreático. Estos tumores están descritos por la OMS (31), teniendo una frecuencia no superior a 3-4% de todos los tumores pancreáticos exocrinos. Cabe nombrar, por su mayor frecuencia, el carcinoma intraductal papilar mucinoso, el carcinoma de células acinares o el tumor de Frantz (también llamado neoplasia sólida pseudopapilar) y el cistoadenocarcinoma seroso o el cistoadenocarcinoma mucinoso (31).

Aunque existen otros tumores adicionales a los ya descritos, dada su baja frecuencia obviaremos la descripción de los mismos en este trabajo.

2. Tratamiento del Adenocarcinoma de Páncreas

2.1. Indicaciones de resección quirúrgica

La resección quirúrgica constituye el pilar fundamental del tratamiento del CP, debiendo ser completa con márgenes suficientes y asociando una linfadenectomía adecuada (32). Desafortunadamente solo el 15-20% de los

pacientes son candidatos a la pancreatectomía (33).

El estudio radiológico preoperatorio determina los candidatos a la resección, y solo los pacientes con enfermedad limitada al páncreas y ganglios peripancreáticos (estadios entre I y IIB) son los que más probablemente podrán curarse de la enfermedad con la resección (33). Explicaremos los procedimientos diagnósticos e indicaciones quirúrgicas, no así la técnica, que supera los objetivos de este trabajo.

Cuando se tiene el diagnóstico radiológico de CP en cabeza pancreática, a pesar de la agresividad quirúrgica y la morbi-mortalidad asociada a la intervención, se plantea el tratamiento quirúrgico, todo ello en relación al alto nivel de falsos negativos que presenta el estudio histológico (sobre todo con biopsia guiada por ecoendoscopia o cepillado por *Colangiopancreatografía Retrógrada Endoscópica* (CPRE), siendo esta actitud avalada en uno de los artículos de consenso (32).

Por último, antes de decidir la actitud quirúrgica, cabe destacar las diferentes indicaciones y contraindicaciones del tratamiento quirúrgico. Así las contraindicaciones absolutas son (32,33):

- la presencia de metástasis hepáticas, peritoneo, omento o extra abdominales
- la afectación de la arteria mesentérica superior mayor de 180° u oclusión o trombosis de la misma,
- cualquier afectación del tronco celíaco (o mayor de 180° si el tumor es de cuerpo pancreático)
- Oclusión no reconstruible de la vena porta o vena mesentérica superior
- Invasión o inclusión de la vena cava inferior o de la aorta.
- Metástasis ganglionares más allá del campo de resección (Adenopatías inter aorto-cavas)

Además de los pacientes considerados irresecables, existe otra

categoría descrita, clasificada como *tumores borderline* o de resecabilidad intermedia, que son aquellos tumores localmente avanzados, pero con posibilidad de recuperación para la cirugía tras quimioterapia y/o quimiorradioterapia neoadyuvante (34). Estos tumores *borderline* se caracterizan por:

- Ausencia de metástasis a distancia.
- Afectación radiológica de la vena porta o de la mesentérica superior consistente en distorsión/estenosis u oclusión de la misma con presencia de vaso adecuado proximal y distal que permita una resección y reconstrucción segura.
- Presencia de planos grasos intactos alrededor del tronco celíaco, art. hepática y arteria mesentérica superior
- Afectación de la arteria gastroduodenal por parte del tumor hasta la arteria hepática, tanto por afectación focal como por contacto directo con la arteria hepática, sin extensión al tronco celíaco.
- Afectación radiológica de la arteria mesentérica superior inferior a los 180° de la circunferencia del vaso.

Dentro de estos pacientes con tumores *borderline*, citando el estudio consultado (32), ha demostrado que la infiltración de vena porta o mesentérica superior no empeora el pronóstico oncológico, pero su resección y reconstrucción conlleva una mayor morbi-mortalidad postquirúrgica (33). En cambio, la afectación de la arteria mesentérica superior, ha objetivado un claro empeoramiento del pronóstico oncológico a pesar de su resección, por lo que no se recomienda su resección.

Por todo ello, se recomienda que ante un paciente con sospecha de CP con afectación de arteria mesentérica superior y que cumpla los criterios de tumor *borderline*, se deberá incluir en un protocolo de neoadyuvancia para intentar conseguir reducción de masa tumoral y desaparición de la infiltración arterial para recuperar al paciente para tratamiento quirúrgico (33).

Hasta ahora nos hemos centrado en tumores localizados en cabeza pancreática, pero no podemos olvidar los tumores de cuerpo y cola. Por su localización, típicamente evolucionan de forma silente por lo que al diagnóstico solo entre el 7-10% son resecables, a diferencia de los de cabeza, en los cuales el índice de resecabilidad puede llegar a entre el 15-25% (35). Esta progresión silente puede debutar con dolor abdominal inespecífico o dolor intratable al diagnóstico, siendo un criterio de diseminación locoregional.

Como en los tumores de cabeza de páncreas, la mejor opción terapéutica para los tumores de cuerpo-cola es la quirúrgica con resección quirúrgica de la lesión y del drenaje linfático, asociando esplenectomía o resección multivisceral de órganos vecinos (estómago, suprarrenal izquierda o colon izquierdo), siendo contraindicación absoluta la presencia de metástasis a distancia y/o peritoneales. En cuanto a la afectación de vena porta o tronco celíaco, la gran mayoría de autores la considera una contraindicación absoluta.

Por último, desde el punto de vista quirúrgico, otra de las posibilidades técnicas es la pancreatectomía total, que oncológicamente se considera adecuada, para mantener la premisa de evitar la afectación de los márgenes de resección pero con consecuencias metabólicas severas con un detrimento importante de la calidad de vida del paciente por la insuficiencia endocrina y exocrina que se producen.

2.2. Tratamiento quimioterápico sistémico

Desde hace varios años el interés por encontrar terapias neoadyuvantes y adyuvantes que puedan mejorar la supervivencia obtenida solo mediante cirugía ha crecido considerablemente. En concreto, desde los años 80 hasta la actualidad tanto opciones de quimioterapia como radioterapia han sido objeto de estudio y ensayos clínicos.

2.2.1 Quimioterapia Adyuvante

En 1980 se describió el primer estudio en el que quimioterapia basada en 5-Fluorouracilo (5-FU) en un contexto paliativo de cáncer de páncreas producía una supervivencia media de 44 semanas frente a las 9 semanas en casos controles (36). En los años 90, un pequeño número de estudios demostró que 5-FU en combinación con doxorrubicina y Mitomicina C mejoraba la supervivencia media de los pacientes (36).

Posteriormente el ensayo clínico ESPAC-1 del *European Study Group for Pancreatic Cancer* fue el primer estudio internacional randomizado (37) para determinar si la quimioterapia adyuvante mejoraba la supervivencia después de la resección de cáncer de páncreas. Este ensayo demostró una supervivencia media de 20.1 meses para pacientes que había recibido quimioterapia frente a los 15.5 meses en aquellos que no la habían recibido. La supervivencia a los 2 y 5 años fue de 40% vs 21% y de 21% vs 8% respectivamente para los que recibieron quimioterapia frente a los que no.

En 1997, el análogo de nucleósido Gemcitabina se presentó cuando Burris et al. (38) compararon el beneficio de este agente frente a 5-FU. Este estudio demostró que gemcitabina producía un beneficio clínico en pacientes (reducción del dolor, pérdida de peso y estado general) además de una tasa de supervivencia después de una año del 18% de los pacientes que recibieron gemcitabina frente al 2% de los que recibieron 5-FU.

El ensayo CONKO-001 (39) comparó pacientes que recibieron gemcitabina como terapia adyuvante frente a los que solo recibieron solo resección quirúrgica demostrando que la gemcitabina mejoraba significativamente el tiempo libre de progresión 3.4 meses en pacientes con gemcitabina frente a 6.9 meses en pacientes control. Por el contrario, la supervivencia global media con gemcitabina fue solo marginal comparado con el grupo observacional (22.8 meses frente a 20.2 meses, $P=0.005$). En conclusión, este estudio se considera pionero al establecer que la gemcitabina posee un mejor perfil de toxicidad comparado con el 5-FU.

De forma paralela al CONKO-001 se llevó a cabo el ensayo ESPAC-3(v2) en el que aunque no se demostraron diferencias significativas en supervivencia global o supervivencia libre de enfermedad (DFS) al comparar el grupo de gemcitabina con el de 5-FU, se concluyó que la gemcitabina resultaba en menor número de efectos adversos (7.5% vs 14%) estableciéndose así esta droga como quimioterapia de referencia para el tratamiento adyuvante en cáncer de páncreas.

Más recientemente, en 2008 el estudio JASPAC-01 (40) comparó la gemcitabina con la pirimidina fluorinada S1 publicándose en 2012 resultados de una supervivencia global a los dos años de 53% frente a 70% para los grupo de gemcitabina y S1 respectivamente. A pesar de que S1 demostró ser superior en supervivencia libre de enfermedad a los dos años con el 49% de los pacientes libres de enfermedad comparado con el 29% de los tratados con gemcitabina y menor toxicidad, este agente no ha alcanzado mayor alcance debido a estudios que argumentan diferencias en la forma de metabolizarlo en poblaciones Asiáticas y Caucásicas (41).

Tras la serie de ensayos clínicos que se han llevado a cabo, en la actualidad otros ensayos en Phase III prueban combinaciones como Gemcitabina con la fluoropirimidina Capecitabina; Folfirinox (combinación 5-FU con Oxaliplatino e irinotecan); Gemcitabina con el inhibidor tirosinquinasa Erlotinib; Platinos en neoadyuvancia (41) o las nuevas combinaciones Gemcitabina con el taxano denominado nabpaclitaxel (41).

Esta última combinación fue aprobada en 2013 por la *Food and Drug Administration* (FDA) en EEUU y en 2014 en Europa para primera línea de tratamiento en pacientes con adenocarcinoma metastásico de páncreas tras demostrarse en el ensayo clínico MPACT que la supervivencia libre de enfermedad mejoraba de 3.7 a 5.5 meses y la supervivencia global de 6.7 a 8.5 meses y se señala entre la comunidad de oncólogos como la nueva tendencia en quimioterapia a nivel mundial.

En resumen, desde 1997 la gemcitabina ha sido el tratamiento estándar para cáncer de páncreas avanzado siendo este tratamiento junto con FOLFIRINOX los tratamientos de elección para pacientes con buen estado funcional. Por el contrario, pacientes con bajo estado funcional son tratados con gemcitabina o capecitabina en monoterapia o con gemcitabina/erlotinib ahora optando por la elección de gemcitabina/nabpaclitaxel.

La gemcitabina ha demostrado un beneficio clínico pero tan solo una mejora en la supervivencia modesta con respecto al tratamiento con 5-FU (36,38).

La gemcitabina está recomendada para mejora de síntomas clínicos en monoterapia para pacientes sintomáticos con enfermedad metastásica o localmente avanzada irresecable con estado funcional (*performance status*) bajo en escalas como el *Índice de Karnofsky* o la escala del *Performance Status* de la *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG).

Además, gemcitabina en monoterapia se usa en un esquema de terapia adyuvante ya que mejora tanto la SLE (13.4 meses vs. 6.9 meses; $P < .001$, log rank).¹⁷⁵ como de supervivencia global (22.8 meses vs. 20.2 meses; HR, 0.76; 95% CI, 0.61-0.95; $P = .01$).¹⁷⁶ cuando se compara con tratamiento quirúrgico sin terapia adyuvante.

2.2.2. Quimioradioterapia Adyuvante

El papel de la quimioradioterapia en cáncer de páncreas ha sido y continúa siendo controversial y los resultados contradictorios obtenidos en varios ensayos clínicos han hecho que esta terapia sea solo opción en algunos países como Estados Unidos. GITSG (42) fue el primer ensayo randomizado que evaluaba el papel de la quimioradioterapia adyuvante en cáncer de páncreas comparando quimiorradiación basada en 5-FU frente a no terapia adyuvante. Este estudio demostró una mejora en la supervivencia media en el grupo que recibía tratamiento con respecto los que no los

recibieron (21 vs 10.9 meses). Consecuentemente, estos resultados hicieron que la quimioterapia se estableciera como opción estándar en Estados Unidos (43) aunque no en Europa.

El estudio EORTC (44) llevado a cabo en Europa acabó demostrando que la radioterapia adyuvante es inefectiva tanto en cáncer de páncreas como en cáncer ampular ya que no se obtuvieron diferencias significativas en supervivencia global ni SLE. De la misma forma, el ensayo ESPAC-1 no demostró beneficio en supervivencia en pacientes que recibían quimioradioterapia, concluyendo incluso en un sub-análisis un efecto negativo en la supervivencia. Posteriormente, el estudio RTOG97-04 tampoco encontró diferencias en supervivencia global ni en SLE.

2.2.3. Quimioterapia y radio-quimioterapia neo-adyuvante

En los últimos años, ha comenzado a tener importancia el planteamiento de la quimioterapia neoadyuvante en el CP. El interés por las terapias neoadyuvantes ha surgido en relación a la descripción de los CP de resecabilidad borderline. En este grupo de tumores se han descrito diferentes grados de respuesta y recuperación para cirugía y se comienza a plantear el interés de la neoadyuvancia para todos los CP.

Las ventajas teóricas de la neoadyuvancia radican en el intento de erradicar las células tumorales circulantes y las micrometástasis, además de conseguir un mayor índice de resecciones quirúrgicas R0 (45). Además la morbilidad inherente a la cirugía pancreática conlleva un alto número de pacientes que no reciben la terapia adyuvante, perdiendo así el beneficio de la misma.

Existen múltiples estudios fase II con diferentes esquemas. Entre ellos los más utilizados son la gemcitabina en monoterapia, y en los últimos años la combinación de quimioterápicos como el FOLFIRINOX. Varios de estos estudios han demostrado resultados favorables en neoadyuvancia, incluidos bajos niveles de morbilidad postquirúrgica (46).

Se han comparado, además, esquemas de neoadyuvancia junto con radioterapia, describiendo el mismo grado de respuesta en esquemas únicamente con quimioterapia que en esquemas con radioterapia asociada, estando pendientes de poder definir estos resultados en estudios que ya están en marcha. (46)

Pero actualmente el mayor problema para la aplicación estandarizada de la neoadyuvancia en el CP radica en que múltiples estudios fase II y revisión de bases de datos sugieren efectos beneficiosos en cuanto a la terapia neoadyuvante (como el tratamiento de las micrometastasis, potencial de aumento de las resecciones R0, la descrita posibilidad de disminución de las complicaciones postoperatorias y la posible mejoría del estado nutricional preoperatorio del paciente) (45).

Además en los pequeños estudios realizados, la administración de terapia neoadyuvante sin radioterapia demuestra una leve mejoría de la supervivencia, teniendo los esquemas con radioterapia un mayor efecto local en tumores irresecables que en un efecto más potente en la disminución de tamaño, objetivando mayor índice de resecabilidad en esquemas basados en FOLFIRINOX que en gemcitabina (45).

Independientemente a lo descrito hasta ahora, los autores consultados concluyen en la necesidad de confirmación de estos datos con ensayos clínicos randomizados con mayor potencia estadística.

2.3. Tratamiento del dolor asociado al CP

El dolor al diagnóstico del CP se relaciona con la infiltración de plexos nerviosos que rodean el tronco celíaco (también denominado plexo solar). Durante la evolución de la enfermedad puede llegar a ser intenso e invalidante, llegando a no poderse controlar con el tratamiento analgésico habitual (incluidos parches de derivados mórficos transdérmicos) obligando a realizar un tratamiento paliativo específico.

Hasta la instauración de terapias dirigidas desde unidades de tratamiento del dolor, el tratamiento se realizaba de forma quirúrgica con neurolisis química del plexo celíaco por inyección directa de alcohol absoluto a nivel del plexo celíaco.

Actualmente se ha demostrado la seguridad del procedimiento de neurolisis química guiada por ecoendoscopia, utilizada en la serie de pacientes de nuestro centro, en los que el control del dolor no ha sido satisfactorio con terapia farmacológica.

También se ha descrito el tratamiento radioterápico como tratamiento de la invasión local del CP, describiéndose resolución del dolor relacionado con el cáncer entre el 35-65% de los pacientes. El inconveniente es la latencia de varias semanas que tiene la radioterapia en disminuir el dolor, siendo más efectiva y rápida la neurolisis química (47).

3. Modelos de desarrollo de CP

Dado el mal pronóstico de los CP, numerosos investigadores han tratado de definir las lesiones pancreáticas con capacidad de transformación neoplásica, y así poder tratarlas antes de que exista una degeneración maligna. Así, se han descrito 3 tipos de lesiones con clara capacidad de malignización o evolución de displasia severa a carcinoma invasivo. Dentro de estos 3 tipos de lesiones se encuentran las PanIN, las Neoplasias Intraductales Papilares Mucinosas (NIPM) y las Neoplasias Quísticas Mucinosas (NQM).

Una de las hipótesis sobre el desarrollo molecular y celular del CP es que éste surge inicialmente de unas lesiones preneoplásicas mucinosas con morfología ductal denominada PanIN. Estas lesiones, son observadas de forma frecuente en humanos junto con NQMs y NIPM (48) como los precursores del adenocarcinoma invasivo.

Durante el desarrollo de PanINs, la acumulación de mutaciones genéticas conlleva al avance de los cambios celulares y finalmente a CP

(49). La alteración genética más temprana parece ser la mutación de *KRAS* siendo esta alteración la responsable de la metaplasia acino-ductal (ADM) que caracteriza el reemplazamiento de células acinares con células que expresan marcadores ductales como CK19 y que finalmente termina en CP. Además de *KRAS*, las alteraciones en TP53 y SMAD4 se encuentran comúnmente en la transición PanIN a CP (50).

Modelos de estudio proponen que solo la expresión de *KRAS* mutado en células ductales pancreáticas no garantiza el desarrollo de PanIN/CP (51,52). Por el contrario, muchos estudios demuestran que PanIN/CP se originan de células acinares diferenciadas que componen la mayor parte del parénquima del páncreas (50,53). La transformación de células acinares a ductales en el ADM, se ha corroborado al observar procesos de transdiferenciación celular (54) donde además de la expresión de *KRAS* mutado se produce un silenciamiento de genes acinares y expresión de genes ductales. Por ejemplo se conoce la activación de la ruta Raf/MEK/ERK y alteración de la expresión de genes como *Mist1*.

3.1. Neoplasias Pancreáticas Intraepiteliales (PanIN)

En los últimos años se ha utilizado terminología como lesión metaplásica, hiperplasia, displasia y neoplasia (55) para nominar y describir lesiones con progresión a malignidad. El estudio de dichas lesiones ha conllevado la descripción de diferentes anormalidades genéticas en las lesiones PanIN asociados a los diferentes grados de desarrollo de las lesiones, según la clasificación de consenso descrita en 2004 (56).

En cuanto a sus características generales, las lesiones PanIN se detectan en más del 40% de los adultos sin CP, de las cuales menos del 5% son PanIN tipo 3, pero en pacientes con CP, se objetiva que en el 30-50% de las lesiones PanIN de las piezas quirúrgicas son tipo 3, lo que sugiere que la evolución de las lesiones PanIN y su mayor grado de degeneración lo convertirían en precursor del CP.

3.1.1. Clasificación y nomenclatura de lesiones PanIN

Se han descrito 3 grados de lesiones PanIN, con dos subniveles en el tipo 1 como se muestra en la figura 1 (57).

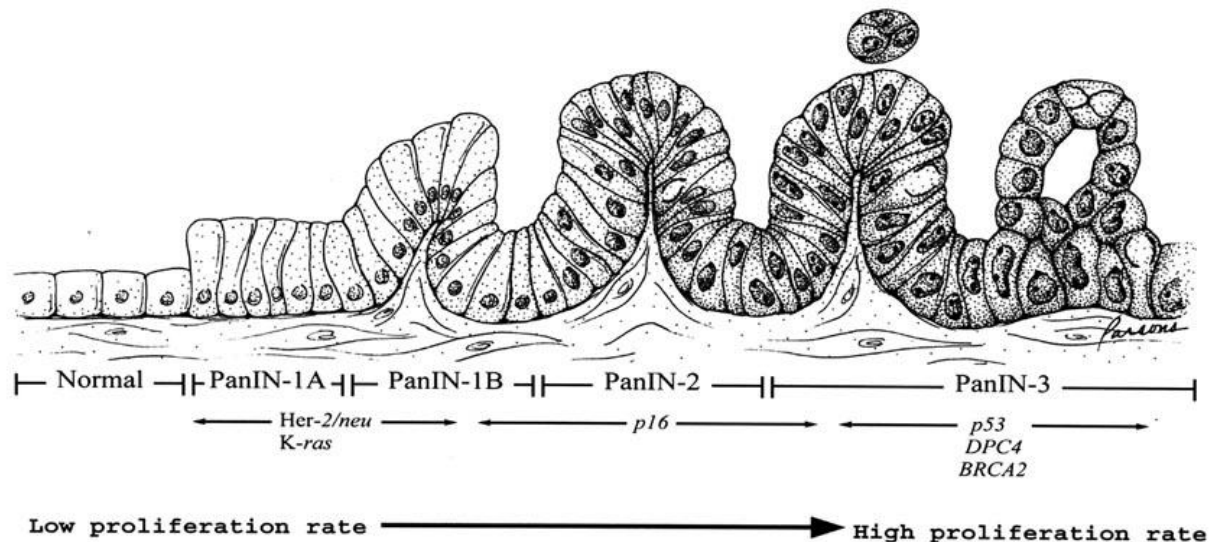


Figura 1: Modelo de progresión del cáncer pancreático. Klein et al. (57)
Con permiso del autor

a. Epitelio pancreático normal

El epitelio ductal pancreático normal está formado por epitelio cuboidal a columnar bajo, con citoplasma anfófilo y mucinoso y sin atipia.

b. Metaplasia escamosa

Es el proceso por el cual el epitelio cuboidal normal es sustituido por epitelio escamoso estratificado o epitelio de transición pseudoestratificado sin atipia.

c. PanIN-1A (Neoplasia pancreatica intraepitelial 1-A)

Se trata de lesiones epiteliales planas compuestas por células columnares altas con núcleos basales y abundante mucina supranuclear.

d. PanIN-1B (Neoplasia pancreática Intraepitelial 1-B)

Estas lesiones presentan estructura papilar, micropapilar o arquitectura pseudoestratificada basal. El resto de características son idénticas a las lesiones PanIN-1A.

e. PanIN-2 (Neoplasia pancreática intraepitelial 2)

Arquitecturalmente estas lesiones pueden ser planas, pero en su gran mayoría son papilares. Por definición estas lesiones pueden presentar anormalidades como son la pérdida de la polaridad nuclear, pseudoestratificación o hiperchromatismo. Las mitosis son raras, pero cuando aparecen son no apicales y sin atipias.

f. PanIN-3 (Neoplasia pancreática intraepitelial 3)

Arquitecturalmente se trata de lesiones papilares o micropapilares, aunque raramente pueden ser planas. Presentan pequeñas agrupaciones celulares intraluminales y necrosis luminal, todo ello sugiriendo lesión tipo PanIN 3. Citológicamente estas células presentan pérdida de la polaridad nuclear, con células tipo “*goblet cell*” distróficas con núcleos altos y citoplasma mucinoso hacia la membrana basal, todo ello asociado a mitosis que ocasionalmente pueden ser anormales, con irregularidades nucleares y nucléolo prominente. Estas lesiones se parecen al carcinoma a nivel citonuclear pero con ausencia de invasión de la membrana basal.

3.1.2. Características inmunohistoquímicas

Durante el aumento del grado de displasia de las lesiones PanIN se produce una evolución a nivel inmunohistoquímico (58). Así, mientras que en las fases iniciales no existe una expresión claramente definida, en las lesiones PanIN 2 y 3 se produce una expresión de MUC1, al igual que en el

tejido pancreático normal. En cambio, el marcador intestinal mucinoso MUC2 y el marcador de diferenciación intestinal CDX2 son negativos tanto en las lesiones PanIN como en el CP, pero si presentan positividad en la NIPM con diferenciación intestinal, siendo esta diferencia útil para diferenciar ambas lesiones.

Los marcadores MUC3 y MUC4 presentan un aumento progresivo en las lesiones PanIN con aumento de la displasia y son altamente expresados en el CP.

3.1.3. Características genéticas

Las lesiones PanIN forman parte de un modelo de progresión hacia el CP, presentando diferentes mutaciones según el aumento de la displasia, representado en la figura 2 (58).

La mutación del KRAS es una de las anormalidades genéticas más precoces en el modelo de progresión del CP (56,58). El punto de activación de la mutación más común está localizado en el codón 12 y 13 del exón 2 del gen KRAS (en más del 90% de los CP), y se cree que es la mutación conductora para la formación del cáncer pancreático.

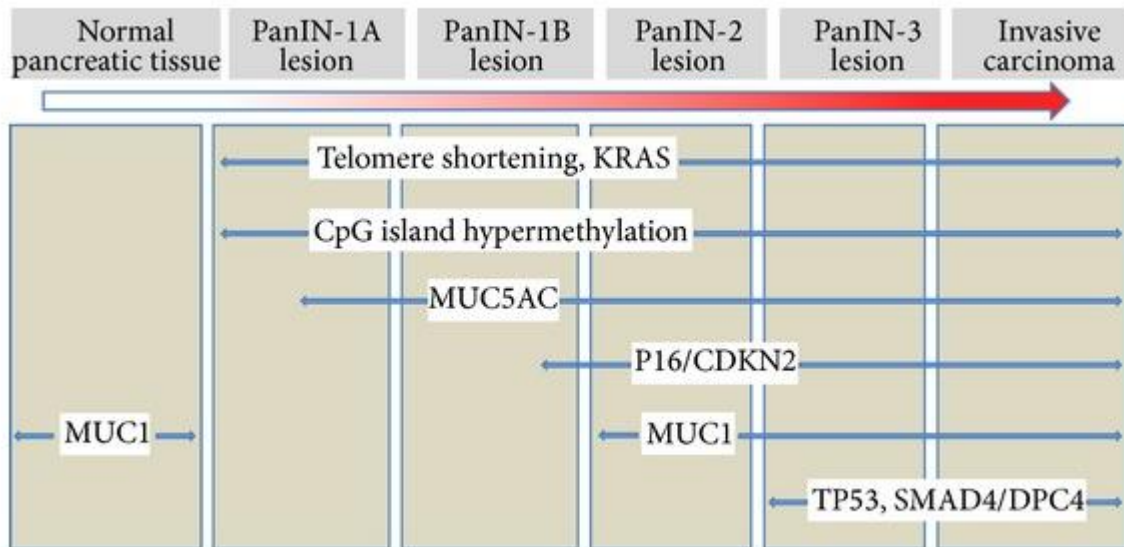


Figura 2: Compendio de cambios moleculares durante el modelo de progresión PanIN. Reproducido con permiso para reproducción del trabajo de Distler M. et al. (58).

El acortamiento de los telómeros, es un proceso natural que aumenta con la edad de las células y ocurre de forma precoz en la progresión del CP. Este acortamiento conlleva una fusión anormal entre cromosomas, promoviendo la progresión neoplásica de las células.

Además de la mutación KRAS, que conduce a un aumento de la proliferación, y el acortamiento de los telómeros con una consiguiente inestabilidad cromosómica, existe una inactivación de 3 genes supresores de tumores, muy relevantes en la formación del cáncer pancreático: p16/CDN2A, p53 (TP53) y gen número 4 de la familia SMAD (SMAD4/DPC4). Mientras que la inactivación del p16/CDKN2A es detectable en fases precoces de PanIN, la inactivación del TP53 y el SMAD4/DPC4 se asocia con modelos de progresión tumoral (PanIN3 y CP).

El gen p16/CDKN2A/INK4A, presenta una pérdida de función en casi todos los CP, con la pérdida de la función de la proteína p16, provocando una abolición de control del ciclo celular. Además, la mutación hereditaria de este gen, es una de las causas del Síndrome de Melanoma Familiar Atípico

con Molas Múltiples (FAMMM), con aumento de riesgo de padecer melanoma y también aumento de riesgo de CP.

El gen supresor tumoral TP53, codifica la proteína p53 que se encuentra inactivado en el 75-85% de CP, y está involucrada en la regulación de la proliferación celular y de la apoptosis en respuesta al daño celular (59).

El gen SMAD4 está localizado en 18q y se encuentra inactivado en el 60% de los CP. Tiene un papel importante en la señal del TGF- β (*Transforming Growth Factor-beta*) y la disminución de la función conlleva una disminución de la inhibición del crecimiento y por lo tanto, aumenta el crecimiento de las células tumorales.

3.1.4. Relevancia Clínica de las lesiones PanIN

Las lesiones PanIN son lesiones precursoras desde lesión intraepitelial hasta el adenocarcinoma pancreático invasivo. La progresión morfológica va paralela a una acumulación de cambios genéticos. Aunque existe una clara evidencia del papel precursor de estas lesiones, no está clara la actitud a seguir ante la demostración de este tipo de lesiones. Así Distler M. et al. (58) recomiendan ampliar la resección pancreática si en el borde de sección se identifica una lesión PanIN3. A su vez, Konstantinidis et al. (60) tras la valoración retrospectiva de piezas histopatológicas de pancreatectomías, solo el 26% de los pacientes presentan lesiones PanIN y no se objetiva aumento apreciable del riesgo de CP en el remanente.

Por último, Recavarren et al. (61) realizan una correlación de las lesiones PanIN y diferentes datos epidemiológicos y clínicos. Así concluyen que el CP tiene asociado más frecuentemente PanIN de alto grado, siendo la asociación con los de bajo grado mayor en las NIPM y las NQM. Concluye además que la edad es el mayor factor desencadenante para desarrollar PanIN y CP por la relación paralela que existe entre la edad y

eventos epigenéticos e inestabilidad cromosómica. Por último define una relación temporal y espacial entre las lesiones PanIN3 y el CP y sugiere que las lesiones PanIN3 son lesiones precursoras de CP.

3.2. Neoplasias Intraductales Papilares Mucinosas (NIPM)

Las NIPM pertenecen a un grupo heterogéneo de lesiones quísticas con aumento de la incidencia o su diagnóstico en los últimos años, y que fueron inicialmente descritas en 1990. El actual nombre fue establecido por la OMS en el año 2000. Se trata de un tumor del epitelio ductal, con proliferación epitelial papilar y producción de mucina, habiéndose demostrado su papel como precursor de carcinoma invasivo.

3.2.1. Histología e inmunohistoquímica

Morfológicamente se dividen en NIPM del conducto principal o NIPM de ramas secundarias, y cuando afecta a ambos, se le etiqueta como mixto.

Las lesiones con afectación del conducto principal típicamente presentan dilatación del conducto pancreático principal de >6 mm. En cambio, las lesiones de las ramas secundarias no presentan dilatación del conducto pancreático principal pero si una comunicación de la lesión quística con el conducto principal, típicamente definida en la Resonancia Magnética (RM).

Según la OMS, la NIPM se clasifica histológicamente en benigno o adenoma, borderline y malignas no invasivas o invasivas (56,62). Así, mientras el adenoma presenta mínima o nula displasia, el NIPM maligno presenta cambios displásicos severos sin invasión (*in situ*) o con invasión (carcinoma invasivo).

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, se clasifican en 4 subtipos: intestinal, pancreatobiliar, gástrico y oncocítico. Cada subtipo se caracteriza por diferencias inmunohistoquímicas e histológicas que se resumen en la tabla 1 (58).

Tabla 1: Clasificación inmunohistoquímica NIPM con análisis inmunohistoquímico y el carcinoma invasivo originado. Adaptado con permiso para reproducción del trabajo de Distler M. et al. (58).

NIPM (subtipo)	Perfil de expresión	Carcinoma Invasivo
Intestinal (NIPM RP)	MUC5AC ⁺ , MUC2 ⁺ , CDX-2 ⁺ (MUC1 ⁻ , MUC6 ⁻)	Carcinoma coloidal
Pancreatobiliar (NIPM RP)	MUC5AC ⁺ , MUC1 ⁺ (MUC2 ⁻ , MUC6 ^{+/-})	Carcinoma Tubular (ductal)
Gástrico (NIPM RS)	MUC5AC ⁺ , (MUC6 ⁺) (MUC1 ⁻ , MUC2 ⁻)	Carcinoma Tubular (ductal)
Oncocítico (NIPM RP)	MUC5AC ⁺ , MUC6 ⁺ (MUC2 ^{+/-}) (MUC1 ^{+/-})	Carcinoma Oncocítico

NIPM RP: Neoplasia intraductal papilar mucinosa de rama principal. NIPM RS: Neoplasia intraductal papilar mucinosa de rama secundaria.

3.2.2. Patología molecular y cambios genéticos

Tras diferentes estudios se ha llegado a observar que las mutaciones genéticas halladas en la NIPM son similares a las del CP, incluidos KRAS, p16/CDKN2A/INK4A, SMAD 4 y TP53.

Distler M. et al. (58) describen además la presencia de la mutación del complejo GNAS o KRAS en más del 96% de NIPM y más del 50% tienen ambas mutaciones, definiendo la mutación de GNAS como específica de las NIPM.

3.2.3. Relevancia clínica de la NIPM

Las NIPM son lesiones premalignas que suelen surgir del subtipo intestinal (58), siendo el reto actual el distinguir de forma preoperatoria el tipo de lesión quística: neoplasia quística serosa (NQS), NQM, neoplasia sólida pseudopapilar y los pseudoquistes.

Según las series publicadas por Tanaca et al. (63), la media de frecuencia de malignidad en NIPM de conducto principal es del 61,1% (rango 36-100%) y una media de frecuencia de cáncer invasivo del 43,1%, por lo que la indicación de resección quirúrgica está altamente respaldada.

En cuanto a las NIPM de rama secundaria los datos epidemiológicos no son tan rotundos (64). Así, la media de frecuencia de malignidad es del 25,5% (rango 6,3-46,5%) y la media de frecuencia de cáncer invasivo es del 17,7% (rango 1,4-36,7%). Este tipo de lesiones ocurre sobre todo en pacientes añosos, y el riesgo anual de malignización es del 0,41 y 3% según las series (63,64), por lo que se considera que en este tipo de lesiones la actitud debe ser individualizada, teniendo en cuenta la edad y estado general del paciente, así como diferentes criterios de malignización, como son el tamaño de la lesión (mayor o menor de 3 cm), engrosamiento o nódulos de la pared quística, cambios en el conducto pancreático presencia de linfadenopatías de tamaño patológico, ictericia obstructiva o presencia de crecimiento rápido durante el seguimiento.

En pacientes menores de 65 años, dado el riesgo acumulado de malignización, se indica la resección quirúrgica en lesiones quísticas de más de 3 cm, siendo necesario individualizar la actitud con cada paciente según la edad, localización de la lesión y estado general del paciente. Las NIPM de rama secundaria de más de 3 cm sin nódulos en la pared, o citología negativa, puede contemplarse la actitud conservadora, sobre todo en pacientes añosos.

Todos los quistes pequeños con criterios de mal pronóstico deben ser evaluados con ecografía endoscópica para estratificar el riesgo de la lesión.

3.2.4. Características diferenciales de los PanIN y NIPM

Habiéndonos introducido en las características clínicas, histológicas, inmunohistoquímicas y genéticas de ambos tipos de lesiones, existen

abundantes datos que sugieren que PanIN y NIPM representan 2 clases diferenciadas de neoplasias intraductales de páncreas. Así, las características diferenciales entre ambas son (54,56):

- .- La NIPM es una lesión detectable macroscópicamente, y las lesiones PanIN son microscópicas.
- .- Las NIPM tienen tendencia a producir abundantes papilas que no se desarrollan en las PanIN.
- .- Las lesiones NIPM pueden presentar positividad inmunohistoquímica para MUC2. Esta positividad es poco sensible, pero muy específica, ya que no se expresa en las lesiones PanIN.
- .- Cuando se desarrolla el CP a partir de una NIPM, suele presentar carcinoma de tipo coloide, más raro si se desarrolla desde un PanIN, y que se asocia a un pronóstico más favorable que el CP tubular convencional.

3.3. Neoplasias Quísticas Mucinosas (NQM)

Es la lesión precursora menos frecuente (58), con una incidencia de aproximadamente el 23% de todas las tumoraciones quísticas reseçadas en páncreas. Son más frecuentes en mujeres y se localizan más frecuentemente en cuerpo y cola, siendo solitarias y asintomáticas.

Como las NIPM, son lesiones que contienen citología de mucina y alta concentración de CEA. A diferencia de las NIPM no presentan conexión con el ducto pancreático principal ni dilatación del ducto. El pronóstico de pacientes con NQM no invasiva es muy favorable, con una supervivencia a 5 años cercana al 100% y en pacientes con NQM invasivo la supervivencia puede llegar al 60% a los 5 años (65).

3.3.1. Histología e inmunohistoquímica. Cambios genéticos.

Se trata de lesiones quísticas que pueden alcanzar gran tamaño, con superficie plana y pseudocápsula fibrosa de diferente grosor. La presencia de nódulos en la pared son indicativos de malignidad.

Microscópicamente el epitelio se basa en células columnares con diferentes grados de displasia. Así, dependiendo del grado de displasia, la NQM es clasificado en bajo, moderado y alto grado de displasia, y alrededor de un tercio de las NQM presentan transformación maligna, cuando lo hacen evolucionan a CP (64).

Una de las características histológicas de este tipo de lesiones es la presencia de estroma ovárico por debajo del epitelio neoplásico, con expresión de receptores de progesterona y estrógenos (64).

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, las células epiteliales presentan inmunoreactividad positiva para marcadores epiteliales como EMA, CEA y citoqueratina 7,8,18 y 19 y marcadores de mucina MUC5AC y MUC2. MUC1 se expresa en lesiones de alto grado y carcinomas invasivos. En cuanto al punto de vista molecular, no presentan cambios claros durante la progresión, objetivando mutaciones en KRAS, además de mutaciones TP53, p16/CDKN2A/INK4A y SMAD4/DPC4 en displasias de alto grado o carcinoma invasivo (64).

3.3.2. Relevancia Clínica de las NQM.

Aunque el riesgo de malignización de las NQM está en torno al 13%, la cirugía está indicada en cualquier paciente, por la tendencia a presentarse en pacientes más jóvenes que otras lesiones quísticas (58) y suelen localizarse en cuerpo-cola de páncreas, siendo técnicamente más factible. En pacientes añosos y frágiles, la actitud es conservadora, sobre todo si se trata de lesiones menores de 4 cm y sin nódulos parietales (64).

3.3.3. Diagnóstico diferencial de lesiones quísticas pancreáticas

Además de las diferentes características descritas en las diferentes lesiones con capacidad de degeneración maligna, existen otras características que durante la clínica diaria ayudan a hacer el diagnóstico diferencial entre dichas lesiones (Pseudoquistes, neoplasias quísticas serosas, NIPM y NQM). No entraremos a describir más en profundidad estas características ya que no son objetivo de este trabajo.

4. Alteraciones genéticas en el CP

Los estudios genéticos realizados en relación al CP describen una alta complejidad genética, con diferentes alteraciones, tanto en las lesiones con potencial de malignización, como en CP con agregación familiar o CP espontaneo. Ya descritas las alteraciones genéticas actualmente conocidas en las lesiones PanIN como en las NIPM y en las Neoplasias quísticas mucinosas, describimos a continuación las lesiones en el CP ya instaurado.

Se han descrito diferentes genes con diferentes porcentajes de afectación a nivel de CP como son el oncogén K-RAS, los genes supresores p16/CDKN2A/INK4A y ARF, gen de supresión tumoral p53, gen de supresión tumoral y transformación de señal TGF-beta SMAD4/DPC4, supresor tumoral LKB1/STK11, el gen supresor tumoral BRCA-2 (48) o la inactivación de gen supresor de tumor p16/CDKN2A.

Además, existen otras alteraciones genéticas con menor importancia por su frecuencia que citaremos.

4.1.Oncogen K-RAS

El gen K-RAS, localizado en el cromosoma 12, y miembro de

la familia RAS de proteínas ligadas al GTP (Guanosin Trifosfato), media diferentes funciones celulares como la proliferación, diferenciación y supervivencia de la misma. La mutación de activación del K-RAS del codón 12 sustituyendo glicina por aspartato, valina o arginina fue la primera mutación conocida ocurrida de forma esporádica en tejido pancreático normal, y se detecta en alrededor del 30% de neoplasias precoces, con un aumento de hasta el 100% en CP avanzado. Su mutación disminuye la hidrólisis del GTP y hace a la molécula insensible al GAPs (*GTPasa activating protein*), la cual promueve la activación molecular y secundariamente el crecimiento celular.

4.2. Pérdida de la función del gen p16/CDKN2A/INK4A y ARF

El gen p16/CDKN2A/INK4A está localizado en el cromosoma 9p. La pérdida de la función del gen p16/CDKN2A/INK4A ocurre en el 80-95% de CP esporádicos, y cuando su mutación es hereditaria se asocia al síndrome FAMMM (Sd de melanoma familiar atípico con Molas Multiformes) (25,48,59,66). La expresión normal del gen p16/CDKN2A/INK4A es inducida como respuesta al estrés por crecimiento inapropiado (*in vitro*). *In vivo* esta activación se objetiva ante el estrés, edad y señales de crecimiento aberrante además de en erosión de los telómeros (objetivada en lesiones PanIN), activando la función supresora del mismo y provocando un estímulo de senescencia (48). Diferentes estudios, han demostrado la cooperación de la mutación p16/CDKN2A/INK4A con el K-RAS, reforzando así su relevancia en la patogenia del CP. Además la progresión tumoral se acelera cuando se asocia a la mutación o pérdida de función del gen p53.

4.3. Pérdida de función supresora del gen p53

Localizado en el cromosoma 17p, se encuentra inactivado en el 75-85% de los CP, además de asociarse esta mutación a las lesiones PanIN-3 (48,59). Este gen es activado en respuesta a la acumulación de daño genético, lesión telomérica y ROS. La pérdida de la función del p53

favorece el crecimiento y la supervivencia de células portadores de aberraciones cromosómicas (48,59).

4.4. Pérdida de la función supresora del gen SMAD4/DPC4 y de la señal de TGF-beta

El gen SMAD4/DPC4 se encuentra localizado en el cromosoma 18q y se encuentra inactivado en el 60% de los CP además de lesiones PanIN avanzadas (59). Es un gen regulador de la transcripción y es un componente central en la cascada de señal del TGF-beta, y se considera necesario en la progresión tumoral porque su función se pierde en fases avanzadas de PanIN. La pérdida de función del gen SMAD4/DPC4 contribuye a la tumorigénesis, ya que su supresión elimina el bloqueo de la proteína TGF-beta. Al disminuir el bloqueo en dicha proteína se activa la proliferación y transformación de fibroblastos en la transición epitelial-mesenquimal (*epithelial-mesenchymal transition o EMT*), proceso por el cual carcinomas avanzados pierden su diferenciación y adquieren fenotipo de alta agresividad e invasividad. La importancia de esta mutación en el CP radica en el hecho de que el 90% de tumores pierden la función del SMAD4 con la consiguiente activación de la proteína TGF-beta y la activación celular.

Además, el aumento de niveles de TGF-beta, favorecen la EMT de fibroblastos a nivel tumoral, aumentando las características desmoplásicas del tumor y su malignidad (48).

4.5. Mutación del gen supresor LKB1/STK11

El Síndrome de Peutz-Jeghers está relacionado con la mutación autosómica dominante del gen STK11, localizado en el cromosoma 19p (59), con aumento de la frecuencia de la frecuencia del CP de hasta 40 veces (48).

A su vez, la mutación esporádica de este gen ocurre en el 4-6% de CP con alguna evidencia de que la inactivación de este gen ocurre con mayor frecuencia en NIPM.

4.6. Mutación del gen supresor BRCA-2

La mutación de este gen localizado en el cromosoma 13q tiene una relación conocida con el cáncer de mama y ovario (25,48,66,67). A su vez, el 17% de CP tienen agregación familiar por este gen, particularmente común en familias con ascendencia judía Ashkenazi. La pérdida de función del gen BRCA2 produce un acúmulo de aberraciones cromosómicas y la consecuente carcinogénesis (45,66,67).

La pérdida de la función del alelo BRCA2 parece ser un evento tardío restringido a displasias severas de PanIN y CP, por lo tanto se considera que dicha mutación o pérdida de función de este gen promueve la progresión maligna de neoplasias pancreáticas.

4.7. Mutación de los genes PRSS1 y SPINK1 o de pancreatitis familiar

La pancreatitis familiar o también llamada pancreatitis hereditaria, clínicamente se caracteriza por la presencia de episodios de pancreatitis aguda severa recurrente de inicio a edades precoces, desarrollando muchos de los pacientes una PC. Se ha observado que la mutación de los genes PRSS1 y SPINK1 puede ser la causa de las pancreatitis familiares (66).

Epidemiológicamente se ha demostrado un aumento del riesgo mayor del 40% de desarrollar CP durante toda su vida.

4.8. Mutación del Gen PALB2

El gen PALB2 se localiza en el cromosoma p16 y codifica para la proteína transportadora de la proteína BRCA2. Es conocida la relación de

esta mutación con el aumento de riesgo de cáncer de mama, y se ha identificado aproximadamente en el 3% de pacientes con cáncer pancreático familiar (59).

4.9. Mutación del Gen ATM

El gen mutado de la Ataxia-Telangiectasia se encuentra en el cromosoma 11q y codifica para proteínas de la familia quinasa PI3/PI4, y que tienen un papel importante en la respuesta celular al daño en el ADN (Ácido Desoxirribonucleico) (59).

Los pacientes con Ataxia-Telangiectasia tienen un 25% de riesgo vital mayor de desarrollar cáncer de páncreas.

5. Cancer Stem Cells (CSCs)

Una de las teorías que en los últimos años ha cobrado mayor importancia tanto en el desarrollo tumoral como en la falta de respuesta a las terapias actuales es la presencia de *Cancer Stem Cells* (CSC). Este tipo de células presentes y descritas en otro tipo de tumores también se describen en el CP (68,69) y poseen el marcador CD 133+ como una característica que las identifica (68).

Las CSC representan una porción baja dentro de la masa tumoral (70) y se localizan característicamente en lechos de fibrosis asociada y creada por células estrelladas pancreáticas (CEP). Estas CEP son estimuladas para la producción de fibrosis pancreática bien por episodios inflamatorios repetidos (como pancreatitis agudas de repetición y/o PC) o en ambientes hipóxicos, como el creado por las células tumorales. Las CEP una vez migradas al ambiente creado por las células tumorales, reciben el

estímulo directo de las células tumorales pancreáticas para su reproducción así como para la síntesis de matriz fibrosa extracelular (71). A su vez, las CEP en situación de hipoxia, aumentan la producción, entre otros, del VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) (72). El VEGF actúa estimulando directamente las células tumorales, en una interacción de tipo paracrino. Esta interacción, la hipoxia y la formación de fibrosis se relaciona con un aumento de la quimio-resistencia, además de favorecer la progresión tumoral (72). En la figura 3 se representa una simulación de la composición celular en el CP.

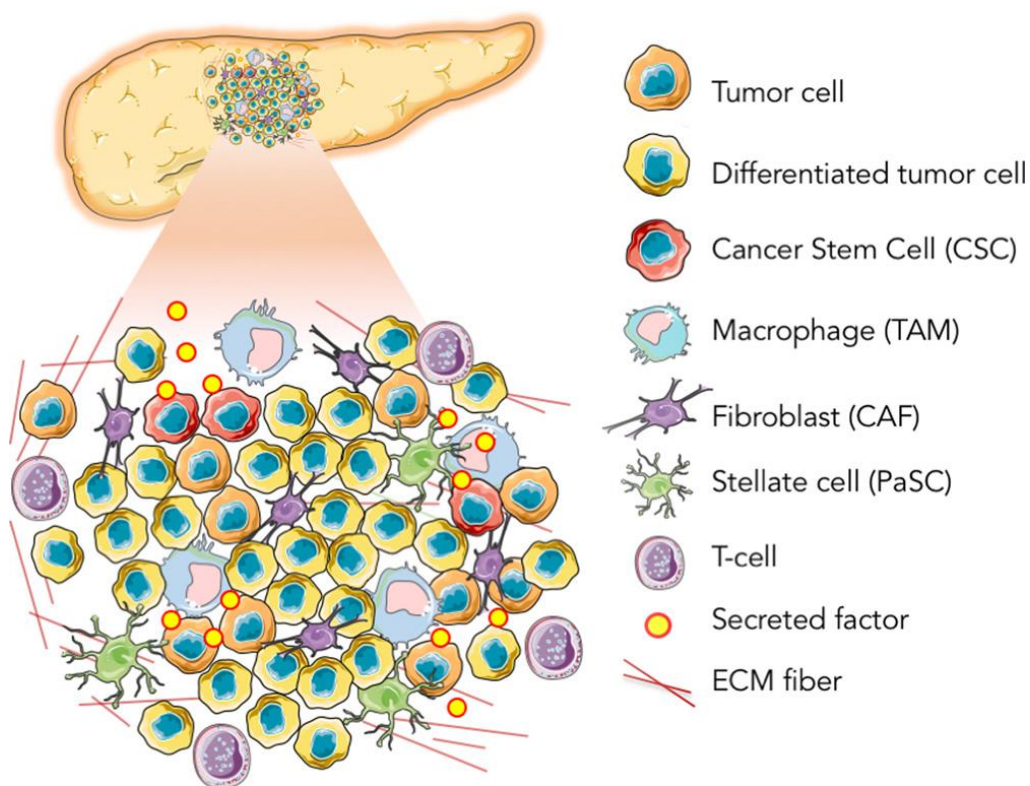


Figura 3 Microambiente tumoral del CP Imagen obtenida de Hermann et al. con permiso del autor (73).

En todo este ambiente y dentro de las células que forman la masa tumoral, se encuentran las CSC. Se trata de un grupo celular caracterizada por (74):

- Son células con capacidad de autorregenerarse
- Son células capaces de generar todos los tipos celulares tumorales de la masa tumoral

- Es la única célula del tumor con capacidad de generar in vitro crecimiento tumoral en recipientes secundarios
- Suelen ser resistente a terapias con fármacos y dosis estándar
- Presentan diferentes marcadores de superficie, como son el CD133+, además de poder expresar CD44+, CD24+ y EpCAM+.

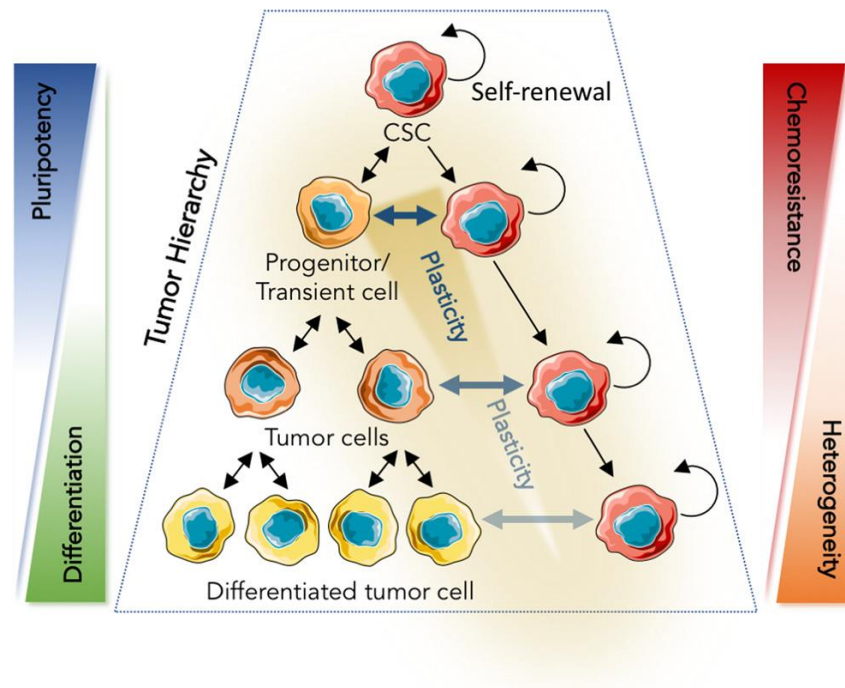


Figura 4: Modelo de cáncer stem cells (CSC). Imagen obtenida de Hermann et al (73) con permiso del autor. En la figura se representa la posibilidad ilimitada de las CSC de división simétrica, produciendo nuevas CSC y de división asimétrica, produciendo diferentes líneas celulares que forman el tumor. La disminución de la pluripotencialidad, de la plasticidad y de la quimiorresistencia se correlaciona con el aumento de diferenciación celular y de la heterogeneidad celular del tumor, siendo las células con mayor pluripotencialidad, mayor plasticidad y mayor quimiorresistencia las CSC.

En relación a la resistencia a la quimioterapia de las CSC, Mueller et al. (75) describe que al tratar el tumor con gemcitabina, existe una reducción de masa tumoral por reducción de células de la masa tumoral negativas para CD133. A su vez, se objetiva la persistencia de células CD 133+, CD 44+ y CD24+, que secundariamente conllevan la persistencia del tumor. Estas células, mediante su capacidad de stem cell (74), pueden generar

nuevas CSC (por división simétrica) o células tumorales CD133- (por división asimétrica), generando nuevamente masa tumoral y recidiva y/o progresión de la enfermedad. Dependiendo del grado de división simétrica o asimétrica, la resistencia a la quimioterapia del tumor recidivado será igual o superior a la presentada por el tumor inicial, contribuyendo a una mayor agresividad del tumor. Esto sugiere que las *Pancreatic CSCs* poseen un papel fundamental en la biología y terapia del cáncer de páncreas.

Por estas razones, el esclarecimiento de los mecanismos que mantienen y regulan el comportamiento y contribución de estas células en CP puede llevar al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas efectivas para esta neoplasia.

6. SOX2

SOX2 (*Sex-determining region Y (SRY)-box2*) es miembro de la familia de los factores de transcripción SOX implicados en el mantenimiento de propiedades de las células stem y restricción de la diferenciación celular.

En particular, SOX2 posee funciones específicas como regulación de las características de células stem durante el desarrollo embrionario (76) y sus niveles de expresión deben estar bien regulados para que se lleve a cabo un desarrollo embrionario normal (77). Experimentos en los que se inhibe la expresión de SOX2 mediante RNA de interferencia, han demostrado que la falta de expresión de este gen conlleva la diferenciación celular a diferentes tipos celulares. SOX2 es uno de los cuatro factores de transcripción junto con KLF4, Oct3/4 y c-Myc que es capaz de inducir la reprogramación de células somáticas humanas en células stem pluripotentes. Además, SOX2 junto con Oct3/4 es suficiente para generar células stem pluripotentes a partir de células de Cordón umbilical humano.

Varios estudios evidencian que SOX2 es un factor presente en células progenitoras o stem-like en páncreas adulto humano (78,79). A pesar de ello, la función que SOX2 podría estar ejerciendo en el CP no se conoce.

Sanada et al. (80) realizaron un análisis mediante inmunohistoquímica en 14 casos de CP y observaron expresión de SOX2 en lesiones PanIN-3 y tumores pobremente diferenciados. Estos datos sugieren que SOX2 podría estar implicado fundamentalmente en la invasión y la metástasis pero no en estadios tempranos de la enfermedad. Sin embargo, estudios adicionales son necesarios para esclarecer la función de SOX2 en CP.

Hipótesis

El Adenocarcinoma de páncreas es un tumor que a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos, tiene un mal pronóstico. Los avances en la cirugía y la aparición de la gemcitabina, junto a la combinación de otros quimioterápicos no han mejorado la expectativa de la enfermedad.

El CP presenta una alta agresividad y resistencia a la quimioterapia que se ha intentado explicar a partir de la teoría de las CSC, ya descritas en otros tumores neurológicos o hematopoyéticos.

La hipótesis de las CSC sugiere que dentro del tumor, existe una población celular distinta con características de CSC, siendo estas células esenciales para el desarrollo y la perpetuación del CP (73). Estas CSC son capaces de autorregenerarse y de generar todos los tipos de células tumorales que contiene la masa tumoral en el CP (81). La generación de los diferentes tipos celulares, se produce por la capacidad de división asimétrica que tienen las CSC, produciendo bien nuevas CSC o bien células tumorales más o menos diferenciadas (división simétrica y asimétrica) (73,81).

Una de las diferentes proteínas que presentan estas células y que las caracterizan, es el factor de transcripción SOX2, responsable, a groso modo, de mantener las propiedades de stem cell y la restricción en la diferenciación cuando está sobreexpresado. La sobreexpresión de SOX2 en las CSC se asocia a un mayor grado de dediferenciación del tumor con un peor pronóstico del CP.

Todo ello nos ha hecho plantear la siguiente hipótesis:

“La supervivencia del cáncer de páncreas a pesar de su nefasto pronóstico ha podido mejorar en los últimos años debido a los avances en la cirugía y tratamiento quimioterápico. La presencia de células positivas para el factor de transcripción SOX2 podría aumentar la dediferenciación tumoral y ser un factor relacionado con la agresividad y mortalidad asociada con el CP”.

Objetivos

Tras el planteamiento de dicha hipótesis, los objetivos que planteamos con el siguiente trabajo son:

- 1.- Describir las características de los pacientes con cáncer de páncreas.
- 2.- Valorar la utilización de las pruebas de imagen en el diagnóstico y estadiaje.
- 3.- Determinar los factores que influyen en la resecabilidad del cáncer de páncreas
- 4.- Estudiar la morbilidad y mortalidad de los pacientes intervenidos
- 5.- Analizar la supervivencia de los pacientes en función de los tratamientos aplicados.
- 6.- Determinar si la expresión de SOX2 está incrementada en el cáncer de páncreas, y en el caso de que estuviera, su influencia en el crecimiento y progresión tumoral, y por lo tanto su relación con el pronóstico del cáncer de páncreas, y el efecto de su inhibición.

Material y métodos

Con la finalidad de conseguir los objetivos descritos, seguiremos el siguiente planteamiento de trabajo:

- .- Estudio de los casos de pacientes diagnosticados y/o tratados en el Hospital Donostia durante 5 años (entre 2010 y 2014)
- .- Estudio in vitro de la función de SOX2 en CSC pancreáticas
- .- Establecer una relación a nivel celular de la presencia de células positivas para SOX2 y su repercusión clínica.

1. Selección de pacientes y diseño del estudio

Para la actualización del estado del CP en nuestro medio, se ha realizado una recogida de datos de pacientes con diagnóstico histológico de adenocarcinoma de páncreas en el Hospital Donostia.

La identificación de los pacientes se ha realizado a través de la base de datos de OsaKliniker, incluyendo como criterios de búsqueda la pancreatectomía no especificada, parcial, radical, proximal, distal, pancreaticoduodenectomía (radical o no, en uno o dos tiempos) y procedimiento de Whipple y total como subgrupo quirúrgico. En este grupo de búsqueda se incluyen como procedimientos los códigos del CIE-9-MC 52.5x, 52.6 y 52.7. Dentro de los pacientes que cumplían los criterios de selección citados, se han rechazado todos los pacientes que no tuvieran el diagnóstico anatomopatológico compatible con CP, bien por biopsia guiada por TC (Tomografía Computerizada), ecografía o ecoendoscopia, bien por biopsia quirúrgica.

Se utiliza como subpatología de criterio de búsqueda “cáncer de páncreas”. En ambos casos se incluyeron pacientes entre los años 2010 y 2014 ambos incluidos (5 años).

Entre los pacientes que cumplen los criterios de selección de diagnóstico de CP, dividimos 2 grupos: Un grupo de pacientes considerados resecables quirúrgicamente y otro grupo de pacientes que cumplen criterios de irresecabilidad

al diagnóstico. Existe otro grupo de pacientes no intervenido por la presencia de comorbilidades que contraindican la cirugía.

Actualmente se clasifica a los pacientes con CP como resecables, irresecables y *borderline* resecables. La valoración de pacientes como *borderline* fue introducida en el protocolo del Hospital Donostia el último año de inclusión de pacientes para este estudio, por lo que no se ha valorado ni su número ni su evolución de forma independiente. En nuestra muestra solo 2 pacientes cumplían criterios tumor *borderline*. Según los diferentes criterios, según el protocolo del Hospital Donostia podemos clasificar los pacientes en diferentes grupos (82):

.- Pacientes inoperables: pacientes con alto riesgo quirúrgico o patología asociada que contraindican la cirugía, como son ASA (*American Society of Anesthesiologists*) (Anexo VII), IV, hepatopatía, enfermedad psiquiátrica grave, enfermedad cardiopulmonar significativa o cualquier otra comorbilidad severa. La edad por sí sola no es una contraindicación absoluta, pero hay que tener en cuenta que la reserva fisiológica de los pacientes mayores de 75 años está disminuida.

.- Pacientes con tumores resecables: Serán todos aquellos que presenten ausencia de enfermedad extrapancreática, no evidencia de afectación de la art. Mesentérica superior, tronco celíaco o Art. Hepática, definida como la presencia de tejido normal en el plano entre el tumor y las arterias. La afectación de la confluencia entre V. mesentérica superior y Vena Porta si la resección y reconstrucción es posible, no es criterio de irresecabilidad.

.- Pacientes con tumores irresecables: Pacientes que presentan alguna de las siguientes características:

- Afectación de más de la mitad ($>180^\circ$) de la circunferencia u oclusión/trombosis de V. mesentérica superior o confluencia de Vena Porta sin que existan posibilidades de reconstrucción.
- Afectación por infiltración local del Tronco venoso de Henle (como límite anatómico inferior de posibilidad de reconstrucción venosa).
- Afectación de Art. Mesentérica Superior, V. Cava Inferior, Art. Aorta, Tronco Celiaco o Art. hepática, definido radiológicamente, como la ausencia de tejido graso normal entre el tumor y el vaso afectado.

- Presencia de metástasis a distancia, bien en órganos a distancia o metástasis peritoneales.
- La afectación de adenopatías interaorto-cavas se considera diseminación metastásica. Por esta razón, se realiza una biopsia intraoperatoria de los ganglios inter-aortocava. Si esta biopsia es informada como positiva para infiltración por adenocarcinoma se considera una diseminación metastásica y se contraindica la cirugía resectiva.

Hemos considerado e incluido en el grupo de pacientes resecados, aquellos pacientes que han terminado siendo sometidos a intervención quirúrgica con resección del CP de páncreas, con la técnica necesaria según la localización del tumor. En cambio, se ha considerado como pacientes del grupo de no resecados todos los paciente a los que no se les ha realizado resección del CP, bien por contraindicación por diseminación tumoral, bien por considerar al paciente inoperable. Además, se incluyen en este grupo todos los pacientes que han sido intervenidos para realizar alguna técnica paliativa de derivación biliar y/o gástrica sin resección del tumor.

La tasa de resecabilidad de la serie se podría definir como la posibilidad de resecar el tumor pancreático una vez iniciada la intervención, sin evidencia macroscópica o microscópica de tumor residual, aceptándose una tasa de resecabilidad superior al 58% (83).

Los pacientes considerados quirúrgicos han sido sometidos a cirugías de resección pancreática bien de cabeza pancreática mediante duodenopancreatectomía cefálica (con resección en bloque de cabeza pancreática, proceso uncinado asociando el duodeno en bloque y antro gástrico, DPC) o bien de cuerpo-cola de páncreas mediante RAMPS (*radical antegrade modular pancreato-splenectomy*) asociando la resección del bazo.

En el grupo de pacientes intervenidos se ha recogido el índice de morbilidad, basándonos en la escala de morbilidad de Clavien Dindo (84). Esta escala, aceptada a nivel mundial para objetivar y clasificar la morbilidad postoperatoria de cirugía abdominal clasifica la morbilidad en 5 niveles, siendo el nivel V el equivalente al fallecimiento del paciente (84).

Tras un diagnóstico de CP irresecable, si el paciente presenta un buen estado general y da su consentimiento, será tratado con quimioterapia sistémica paliativa, según el protocolo de hospital. (82)

Están aceptados en dicho protocolo la gemcitabina en monoterapia, gemcitabina asociada a capecitabina o gemcitabina asociado a oxaliplatino, además del esquema FOLFIRINOX. La gemcitabina ha demostrado aumentar la supervivencia libre de enfermedad, con un aumento discreto de la supervivencia global. Actualmente diferentes ensayos publicados o en marcha tienen como objetivo aclarar la utilidad del esquema Folfirinox como primera opción en tratamiento adyuvante. Aunque parece mejorar la supervivencia, actualmente sigue sin ser aceptado de forma amplia como primera opción dado la alta toxicidad que pueden presentar los pacientes con este esquema.

2. Estudio in vitro de la presencia del SOX2 en CSC pancreáticas

2.1. Inmunohistoquímica

Se realizaron diez microarray tisulares o TMA (*Tissue microarray*) que contenían 349 muestras de pacientes: 140 de ellos no habían recibido tratamiento quimioterápico y 209 habían sido tratados con gemcitabina.

Los cortes parafinados se colocaron en el teñidor automático BOND III (Leica Biosystems, Chicago, IL, USA). Se trataron con la solución Epitope retrieval 2 durante 20 minutos y se tiñeron con el anticuerpo anti-SOX2 (Clon EPR 3131Epitomics) diluido 1: 300 durante 15 minutos. El revelado-detección se realizó con el kit de detección *Polymer Refine* siguiendo las instrucciones del fabricante (Leica Biosystems). El contrateñido se realizó con hematoxilina durante 5 minutos. Las preparaciones se deshidrataron a través lavados con alcoholes de graduación creciente (etanol de 70°, 80°, 90°, 96° y 100°) y posterior inclusión en xilol y montado con medio de montaje.

La lectura de SOX2 en las preparaciones se llevó a cabo por patólogos especializados en patología pancreática quienes clasificaron la preparación como positiva o negativa.

2.2. Cultivo celular

Las líneas celulares Panc0403, BxPC3, CFPAC-1, PaTu8988t, Panc1, Su86.86, HeLa y HPDE se obtuvieron de la ATCC. Panc0403, Panc1, Su86.86, HeLa se mantuvieron en medio RPMI y las BxPC3, CFPAC-1, PaTu8988t en medio DMEM en ambos casos suplementado con Suero Fetal Bobino (FBS). La línea celular HPDE se cultivó en medio para queratinocitos suplementado con extracto pituitario bobino (Life Technologies). Las transfecciones se llevaron a cabo empleando Lipofectamina 2000 (Invitrogen).

La línea celular L3.6 se cultivó en medio DMEM-F12 conteniendo insulina (Gibco), Fracción V de albúmina bobina(Sigma), suplemento N2-Plus (Gibco), B-27 (Gibco), Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) y Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF) (Preprotech) a una densidad de 10^4 células/ml en placas no adherentes (Corning). Se consideraron “Esferas” a los agregados que contenían seis o más células.

2.3. Proliferación celular, ciclo celular y apoptosis

La proliferación celular se midió mediante el ensayo MTS (Promega) y la sincronización celular de las células HeLa se realizó mediante el bloqueo con timidina (pulso doble). El contenido de ADN se analizó y la fracción celular en G0/G1, fase S o G2 se calculó empleando el software ModFit (Verity Software House). La fracción de células apoptóticas se evaluó con Annexina-V-FITC (Becton Dickinson) y Ioduro de propidio, PI (Sigma) con el software FloJo 887 (Treestar).

2.4. Extracción de RNA y PCR a tiempo real

El RNA (Ácido Ribonucleico) celular se extrajo empleando el kit RNeasy Mini Kit (Qiagen) siguiendo el protocolo del fabricante. Para la síntesis de cDNA o Retrotranscripción se empleó el kit superscript de Invitrogen (Life Technologies). La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) a tiempo real (qRT-PCR) se realizó como se describe en el artículo de Zhang et al. (85).

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo por triplicado y para el análisis de resultados se empleó el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Tabla 2. Primer usados para qRT-PCR

Primers	Sequence (5'-3')
CD133-F	GCTCAGACTGGTAAATCCCC
CD133-R	GACTCGTTGCTGGTGAATTG
CD44-F	CGGACACCATGGACAAGTTT
CD44-R	CACGTGGAATACACCTGCAA
ALDH1A1-F	AGCAGGAGTGTTTACCAAAGA
ALDH1A1-R	CCCAGTTCTCTTCCATTTCCAG
ESA-F	CAATGCAGGGTCTAAAAGCTG
ESA-R	CACCCATCTCCTTTATCTCAGC
Sox2-F	TCCCATCACCCACAGCAAATGA
Sox2-R	TTTCTTGTCGGCATCGCGGTTT
RPLPO-F	AGATCCGCATGTCCCTTC
RPLPO-R	CCTTGCGCATCATGGTGTT
p21-F	TGTCACTGTCTTGTAACCCTTG
p21-R	GGCGTTTGGAGTGGTAGAA
p27-F	TCTGAGGACACGCATTTGG
p27-R	TGTTCTGTTGGCTCTTTTGTTT

2.5. Análisis de proteína

Para el análisis de proteína, las células se lisaron utilizando el buffer de lisado (1% Triton X-100, 0.5% deoxicolato sódico, 0.1% duodecil sulfato sódico, 150 mmol/l de NaCl, 50 mmol/l Tris/HCl (pH 7.2), 10 mmol/l EDTA y 10 mmol/l EGTA). Los lisados se fraccionaron por electroforesis vertical en geles de poliacrilamida (SDS/PAGE) al 10% en un Mini-ProteanII (Bio-Rad) y las proteínas se

electrotransfirieron a membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad) durante 80 minutos a un amperaje de 350 mA y se incubaron con el anticuerpo primario α -actin (Sigma), SOX2 (Epitomics), ALDH1, E-Cadherin and p27Kip1 (BD), p21cip1 (Calbiochem), Snail and cyclin D3 (Cell Signaling) durante toda la noche a 4°C en agitación. Tras 3 lavados con TBS–Tween 20 se incubaron con el anticuerpo secundario conjugado con HRP (Horseradish peroxidasa; peroxida de caballo) en una dilución de 1:20000 en 2.5% leche desnatada en TBS–T. La actividad peroxidasa se detectó mediante ECL Super Signal West Pico Chemiluminiscent Substrate (Pierce) por autorradiografía.

2.6. Inmunofluorescencia

Para la inmunofluorescencia de las esferas, en estas se permitió la adherencia en cubreobjetos con poly-L-lisina a 37°C y después fijadas con 4% de formaldehído. Las imágenes se obtuvieron con el microscopio confocal LSM-710 y el objetivo 100x. (Carl Zeiss). Los anticuerpos empleados fueron SOX2 (Epitomics), ALDH1 (BD).

3. Consideraciones éticas

El estudio realizado fue retrospectivo observacional. La realización del estudio no supuso cambio en el manejo clínico ni en el plan terapéutico del paciente, por lo que el estudio no ha supuesto coste económico añadido a la práctica clínica habitual.

El protocolo del estudio y las consideraciones aquí descritas se presentaron al Comité de Ética de Investigaciones Científicas (CEIC) del Hospital Universitario Donostia, que dio su aprobación en noviembre de 2017, habiendo presentado el consentimiento informado a entregar a los pacientes así como la tabla de recogida de datos.

Anexo I: información al paciente.

Anexo II: consentimiento informado

Anexo III: aprobación del CEIC

4. Datos Clínicos

Todos los datos recogidos se extrajeron de la aplicación clínica Osabide Global, estudiando la historia clínica de cada paciente y sin suponer ninguna exploración complementaria ni visita a la consulta excepto las necesarias para el control evolutivo de los pacientes. Todos los datos fueron valorados por 2 investigadores y posteriormente recogidos por un único investigador. Tras la recogida de los datos, se realizó una corrección de los posibles errores en el momento de la introducción de los datos, para el posterior análisis de los mismos.

Las variables que se han valorado durante la recogida de datos han sido las siguientes:

- Variables clínicas: edad al diagnóstico, sexo, fecha de fallecimiento, además de los antecedentes personales como diabetes mellitus, consumo de alcohol y/o tabaco y antecedentes familiares de primer grado de CP. En cuanto al consumo de alcohol, consideramos como a un paciente como bebedor cuando reconoce la ingesta diaria de entre 30 y 40 gramos de alcohol al día (sin diferenciar si se trata de bebidas de baja o alta graduación).

- Variables relacionadas con el CP como son los síntomas al diagnóstico y las exploraciones complementarias realizadas (Ecografía, TC, RM) para llegar al diagnóstico radiológico de sospecha, así como el método para obtener biopsia de la lesión, como la punción directa de lesiones metastásica o la ecoendoscopia digestiva alta. No se ha tenido en cuenta la ecoendoscopia como método diagnóstico de masa pancreática, pero sí como técnica de obtención de biopsia. Dentro de los estudios de imagen, se ha considerado que la exploración realizada (sea Ecografía, TC o RM) ha sido diagnóstica cuando el radiólogo ha informado el hallazgo de lesión neoplásica en páncreas

En los años revisados en este estudio no se ha incluido la Tomografía de Emisión de Positrones (PET-TC) para el estudio bien de sospecha diagnóstica como de extensión de la enfermedad, dada la alta sensibilidad tanto del TC como la RM. Actualmente el diagnóstico radiológico se basa principalmente en el TC (estudio con

3 fases con TC helicoidal multidetector) que presenta una sensibilidad del 100% para tumores mayores de 2 cm, pero solo el 77% en tumores menores de 2 cm (86).

- Variables relacionadas con el propio tumor como son la localización de la lesión (cabeza, proceso uncinado, cuerpo o cola), clasificación histológica y estadio al diagnóstico (Anexo IV).

- No se ha estudiado ningún tipo de alteración analítica como pueden ser el nivel de bilirrubina, enzimas de colestasis o el nivel del marcador Ca 19.9 dada la baja sensibilidad que presentan al diagnóstico.

En cuanto a la clasificación histológica, debemos destacar que se puede diferenciar tanto la línea de diferenciación celular, la naturaleza macroscópica del tumor (sólido o quístico) y el grado de displasia celular (dividiéndolos en bajo, moderado o alto grado).

En este trabajo nos hemos centrado en los tumores de diferenciación celular de tipo ductal infiltrante (adenocarcinomas), utilizándose el término de cáncer de páncreas para las lesiones de adenocarcinoma ductal infiltrante de páncreas.

Macroscópicamente los CP son lesiones sólidas, aunque pueden originarse, como ya se ha descrito previamente, a partir lesiones quísticas o solido-quísticas.

Por último, en cuanto al grado de diferenciación, se clasifican grado 1 (o bien diferenciado), grado 2 (o moderadamente diferenciado) y grado 3 (o pobremente diferenciado). Las diferentes características se describen en la tabla 3 (82).

Tabla 3: Características histológicas según el grado de diferenciación

Grado	Diferenciación Glandular	Producción de Mucina	Mitosis (por 10 campos)	Características del núcleo
Grado 1	Bien Diferenciado	Intensa	5	Poco polimorfismo, polaridad
Grado 2	Estructuras ductales y glándulas tubulares moderadamente diferenciadas	Irregular	6-10	Moderado polimorfismo
Grado 3	Glándulas pobremente diferenciadas y estructuras pleomórficas	Escasa	>10	Grande y con marcado polimorfismo

- Variables relacionadas con el tratamiento recibido por los pacientes, tanto el tratamiento paliativo (tratamiento de la obstrucción biliar o la quimioterapia paliativa) como el tratamiento con intención curativa (basado en la cirugía con tratamiento adyuvante)

- Por último, se han valorado variables relacionadas con los resultados de los tratamientos realizados. Estos resultados se han basado tanto en la supervivencia (tanto en los paciente intervenidos como no intervenidos) o el tiempo de recidiva como en las complicaciones postoperatorias registradas.

El grado de complicaciones postoperatorias se ha basado en la clasificación de Clavien Dindo.

La escala de Clavien Dindo fue descrita en el año 2004 como evolución de una escala inicial del año 1992 que intenta objetivar y estandarizar la gravedad de las complicaciones postoperatorias. Tras su descripción, fue testada en pacientes sometidos a cirugía programada. Esta escala describe los posibles eventos que pueden ocurrir tras la cirugía, incluyéndolos en los diferentes grados de complicaciones (84) (anexo V). Tras su descripción ha sido validada en múltiples trabajos, ampliando su aplicación a diferentes especialidades quirúrgicas,

consiguiendo una estandarización y objetivización de la descripción de las complicaciones quirúrgicas.

En nuestra serie hemos aplicado la escala de Clavien Dindo (84) (Anexo V) en las que se incluye la reintervención y la mortalidad (que son analizadas de forma independiente en el trabajo de Sabater et al.). Según la clasificación de Clavien Dindo, se puede dividir el grado de complicaciones postquirúrgicas en menores (sin complicaciones, o grados I o II) y mayores (IIIa, IIIb, IVa, IVb o V). Analizaremos las complicaciones de nuestra serie, tanto según la escala de Clavien Dindo como por los estándares de calidad establecidos por Sabater et al (83).

Las decisiones terapéuticas relacionadas con los pacientes diagnosticados de CP en el Hospital Donostia se basan en el protocolo de actuación para el manejo del paciente con CP. A su vez, la decisión terapéutica final se termina basándose en la decisión del comité de tumores hepatobiliopancreáticos (82)

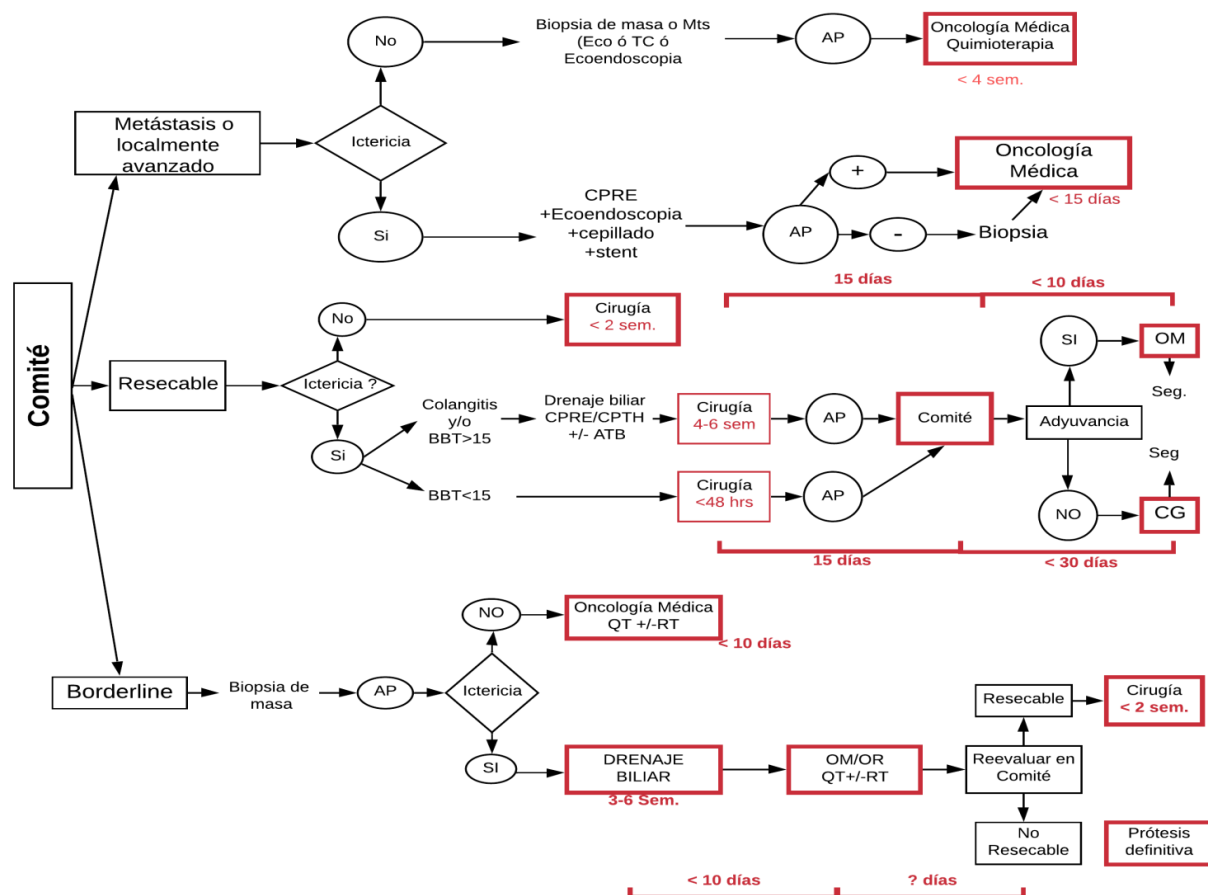


Figura 5: Diagrama de decisión del Comité de Tumores. AP: Anatomía Patológica. CPRE: Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica. BBT: Bilirrubina Total en plasma. CTPH: Colangiografía trans-parieto-hepática. ATB: Antibiótico. OM: Oncología Médica. CG: Cirugía General. Seg: seguimiento. QT: Quimioterapia. RT: Radioterapia. OR: Oncología Radioterápica.

5. Análisis Estadístico

Se realizará un estudio retrospectivo observacional. Las variables cualitativas se expresan como porcentaje y valor absoluto y se comparan con el test de χ^2 . Las variables cuantitativas se expresan como mediana y Rango intercuartílico y se analizan mediante el test de Mann Whitney (se realizará un test de bondad Kolmorov para comprobar la distribución. En caso de normalidad se podría emplear una T de Student, expresando las variables cuantitativas como medias y DS). Los datos sobre supervivencia global, libre de enfermedad y tiempo de progresión se analizan mediante curvas de Kaplan Meyer y se comparan los factores mediante la prueba de log Rank. Las variables con nivel de significación de 0.2 o menores se introducirán en una regresión logística binaria para valorar los factores asociados con el pronóstico.

Se empleará el paquete estadístico SPSS v 23.0 con acceso único para el investigador, sin acceso a red y con datos disociados entre datos identificativos del paciente y los utilizados para el análisis del estudio.

Resultados

1. Características de los pacientes

Se incluyeron en estudio 166 pacientes (Figura 6). El número de pacientes incluidos durante los años del estudio fue estable oscilando entre 2 y 3 al mes.

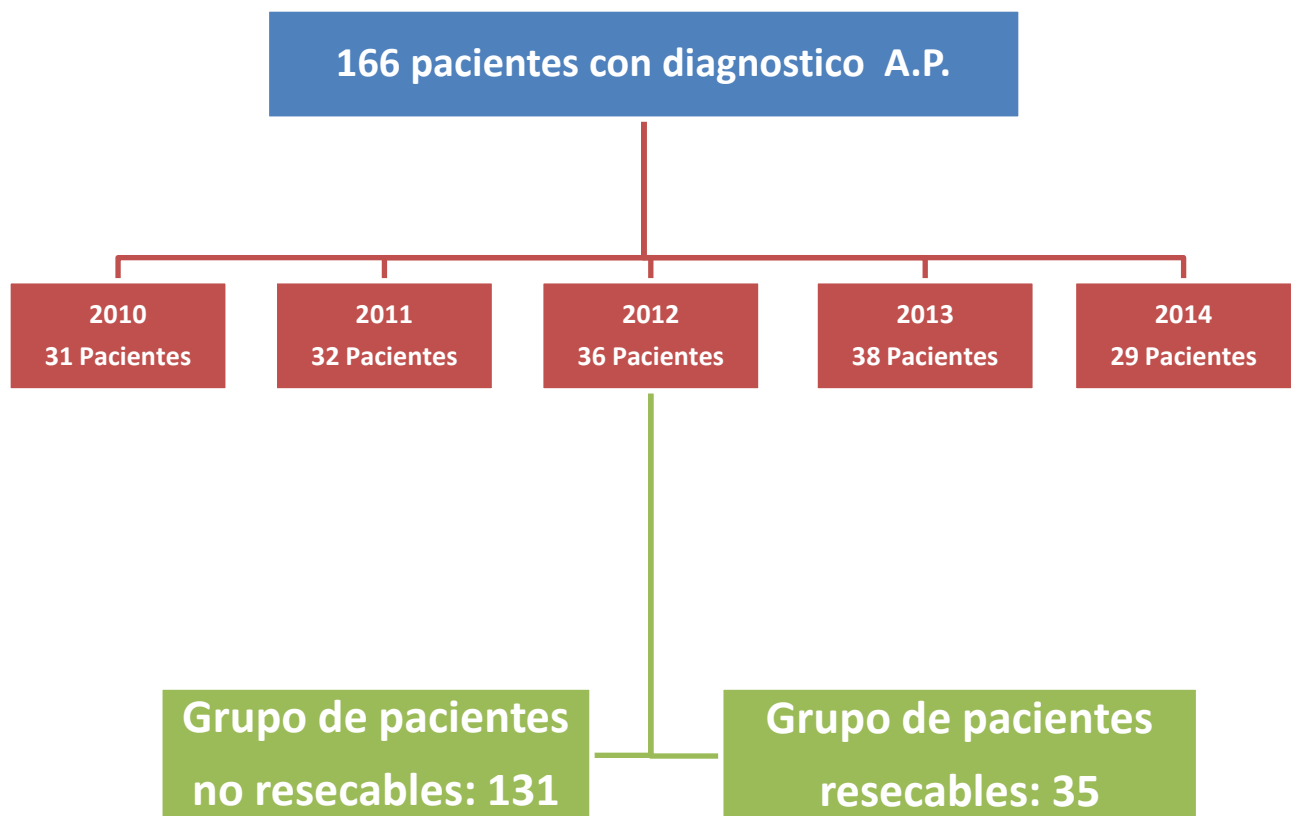


Figura 6. Diagrama de Flujo de descripción de pacientes

La edad media de los pacientes al diagnóstico era de 65,5 años. Entre las características clínicas de los pacientes (Tabla 4) destacaba que el 24,7% (41 pacientes) tenían DM. De ellos el 31% (13 pacientes) cumplían criterios de DM *new-onset* (diagnosticado de DM menos de 36 meses antes del diagnóstico de CP). El 25% (41 pacientes) reconocían el consumo de alcohol y 44,6% (74 pacientes) eran o habían sido fumadores al diagnóstico. Dentro del grupo de los 41 consumidores de alcohol, el 78% (32 pacientes) eran consumidores de tabaco. Sólo el 11,4 % (19 pacientes) tenían antecedentes familiares de CP.

En el 55% de los casos (91 pacientes) localización fue la cabeza del páncreas y proceso uncinado y la clínica de presentación más frecuente fue el dolor abdominal. Un 11% se diagnosticó sin síntomas y fue un hallazgo casual por estudio por otras causas. El 77% se encontraba en estadios avanzados (III o IV). Un 4% (6 pacientes) presentaron síntomas inespecíficos que llevaron al diagnóstico del CP como pesadez, hinchazón, malestar, náuseas o vómitos de repetición.

Tabla 4. Características clínicas de los pacientes

	N° (%) 166
Mediana de edad (r.i.25-75)*	65 (60-71)
Sexo Hombre /mujer	100/66 (60%/40%)
Diabetes Mellitus	41 (25 %)
Diabetes Mellitus New-onset	13 (8 %)
Alcohol	41 (25 %)
Tabaco	74 (45 %)
Antecedentes Familiares	19 (11%)
Primer Síntoma	
Total dolor + S. constitucional	101 (61%)
Dolor	75 (45 %)
Ictericia	41 (25 %)
Síndrome Constitucional	26 (16 %)
Hallazgo Casual	18 (11 %)
Otros	6 (4 %)
Localización	
Cabeza-proceso uncinado	91 (55%)
Cuerpo-cola	75 (45%)
Grado de diferenciación	
Bien-moderado diferenciado	36 (21%)
Mal diferenciado	27 (17%)
No filiado	103 (62%)
Estadio	
Estadio IB	4 (3%)
Estadio IIA	12 (7%)
Estadio IIB	22 (13%)
Estadio III	17 (10%)
Estadio IV	111 (67%)

r.i: Rango intercuartil

En la tabla 5 se relacionan los datos clínicos con el estadiaje de la enfermedad. Se observó como en los estadios avanzados era más frecuente encontrar pacientes con diabetes establecida (29% vs 10%) o de reciente comienzo (29% vs 3%). También se observó como aquellos pacientes que debutaron con ictericia tenían estadios más precoces, 41% de los pacientes con ictericia tenían estadios precoces frente a un 17% de los que debutaron sin ictericia (Tabla 6).

Tabla 5. Características clínicas de los pacientes en función del estadio precoz o avanzado de la enfermedad

	Estadio I-II (%)	Estadio III-IV (%)	p
Sexo			0,679
Hombre	24 (24%)	76 (76%)	
Mujer	14 (21,2%)	52 (78,8%)	
Alcohol			0,553
No Bebedor	30 (24%)	95 (76%)	
Bebedor	8 (19,6%)	33 (80,4)	
Tabaco			0,444
No Fumador	19 (20,7%)	73 (79,3%)	
Fumador	19 (25,7%)	55 (74,3%)	
Diabetes Mellitus			0,021
No	34 (27,2%)	91 (72,8%)	
Si	4 (9,7%)	37 (90,3%)	
DM. New Onset			0,174
No	37 (24,1%)	116 (75,9%)	
Si	1 (7,7%)	12 (92,3%)	
Antecedentes Familiares			0,839
No	34 (23,1%)	113 (76,9%)	
Si	4 (21,1%)	15 (78,9%)	

DM.: Diabetes Mellitus

Tabla 6: Estadiaje al diagnóstico de ictericia

	Estadio I-II	Estadio III-IV	
Ictericia (%)	17 (41 %)	24 (59 %)	41
No Ictericia (%)	21 (17 %)	104 (83%)	125

2. Diagnóstico radiológico

La ecografía abdominal se realizó en el 47% de los casos (86 pacientes). Solo fueron diagnósticas de CP el 55% (47 pacientes). La sensibilidad fue del 59%. En la tabla 7 se exponen los diagnósticos de CP por la ecografía en función del estadio tumoral. Cuando los estadios fueron avanzados la ecografía permitió diagnosticar el tumor con más facilidad. Así, diagnosticó el 57% de los tumores cuando estaban en estadio III/IV y un 48% de los tumores cuando se encontraban en estadios I/II.

Tabla 7: Resultados ecográficos diagnósticos según estadio

	Estadios I-II (%)	Estadios III-IV (%)
Ecografía Diagnostica	12 (48%)	35 (57%)
Ecografía No Diagnóstica	13 (52%)	26 (43%)

La TC abdominal es la exploración radiológica que se realizó con más frecuencia. Se realizó en el 95% de los casos (158 de los 166 pacientes). De todas las TC realizadas, solo en el 5% de ellos (8 pacientes) no hubo un diagnóstico radiológico de tumor de páncreas. Estos datos reflejan una sensibilidad de la técnica del 95%.

Por último, la RM se realizó en el 35% de los casos (58 pacientes). La RM se llevó a cabo como prueba diagnóstica inicial en 3 pacientes. En nuestra serie de las 58 exploraciones realizadas, 90% (52 pacientes) fueron diagnósticas de tumoración en el páncreas, solo en el 10% (6 exploraciones) no fueron diagnósticas, con una sensibilidad del 90%.

3. Diagnóstico histológico

En nuestra serie, además de los 35 pacientes sometidos a intervención quirúrgica resectiva, 47 pacientes fueron diagnosticados por citología o *tru-cut* obtenida por ecografía de metástasis y en 45 por citología obtenida por ecoendoscopia de la lesión primaria en páncreas. Dentro de los pacientes con biopsia dirigida por ecoendoscopia, el 73% presentaban la lesión a nivel de cabeza pancreática o proceso uncinado.

Otras técnicas que se utilizaron para conseguir una muestra diagnóstica fueron (en orden de frecuencia) la biopsia quirúrgica, citología pancreática, biopsia duodenal endoscópica, citología de líquido peritoneal o citología de colédoco.

La diferenciación histológica no se pudo definir en el 62% de los casos (103 pacientes).

Tabla 8: Grado de diferenciación del CP de la serie

	Frecuencia	Porcentaje
Diferenciación no definida	103	62%
ADC indiferenciado	27	17%
ADC moderadamente diferenciado	24	14%
ADC bien diferenciado	12	7%

ADC: Adenocarcinoma

4. Estadiaje del CP al diagnóstico

Inicialmente cabe destacar que no hay ningún paciente en nuestra serie que cumpla criterios para clasificarlo en el estadio IA (tumor limitado al páncreas menor o igual a 2 cm, y sin diseminación ganglionar o a distancia) y solo 4 en estadio IB (tumores mayores de 2 cm limitados al páncreas, sin diseminación ganglionar o a distancia).

La gran mayoría de pacientes en el momento del diagnóstico presentaban un estadio que ya se considera irresecable, incluyendo como estadio III un 10% (afectación de tronco celíaco o arteria mesentérica superior con afectación ganglionar) o como estadio IV un 67% (pacientes que presentan metástasis al diagnóstico) (Tabla 9).

Tabla 9: Estadios por grupos de pacientes

	No Intervenidos (%) n = 131	Intervenidos (%) n = 35
Estadio		
Estadio IB	2 (1,5%)	2 (5,7 %)
Estadio IIA	1 (0,8%)	11 (31,4%)
Estadio IIB	3 (2,3%)	19 (54,3%)
Estadio III	17(13%)	0 (0%)
Estadio IV	108 (82,4%)	3 (8,6%)

5. Tratamiento del Cáncer de Páncreas

5.1. Características clínicas de las 2 muestras de pacientes

De los 166 pacientes solo pudieron ser intervenidos el 21% (35 pacientes) (Tabla 10).

No todos los pacientes con estadios considerados “resecables” fueron intervenidos. Dos pacientes con estadio IB no fueron intervenidos por presentar comorbilidad importante o edad avanzada (mayor de 80 años). Otro paciente con estadio IIA no fue intervenido por su edad y la comorbilidad asociada.

En el grupo del estadio IIB, se han incluido 22 pacientes de la muestra, de los cuales, a pesar de ser un estadio resecable, 3 no fueron intervenidos por la comorbilidad asociada que contraindicaba la cirugía.

En cuanto a los estadios no resecables, ningún paciente con estadio III fue intervenido, pero si 3 pacientes en estadio IV. Estos 3 pacientes se intervinieron fuera de protocolo, por lo que pasamos a describir cada caso de forma independiente. El primero de ellos presentaba una neoplasia de cola pancreática con afectación de órganos vecinos y con clínica, y a pesar del estadio, se decidió realizar una cirugía paliativa para control de los síntomas. El segundo fue sometido a una DPC con biopsia de adenopatías interaortocava intraoperatoria negativas. El resultado del estudio patológico definitivo de las adenopatías interaortocavas fue positivo, por lo que pasó a catalogarse como estadio IV. El tercer y último caso también fue sometido a una DPC y las biopsias de las adenopatías interaortocavas fueron positivas decidiéndose continuar con la intervención dada la edad (62 años en el momento de la intervención) y excelente estado general del paciente.

Cuando se analiza si las características clínicas de los pacientes se relacionan con la realización o no de cirugía observamos como la diabetes mellitus solo estuvo presente en el 9% de los intervenidos frente a un 29% de los no intervenidos. De los 13 pacientes que cumplen criterios diagnósticos de reciente comienzo (*DM new onset*), solo el 8% (1 paciente) pudo ser intervenido.

El porcentaje de pacientes que fueron intervenidos fue diferente según la localización. Así, de los 35 pacientes que han sido intervenidos, el 74% (26 pacientes) tenían localizado el CP en la cabeza- proceso uncinado. Solo el 26% de los pacientes intervenidos (9 pacientes) presentaron un CP resecable en la región de cuerpo-cola. Los pacientes con tumores en la cola – cuerpo de páncreas se intervinieron con menos frecuencia (12%; 9/75) que los localizados en cabeza y proceso uncinado 29% (26/91).

Tabla 10: Características clínicas de los pacientes en función de su pertenencia al grupo de no intervenidos o intervenidos.

	No Intervenidos (%) n = 131	Intervenidos (%) n = 35	p
Mediana de edad (r.i.25-75)*	65 (60-72)	66 (61-70)	
Sexo Hombre /mujer	79/52 (60/40%)	21/14 (60/40%)	0,974
Diabetes Mellitus	38 (29 %)	3 (9 %)	0,013
Diabetes Mellitus New-onset	12 (9 %)	1 (3 %)	0,218
Alcohol	34 (26 %)	7 (20 %)	0,468
Tabaco	56 (43 %)	18 (51%)	0,359
Antecedentes Familiares	14(11%)	5 (14 %)	0,552
Primer Síntoma			
Hallazgo Casual	11 (62 %)	7 (38%)	
Ictericia	24 (59 %)	17 (41 %)	
Dolor	66 (88 %)	9 (12 %)	0,000
Síndrome Constitucional	24 (92 %)	2 (8 %)	0,000
Total dolor + s. constitucional	90 (89%)	11 (11%)	
Otros síntomas	6 (100 %)	0	

r.i.: Rango intercuartil

En la tabla 11 se expone el grado de resecabilidad del CP en función de la ictericia al diagnóstico. Así el 42% (17/40) de las lesiones de cabeza pancreática y proceso uncinado que debutaron con ictericia pudieron ser intervenidos. Sólo 1 caso con ictericia se localizó en cuerpo y cola de páncreas y estaba fuera de indicación quirúrgica.

Tabla 11: Localización del CP y frecuencia de ictericia

	Debut con Ictericia	Intervenidos	No Intervenidos
Cabeza (%)	29	12 (41%)	17 (59%)
Proceso Uncinado (%)	11	5 (45%)	6 (55%)
Cuerpo	1	0	1 (100%)
Total	41	17	24

Cuando los pacientes presentaban dolor al diagnóstico la tasa de resecabilidad bajo del 28% al 12% siendo estadísticamente significativo ($p < 0,001$) (Tabla12)

Tabla 12: Frecuencia de debut clínico con dolor y resecabilidad del CP

	Dolor al diagnóstico (%)	No dolor al diagnóstico (%)
Resecables	9 (12 %)	26 (28 %)
No Resecables	66 (88 %)	65 (72 %)
	75 (100%)	91 (100%)

Lo mismo ocurrió cuando los pacientes presentaban síndrome constitucional. El 16% de los casos (26 pacientes) debutaron o refirieron síndrome constitucional al diagnóstico, de los cuales solo 2 pudieron ser intervenidos, siendo la diferencia estadísticamente significativa.

En la tabla 13 representamos la sintomatología al diagnóstico por estadio de la enfermedad. La sintomatología de debut varía según el estadio. Así, en los estadios precoces o resecables predominan los síntomas como la ictericia o el hallazgo casual. A mayor estadio al diagnóstico, aumenta la frecuencia de síntomas como el dolor o el síndrome constitucional.

Tabla 13: Clínica al diagnóstico por estadios

	Estadio IB (%)	Estadio IIA (%)	Estadio IIB (%)	Estadio III (%)	Estadio IV (%)	Total
Primer Síntoma						
Hallazgo casual	2 (50%)	2 (16%)	4 (18%)	0	10 (9%)	18
Ictericia	2 (50%)	5 (42%)	10 (45%)	4 (23%)	20 (18%)	41
Dolor	0	5 (42%)	6 (27%)	8 (46%)	56 (50%)	75
S. constitucional	0	0	1 (5%)	2 (11%)	23 (21%)	26
Otros	0	0	1 (5%)	3 (18 %)	2 (2%)	6
Total	4	12	22	17	111	166

Cuando nos guiamos por las técnicas diagnósticas, la ecografía abdominal es diagnóstica con mayor frecuencia en pacientes que están fuera de indicación quirúrgica. La TC y la RM presenta una mayor sensibilidad diagnóstica (98 y 88 % respectivamente), aportando información de la localización, tamaño y afectación de estructuras vecinas y/o diseminación a distancia (sobre todo la TC).

Tabla 14: Resultados de estudios diagnósticos en pacientes intervenidos y no intervenidos

	No Intervenidos (%) n = 131	Intervenidos (%) n = 35	p
Ecografía Abdominal	63	23	0,071
Diagnóstica	37 (79 %)	10 (21 %)	
No Diagnóstica	26 (67 %)	13 (33 %)	
TC abdominal	125	33	0,002
Diagnóstica	122 (82 %)	27 (18 %)	
No Diagnóstica	3 (33 %)	6 (67 %)	
RM	34	24	0,000
Diagnóstica	30 (56%)	22 (42%)	
No Diagnóstica	4(67%)	2 (33%)	

La causa de no realizar la cirugía de resección del tumor primario fue en primer lugar la presencia de metástasis a distancia al diagnóstico en más de la mitad de los casos, 63% (83/131) (Tabla15).

Tabla 15: Causas de irresecabilidad

Causas de Irresecabilidad	Frecuencia (%)
Metástasis a distancia	62 (50%)
Irresecabilidad local	23 (19%)
Diseminación peritoneal	15 (12%)
Irresecabilidad local+carcinomatosis+mts	8 (7%)
Metástasis + irresecabilidad local	7 (6%)
Metástasis + carcinomatosis	6 (5%)
Irresecabilidad local+carcinomatosis	2 (2%)
Progresión	1 (1%)

En relación con el grado de diferenciación del tumor y el porcentaje de intervención, se observó cómo entre los que pudieron ser intervenidos, un 18% de los tumores fueron mal diferenciados. En cambio el 83% de los pacientes intervenidos presentaban CP bien o moderadamente diferenciados (Tabla 16).

Tabla 16: Porcentaje de resecabilidad según el grado de diferenciación

	CP bien o moderadamente Diferenciado (%)	CP Indiferenciado (%)
Intervenidos	30 (83%)	5 (18%)
No Intervenidos	6 (17%)	22 (82%)
Total	36	27

5.2. Características de la muestra de pacientes intervenidos

En nuestra serie 43 pacientes fueron intervenidos, de los cuales el 81% (35 pacientes) fueron resecables y el 19% (8 pacientes) presentaron hallazgos en la intervención que condicionaban una irresecabilidad. De los 35 casos intervenidos el 68% (24 pacientes) han sido sometidos a una duodenopancreatectomía cefálica (DPC) por presentar lesiones a nivel de cabeza o proceso uncinado, asociando a este grupo 2 pacientes que fueron sometidos a duodenopancreatectomía total. En cambio solo el 26% (9 pacientes) han presentado lesión resecable a nivel de cuerpo o cola. En este grupo de pacientes con lesiones en cuerpo-cola, se indicó la pancreatectomía corporocaudal con esplenectomía, asociando linfadenectomía de los ganglios de la arteria esplénica, técnica conocida como RAMPS (*Radical Antegrade Modular Pancreatic-Splenectomy*).

De 35 pacientes intervenidos, se decidió el drenaje biliar preoperatorio en 8 pacientes, dado el nivel alto de bilirrubina. A siete de ellos se les realizó un drenaje de la vía biliar por vía endoscópica. En un paciente se drenó la vía biliar en radiología por punción percutánea con drenaje biliar interno-externo por fracaso de la vía endoscópica. Los 27 pacientes restantes fueron intervenidos sin ninguna maniobra sobre la vía biliar de forma preoperatoria.

Hemos analizado la estancia media de los pacientes intervenidos en nuestro centro, tanto de forma global con las 3 técnicas realizadas. La estancia media global de los 35 pacientes intervenidos de CP fue de 15 días; 21.9 días para los que se realizó una DPC, 12.4 días en los pacientes que se realizó una cirugía pancreatectomía corporocaudal y 19.5 días en los pacientes en los que se realizó una pancreatectomía total.

Ocho pacientes fueron intervenidos pero se consideraron irresecables durante la cirugía por presentar diseminación peritoneal o metastásica o positividad en ganglios interaorto-cava. Todos ellos se localizaban en la cabeza de páncreas y se realizó una derivación quirúrgica de la vía biliar.

En total requirieron drenaje de la vía biliar 57 pacientes, 2 pacientes diagnosticados de CP en cola de páncreas y otros 2 en el cuerpo del páncreas. En cuanto al resto, en 37 pacientes, el tumor estaba localizado en la cabeza del páncreas y en 16 en proceso uncinado. El tipo de drenaje biliar se expone en la tabla 17. De los 57 pacientes no intervenidos que requirieron drenaje de la vía biliar, 37 de ellos fueron por vía endoscópica, asociada en 2 de ellos a la colocación de stent duodenal. En 12 pacientes no fue técnicamente posible el drenaje biliar endoscópico, por lo que se realizó un drenaje externo guiado por ecografía.

Tabla 17: Frecuencias de utilización de técnicas paliativas.

	Frecuencia (%)
Ninguna	74 (56%)
Stent biliar endoscópico	35 (27%)
Drenaje interno-externo	12 (9%)
Derivación quirúrgica	8 (6%)
Stent biliar+duodenal	2 (2%)

5.3. Complicaciones quirúrgicas

Entre todos los pacientes que fueron sometidos a intervención quirúrgica por CP no se registró ningún fallecimiento. El 89% (31/35) de los pacientes tuvo algún tipo de complicación. De los 31 pacientes con complicaciones, el 51% (18 pacientes) fueron leves según la clasificación de Clavien Dindo (I o II) y el 37% (13 pacientes) graves (Clavien Dindo III o IV). En la tabla 18 se describen las complicaciones según el tipo de cirugía y la clasificación de Clavien Dindo.

Tabla 18: Tabla Cruzada de morbilidad, según escala Clavien Dindo, e intervención quirúrgica

Clavien-Dindo	Técnica quirúrgica						Total
	DPC	Porcentaje	CC	Porcentaje	PT	Porcentaje	
		DPC		CC		PT	
I	4	16,7	4	44,5	0	0	8
II	7	29,2	3	33,3	0	0	10
IIIa	2	8,3	0	0	1	50	3
IIIb	3	12,5	1	11,1	0	0	4
IVa	2	8,3	0	0	0	0	2
IVb	4	16,7	0	0	0	0	4
No complicaciones	2	8,3	1	11,1	1	50	4
Total	24	100	9	100	2	100	35

DPC: Duodenopancreatectomía cefálica. CC: Pancreatectomía Corporo-caudal. PT: Pancreatectomía Total.

De los 35 pacientes intervenidos por CP, se reintervinieron a un 29% de los casos (10 pacientes). En la tabla se exponen las frecuencias de reintervención en función del tipo de cirugía (tabla 19).

Tabla 19: Número de reintervenciones según la técnica quirúrgica

Intervenciones	Reintervenidos (%)	No reintervenidos (%)
DPC	9 (26%)	15 (43%)
Corporocaudal	1 (3%)	8 (23%)
PT	0	2 (6%)
Total	10 (29%)	25 (71%)

DPC: Duodenopancreatectomía Cefálica. PT: Pancreatectomía Total.

Dos pacientes presentaron como causa de reintervención un hemoperitoneo. Uno de ellos fue reintervenido por inestabilidad hemodinámica por hemorragia, y otro presentó un sangrado que se organizó como hematoma y posteriormente se sobreinfectó obligando a la reintervención del paciente.

Otras complicaciones que obligaron a reintervención fueron en un paciente un coleperitoneo por fuga anastomótica de la anastomosis biliar, otro paciente con un infarto y posterior abscesificación de los segmentos II-III hepáticos y otro paciente con una sobreinfección de la ascitis que había desarrollado en el postoperatorio.

Dentro de las complicaciones mayores (Clavien Dindo III-IV) 4 pacientes presentaron una fístula pancreática que evolucionó a shock séptico que obligó a la reintervención. Los 4 pacientes habían sido sometidos a una DPC.

5.6. Tratamiento quimioterápico adyuvante

Recibieron quimioterapia adyuvante 91% (32 pacientes) de los 35 pacientes intervenidos. En la tabla 20 se exponen los diferentes esquemas administrados. En 6 pacientes se asoció radioterapia en la adyuvancia.

De los 3 pacientes que fueron descartados para la cirugía por edad mayor de 80 años, 2 de ellos recibieron quimioterapia paliativa con gemcitabina.

Tabla 20: Esquemas de quimioterapia utilizados en adyuvancia

Esquema quimioterápico	Frecuencia	Porcentaje
Gemcitabina	23	65,7
Gemcitabina+RT	6	17,1
Gemcitabina+cisplatino	1	2,9
Gemcitabina+capecitabina+erlotib	1	2,9
Gemox	1	2,9
No adyuvancia	3	8,6
Total	35	100

Gemox: gemcitabina+oxaliplatino. RT: Radioterapia

5.7. Tratamiento quimioterápico paliativo

Entre los pacientes no intervenidos (131) el 20,6% (27 pacientes) no recibieron tratamiento quimioterápico sistémico paliativo. La supervivencia media en este grupo fue de 1,2 meses.

Entre los pacientes no intervenidos hubo diferentes esquemas de quimioterapia (Tabla 21). El tratamiento más habitual (en el 50% de los casos, 65 pacientes) fue gemcitabina en monoterapia con una supervivencia media y mediana de 8,1 y 5 meses respectivamente. El grupo con mayor supervivencia fue el de los 4 pacientes tratados con gemcitabina y capecitabina oral (*Xeloda*) con una supervivencia media y mediana de 18,7 y 6 meses respectivamente.

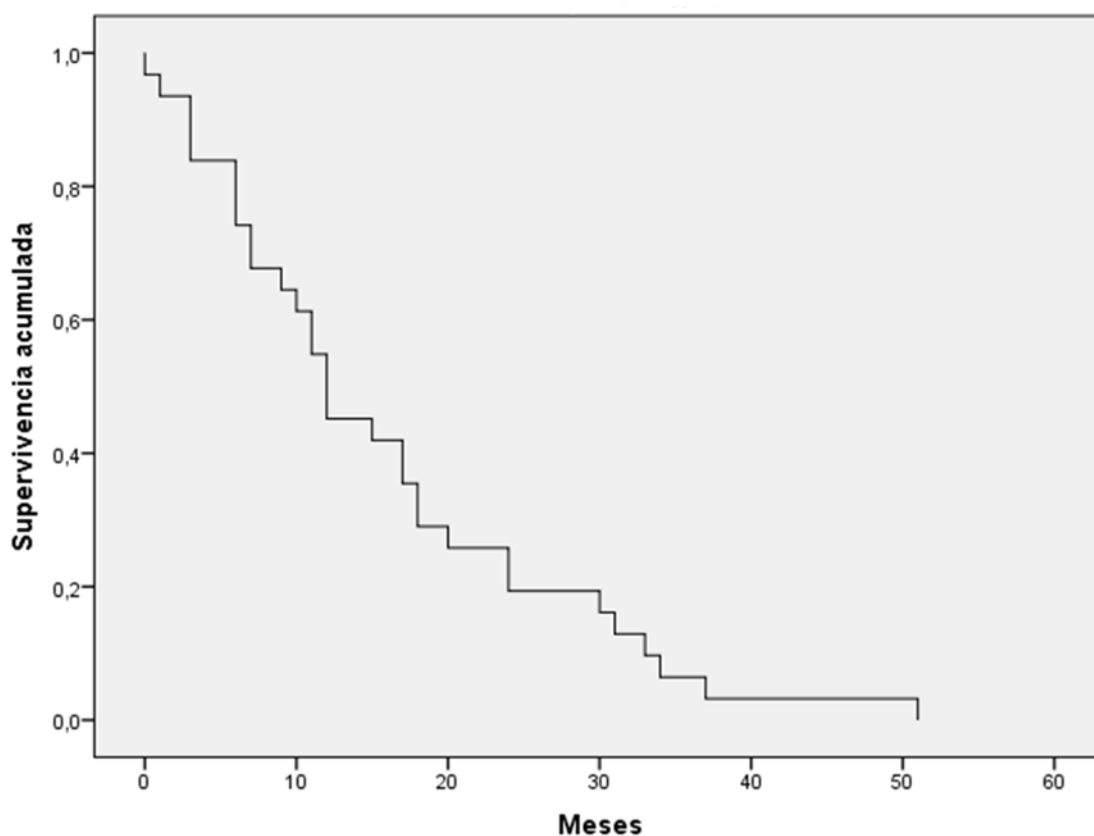
Tabla 21: Supervivencia media en meses en pacientes no intervenidos según el tratamiento quimioterápico

Tipo de quimioterapia (Nº pacientes)	Supervivencia media en meses
No tratamiento (27)	1,2
Gemcitabina (65)	8,1
Gemox (26)	7,7
GECA (1)	9
Folfirinox (7)	7
Gemcitabina+xeloda (4)	18,7
Gemcitabina+erlotinib (1)	5

GECA: Ensayo clínico GECA: Gemcitabina, Xeloda, Erlotinib.

5.8. Supervivencia libre de enfermedad

En todos los pacientes que no fueron intervenidos la enfermedad progresó. Entre los intervenidos, la media de la supervivencia libre de enfermedad postoperatoria está en 15,4 meses (IC 95% 11,19-19,64) y una mediana de 12 meses. Dentro de este grupo, 4 pacientes presentaron una supervivencia superior a 5 años, 3 pacientes sometidos a DPC y 1 paciente sometido a pancreatectomía corporocaudal (figura 7). Dado el bajo número de la serie de pacientes intervenidos, no pudieron extraerse conclusiones para poder relacionar el estadio de los pacientes intervenidos y la supervivencia libre de enfermedad.



Nº en riesgo 35 20 8 5 4 4 4

Figura 7: Curva de Kaplan Meyer de supervivencia libre de enfermedad entre los pacientes intervenidos

El grado de diferenciación tumoral presentó una diferencia en cuanto al pronóstico en el grupo de pacientes intervenidos. La mediana de supervivencia libre de enfermedad varió de 9 meses en los tumores indiferenciados a 17 meses en los diferenciados, sin obtener diferencias estadísticamente significativas (Figura 22).

Tabla 22: Media para el tiempo de supervivencia libre de enfermedad según la A. Patológica.

A. Patológica	Estimación (meses)	I.C. 95%
CP indiferenciado	12,2	0,4 - 24
CP moderadamente diferenciado	13,5	9,4 - 17,5
CP bien diferenciado	22,0	11,5 – 32,5
Global	15,7	11,4 – 20,0

I.C.:Intervalo de Confianza

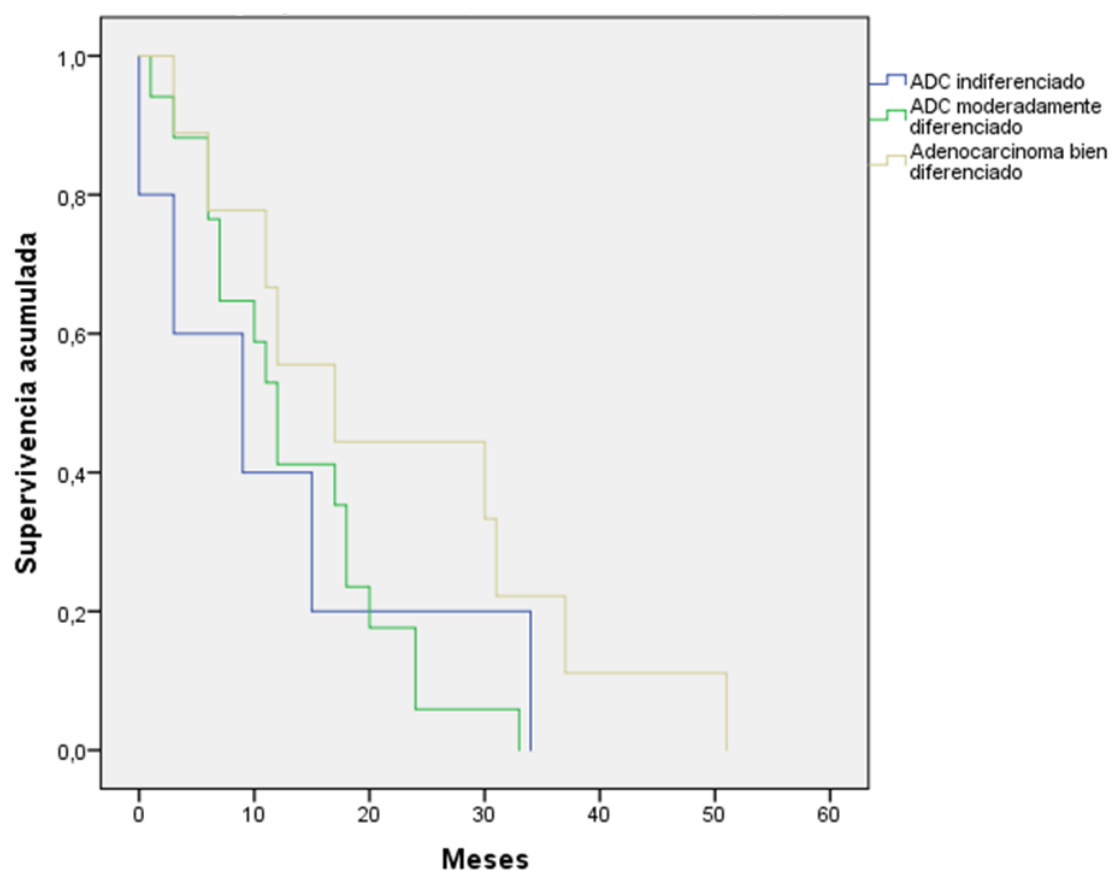


Figura 8: Curva de Kaplan Meyer de supervivencia libre de enfermedad según el grado de diferenciación tumoral

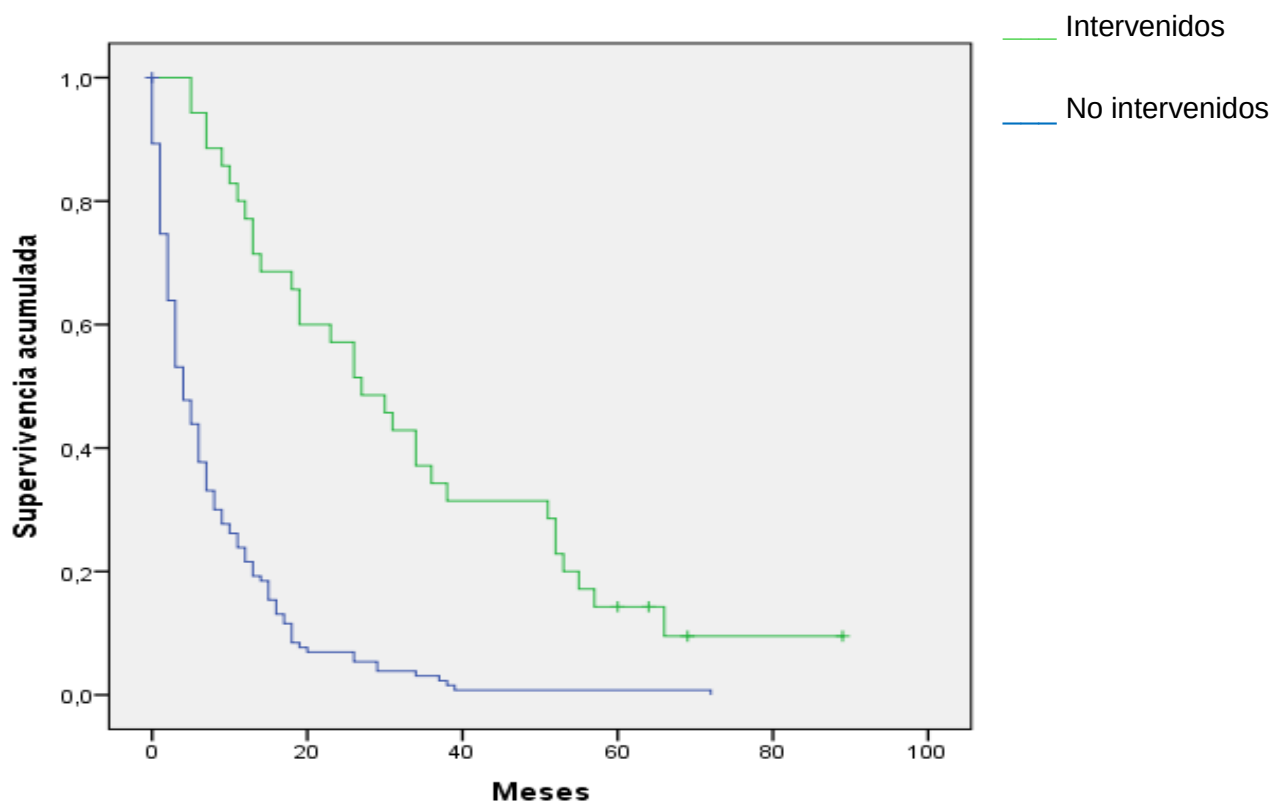
5.9. Supervivencia

La supervivencia media global de la serie de 166 pacientes fue de 13,3 meses que representamos en la tabla 23 y la figura 9. La supervivencia a 1, 3 y 5 años fue de 36%, 10% y 2,4% respectivamente.

Cuando analizamos los grupos por separado, observamos una supervivencia media en el grupo de los no intervenidos de 7,8 meses frente a 34,1 meses ($p < 0,001$). Solo 4 pacientes están vivos tras más de 5 años de seguimiento.

Tabla 23: Medias e Intervalos de confianza (I.C.) de la supervivencia en pacientes no intervenidos e intervenidos

Grupo de pacientes	Media (meses)	I.C. 95%
No intervenidos	7,8	6,0 - 9,5
Intervenidos	34,1	25,7 – 42,4
Global	13,30	10,6 – 16,0



Nº en riesgo

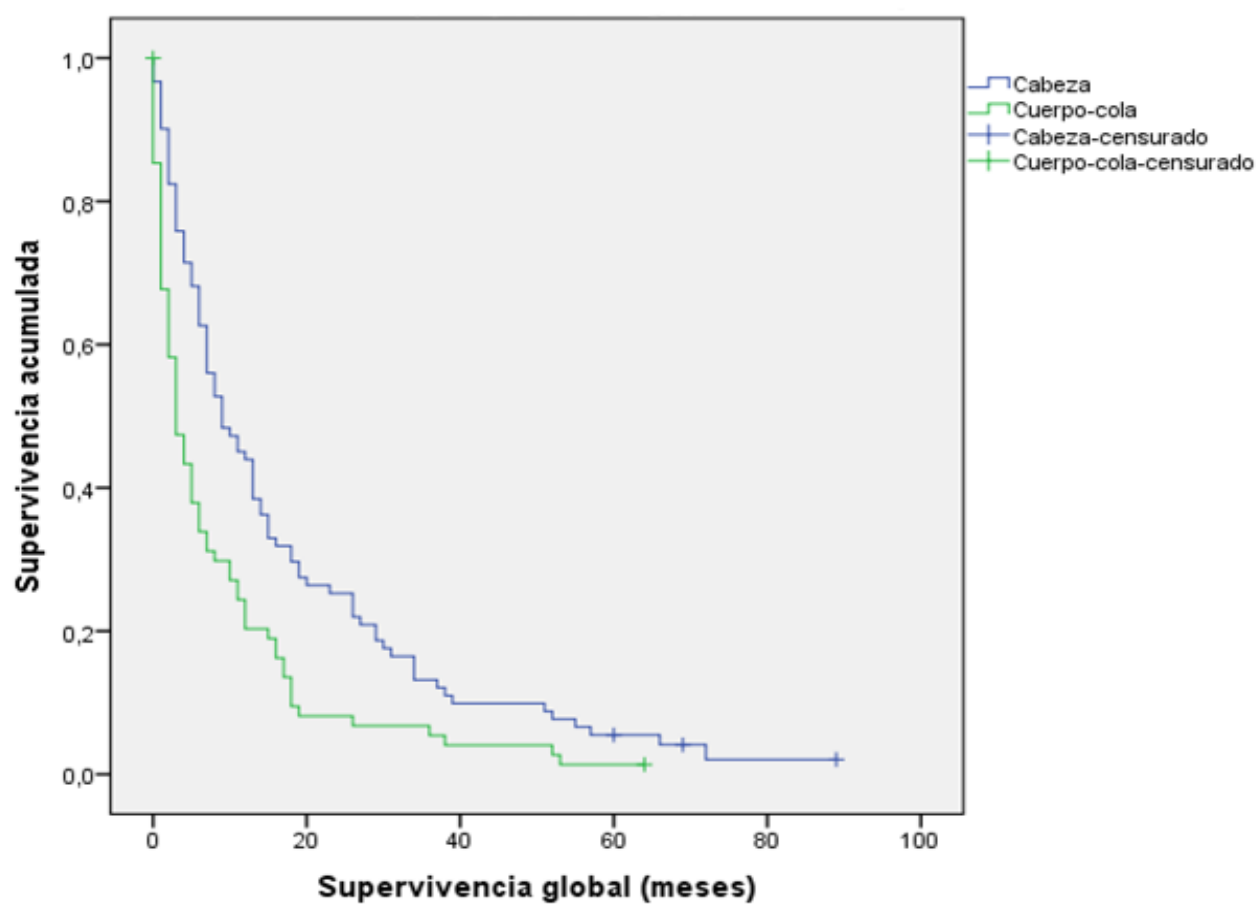
Intervenidos	35	21	11	4	1	0
No Intervenidos	131	9	1	0	0	0

Figura 9: Curvas de supervivencia Kaplan Meyer intervenidos y no intervenidos en meses

La supervivencia de los pacientes con el tumor localizado en cabeza de páncreas o proceso uncinado fue de 17 meses frente a 8,4 meses en los localizados en el cuerpo o cola ($p < 0,0001$).

Tabla 24: Supervivencia según la localización anatómica

Grupo de Pacientes	Media (Meses)	I.C. 95%
Cabeza/Proceso Uncinado	17,1	13,0-21,0
Cuerpo-Cola	8,4	5,5-11,3
Global	13,3	10,6-16,0



N° en riesgo

Cabeza/uncinado	91	24	9	3	1	0
Cuerpo/cola	75	6	3	1	0	0

Figura 10: Curva de supervivencia de Kaplan Meyer según localización del CP

6. Expresión de SOX2 en el cáncer de páncreas

En un grupo de pacientes intervenidos en la Clínica Mayo, Rochester MN, USA, diferente a la serie estudiada del Hospital Donostia, se determinó la expresión de SOX2. Mediante inmunohistoquímica en tejido tumoral se observó como la expresión de SOX2 se localiza en el núcleo de las células formando paquetes nerviosos dentro del tejido pancreático. No se observó expresión de SOX2 en células acinares pancreáticas o ductales normales (no tumorales); sin embargo en líneas generales se observaron niveles altos de expresión de SOX2 (87).

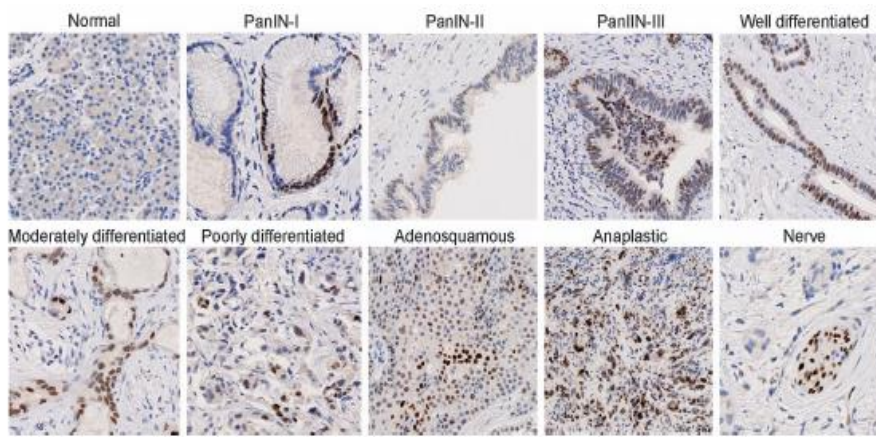


Figura 11: Expresión de SOX2 en tejido pancreático humano. Imágenes representativas para inmunohistoquímica de tejidos tumorales pancreáticos humanos para varios status histológicos y de diferenciación. Herreros Villanueva et al. (87)

En líneas de células tumorales pancreáticas en cultivo se observó cómo SOX2 estaba sobreexpresado en comparación con células de la línea epitelial no tumoral HPDE. Los niveles más altos de SOX2 se encontraron en células de las líneas celulares L3.6, CFPAC y BxPC3. Además, se volvió a observar como SOX2 se encontraba en el núcleo de estas células tumorales.

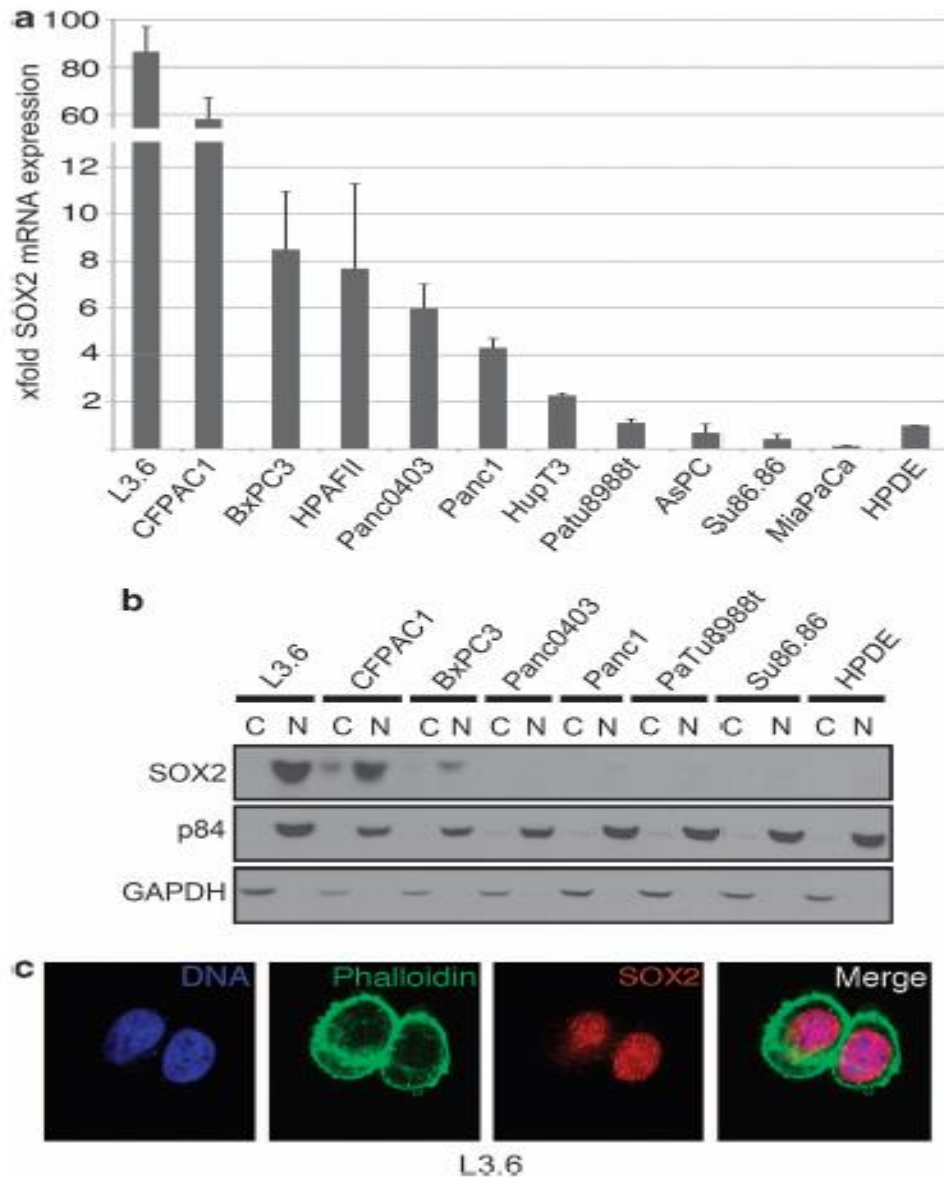


Figura 12 : Expresión del SOX2 en líneas celulares de cáncer pancreático humano. (a): RT-PCR cuantitativa que demuestra la expresión del SOX2 en diferentes líneas celulares y en HPDE inmortalizado. **(b):** Extractos de citosol (C) y núcleo (N) preparados de las líneas celulares indicadas e inmunoblot para SOX2. **(c):** Células L3.6 teñidas con Hoechst para detectar DNA, faloidina para detectar F-actina y SOX2 (87).

Mediante el empleo de ensayo de proliferación celular MTT, estudiamos células donde habíamos suprimido SOX2 mediante el uso de RNA de interferencia tipo shRNA (son moléculas artificiales de RNA con una configuración de horquilla de forma que silencia un determinado RNA). La supresión de SOX2 en líneas celulares produjo una reducción de proliferación celular sin variación en los niveles de senescencia (estos evaluados mediante tinción de B-galactosidasa).

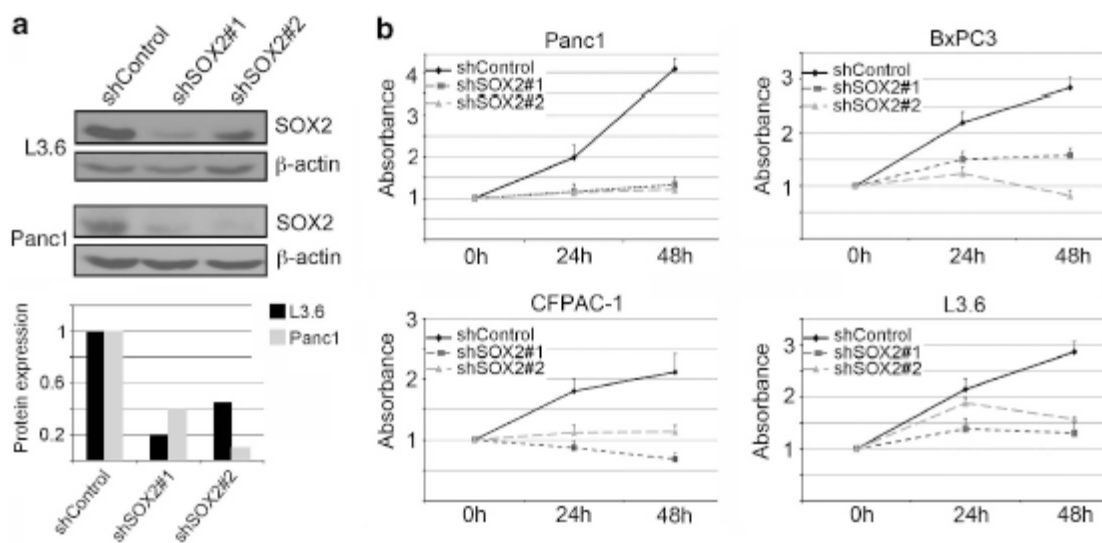
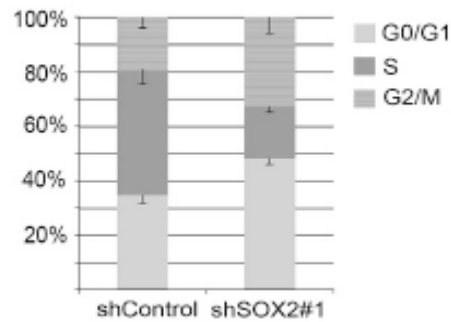


Figura 13: Efecto del bloqueo de SOX2. (a): Inmunoblot que demuestra el eficiente bloqueo del SOX2 por shRNA mediado por Lentivirus en células L3.6 y Panc1. (b): Efecto del bloqueo del SOX2 en la proliferación celular en las líneas celulares indicadas (87).

De la misma forma, evaluando si existía o no apoptosis mediante citometría de flujo, observamos que la supresión de SOX2 no inducía apoptosis. Sin embargo, la supresión de los niveles de SOX2 conlleva a un porcentaje reducido de células en fase S del ciclo celular y un aumento de estas en fase G0/G1. De la misma forma, la supresión de los niveles de SOX2 provoca un incremento significativo tanto de los niveles de mRNA como de proteína de p21Cip1 y p27Kip1. Por el contrario, no observamos un aumento de los también reguladores del ciclo celular p16 o p57. La proteínas p21 y p27 son proteínas reguladoras del ciclo celular (frenos de la progresión del ciclo celular). Se sabe que la pérdida de p21 y p27 se asocia con progresión de células tumorales en cánceres. En resumen, al disminuir los niveles

de SOX2 las células se dividen menos, y la revés, cuando SOX2 esta sobreexpresado como ocurre en el CP hace que se expresen menos las proteínas p21 y p27, y por tanto las células se dividan más.

a



b

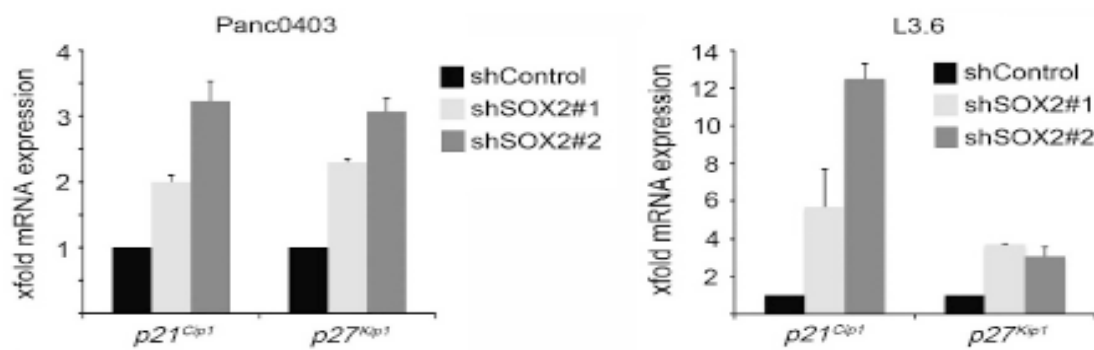


Figura 14 : Regulación de la proliferación células de cancer de páncreas por SOX2. (a): Análisis del ciclo celular de células L3.6 infectadas por Lenti-shControl y Lenti-shSOX2. **(b):** Gráfica cuantitativa RT-PCR de expresión de RNAm p21 y p27 en shControl y shSOX2 en células Pan0403 y L3.6 (87).

Mediante ensayos de inmunoprecipitación (ChIP) pudimos comprobar como SOX2 se une a los promotores de los genes p21 y p27 regulando directamente su expresión y controlando el ciclo celular de células tumorales pancreáticas.

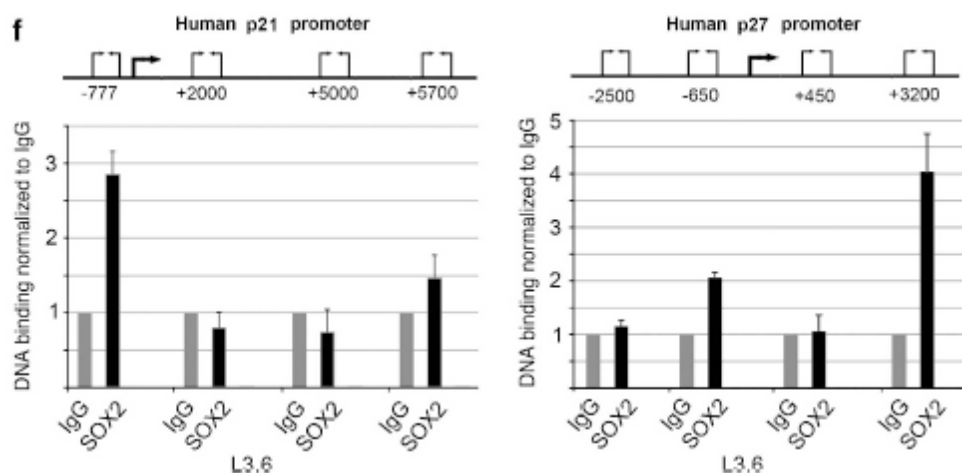


Figura 15: Análisis ChIP: Demuestra la unión específica a regiones p21 y p27 en regiones promotoras de células L3.6 (87).

Posteriormente analizamos como la supresión de SOX2 afecta la capacidad de auto-renovación de las CSC. Se analizó la expresión de marcadores de CSC: CD44, ALDH1, ESA y Nestina en las CSC. Para ello, empleamos células adherentes BxPC3 y L3.6 (líneas celulares de páncreas que sabemos que expresan gran cantidad de SOX2) y en ellas suprimimos la expresión de SOX2. Como consecuencia de la inhibición de la expresión de SOX2 se observó que la expresión de los marcadores CD44, ALDH1, ESA y Nestina también se reducía notablemente indicando que SOX2 induce la expresión de estos marcadores de CSC. De la misma forma, la supresión de SOX2 conlleva apoptosis celular, indicando que SOX2 es imprescindible al menos para algunas subpoblaciones de las denominadas CSC.

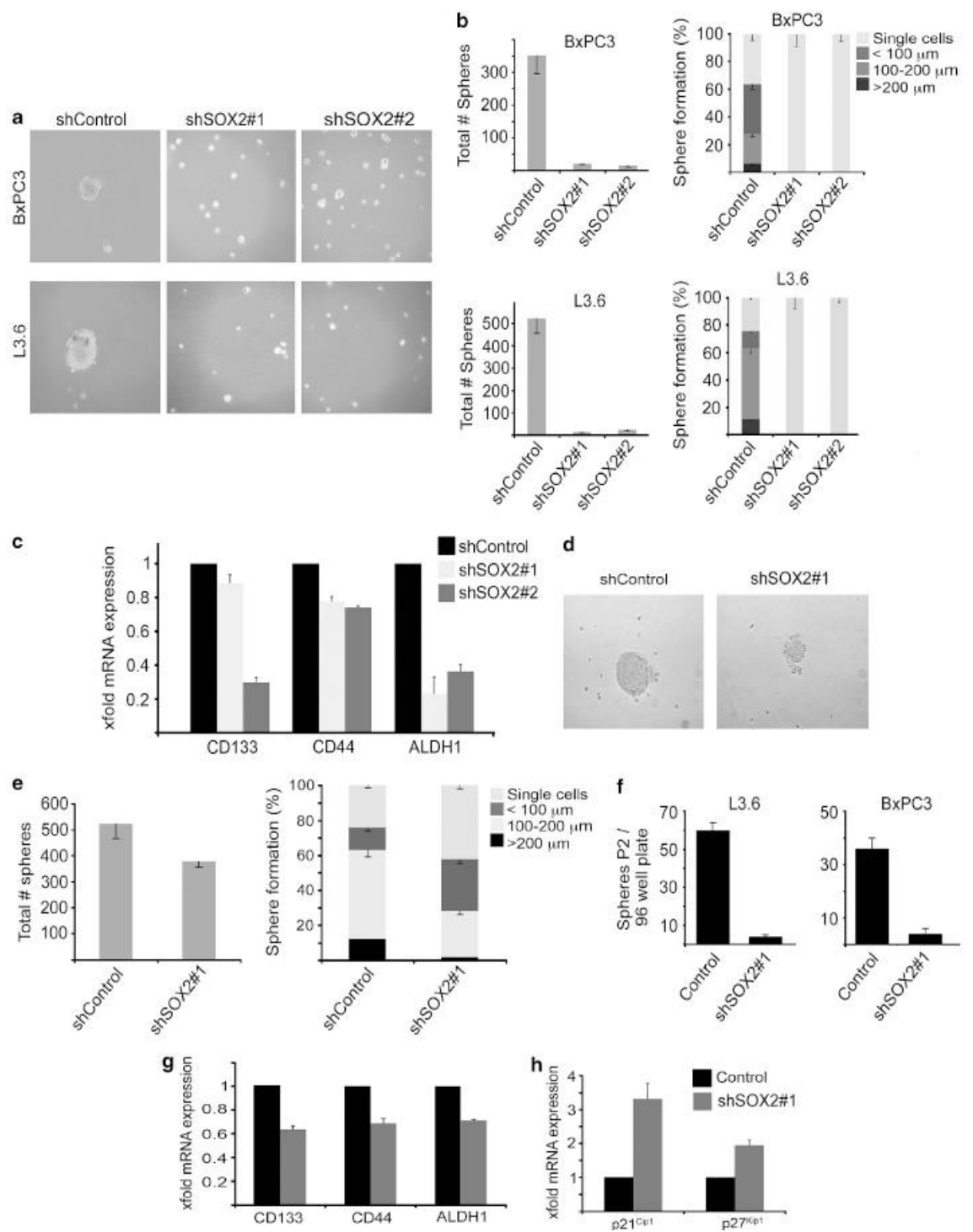


Figura 16 : SOX2 es necesario para el mantenimiento de las propiedades de las CSC. (a): Las imágenes de microscopia de campo brillante demuestra esferas, pequeños agregados y células aisladas tras el bloqueo del SOX2 en células BxPC3 y L3.6. (b): Cuantificación del número total de esferas y porcentaje de esferas basado en el tamaño en células BxPC3 y L3.6 shSOX2 comparadas con células shControl. (c): Medición cuantitativa de RT-PCR que demuestra la expresión de CD133, CD44 y ALDH1 en células L3.6 y células con supresión del SOX2. (d): Imagen de microscopio de campo brillante de esferas generadas por células shControl y shSOX2L3.6. (e): Cuantificación total de esferas (panel izquierdo) como cuantificación de esferas en grupos de diferentes tamaños (panel derecho) en control y en células L3.6 con bloqueo del SOX2. (f): Cuantificación de esferas secundarias. (g): RT-PCR cuantitativa que demuestra expresión de mRNA de CD133, CD44, y ALDH1 en esferas generadas por células L3.6 shControl y shSOX2. (h): RT-PCR cuantitativa que demuestra la expresión de RNAm de p21 y p27 en esferas L3.6 shControl y shSOX2 (87).

Todos estos datos sugieren que SOX2 se expresa de manera aberrante en el CP, encontrándose sobreexpresado cuando se compara con células pancreáticas no tumorales. SOX2 contribuye a la proliferación celular y la derivación / desdiferenciación a través de la regulación de un conjunto de genes que controlan la transición G1 / S , lo que sugiere que inhibir la expresión de SOX2 podría ser una estrategia terapéutica prometedora.

Discusión

El CP actualmente es uno de los tumores más agresivos. A pesar del tratamiento quirúrgico complejo, y aún en estadios precoces, el pronóstico es malo. En este trabajo observamos como el CP sigue teniendo un pronóstico malo con una supervivencia en nuestra serie de menos del 3% a los 5 años. La cirugía realizada en centros de referencia como el nuestro ha disminuido la mortalidad por debajo del 5%, y que a pesar de la morbilidad elevada, consigue tasas más elevadas de supervivencia. La combinación de nuevas pautas de quimioterapia, así como la investigación, es clave para mejorar la supervivencia de estos pacientes.

El CP tiene una baja incidencia y sus peculiaridades anatómicas y biológicas hacen que se requiera de equipos multidisciplinares para mejorar y avanzar en la supervivencia de los pacientes (34,88). En nuestro centro de referencia para una población de unos 650.000 habitantes se diagnostican alrededor de 30-40 pacientes al año de CP, lo que obliga, como ya es conocido por otros trabajos (88,89), que deban ser centros de referencia con alto volumen los que traten a estos pacientes. Nuestra área de referencia incluye 5 hospitales comarcales, pero incluso podría valorarse la mayor centralización del tratamiento de pacientes con cáncer de páncreas para la población de la Comunidad Autónoma Vasca, de aproximadamente 2.100.000 habitantes (diagnosticándose unos 130 pacientes de CP al año) y así conseguir mejorar tanto la morbi-mortalidad postoperatoria como la supervivencia global de estos pacientes. La relación entre la centralización de la patología con centros de referencia que asocian un mayor volumen de casos de un proceso patológico, se ha asociado a una mayor eficiencia, eficacia y una menor morbi-mortalidad, siendo el CP una de las patologías en las que más claramente se ha observado este beneficio (89). Diferentes autores han tratado de definir el número de casos necesario para considerar una unidad como de alto volumen. Los trabajos consultados (35,89) consideran 30 o más las resecciones pancreáticas al año necesarias para una disminución de la morbilidad y mortalidad postoperatoria. Secundariamente se aumenta el número de pacientes candidatos a cirugía con el consiguiente aumento de supervivencia en pacientes con CP (89), y mejor conocimiento y tratamiento de las complicaciones postoperatorias que puedan presentarse (34,88).

Al igual que otros estudios observamos una mayor incidencia en hombres, con una mayor incidencia a partir de los 60 años (2,90,91). Es posible que esto tenga relación con una mayor predisposición y que los hombres sean con más frecuencia fumadores y consumidores de alcohol habituales (92,93). En nuestra serie casi un 45% eran fumadores, frente a la prevalencia de consumo de tabaco en la población general del 24% que hay en nuestro país (92). Así mismo, el consumo de alcohol (entendido como de riesgo con el consumo de 4 o más unidades de bebida estándar (UBE) diarias) en nuestra serie alcanzaba el 25 %, a diferencia de entre el 4 y 6 % de la población general (93). Estos dos últimos son factores bien conocidos como factores etiopatogénicos de daño pancreático (2,7,9).

Así se conoce como el riesgo de presentar PC se relaciona con el consumo elevado o de riesgo de alcohol, con asociación o no al consumo de tabaco (2,22). Además la relación de la PC con el consumo de alcohol y/o tabaco se asocia al aumento de riesgo de CP (2,22,23). Existe una estrecha relación entre la PC y el CP. En nuestro caso no hemos podido determinar qué porcentaje de pacientes presentaban PC.

Otro factor destacado es la presencia de antecedentes familiares de CP. En nuestro estudio el 11% de los pacientes tenían al menos un familiar de primer grado con antecedente de cáncer de páncreas. Nuestros datos son similares a los datos aportados por diferentes autores, con una relación familiar descrita de entre 5-10% (8,25). Esta relación familiar, además de lesiones pancreáticas con conocida tendencia a la malignización, refuerza la idea de realizar cribado de manera preventiva a los familiares de pacientes con CP además de pacientes con lesiones con riesgo de malignización como son la NQM, la NIPM, pacientes con pancreatitis crónica y diabetes new-onset en mayores de 50 años (94).

Hay muchos puntos de incertidumbre en el cribado del cáncer de páncreas. Diferentes autores concluyen que la exploración más sensible para el hallazgo de lesiones menores de 2 centímetros en pacientes considerados con riesgo de desarrollar CP es la ecoendoscopia frente a la RM o el TC (94-96), iniciando el cribado a partir de los 50 años (94,95) y sin definir la frecuencia del seguimiento (94-96).

La complejidad del estudio ecoendoscópico, su alto coste, así como un bajo número de lesiones diagnosticadas en el seguimiento, plantea serias dudas a la hora de plantear la implementación de un cribado en pacientes de riesgo.

En nuestra serie solo un 11% de los pacientes (18 pacientes) no presentaban síntomas relacionados con el CP al diagnóstico, de los cuales 2 tenían antecedentes familia. A pesar del hallazgo casual solo el 39% pudieron ser intervenidos al diagnóstico, lo que apoya la idea de la dificultad de conseguir un diagnóstico por un programa de cribado que consiga disminuir la mortalidad del CP.

Otro aspecto fisiopatológico del CP es su relación con la diabetes. Es conocido como los pacientes con CP tienen con más frecuencia DM y que pacientes mayores de 50 años con diagnóstico reciente de DM o DM *new onset* tienen un riesgo más elevado de CP (16,17). Diferentes autores incluyen a este grupo de pacientes como candidatos a incluirlos en programas de cribado de CP (16,94,96-98). Tampoco sobre este grupo de pacientes existe consenso sobre si se debe realizar cribado del CP, con que prueba realizarlo y con qué intervalos de tiempo (94,96). En nuestra serie observamos como la presencia de DM se asociaba a tumores más avanzados y con menos posibilidades de aplicar tratamientos curativos. Diferentes autores describen la relación epidemiológica entre la DM, DM new-onset y el CP, pero sin clarificar si padecer DM empeora el pronóstico de los pacientes con CP, como en nuestra serie. Los pacientes con CP y DM tienen una progresión tumoral más rápida en el CP por el estímulo de los receptores del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) por el exceso de insulina en los pacientes con DM tipo II. Este estímulo favorece la carcinogénesis, crecimiento tumoral y la capacidad invasiva de las células tumorales del CP por regulación de la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (97-98).

En nuestro estudio, como en otros (1,91), se ha observado como la ictericia es un síntoma frecuente, generalmente ligado a la localización en la cabeza de páncreas, que también es la localización más frecuente. A pesar de que se pudiera pensar que la ictericia podría ser un factor de mal pronóstico, en nuestro estudio observamos como el porcentaje de estadios precoces (I-II) en este grupo de pacientes era mayor (41%) y por tanto con una mayor posibilidad de aplicar

tratamientos curativos como la cirugía. Un 41% de los pacientes que debutaron con ictericia fueron operados frente a un 12% que lo hicieron con dolor o con síndrome constitucional (7.6%). Es probable que tumores pequeños invadan la vía biliar provocando ictericia de forma precoz. Al contrario, cuando el crecimiento se dirige hacia el exterior de la glándula sin invadir la vía biliar, los tumores son más grandes, la clínica más vaga e inespecífica con síntomas dispépticos y síndrome constitucional con una mayor posibilidad de irresecabilidad. Si el tumor sigue avanzando infiltra terminaciones nerviosas, vasculares, linfáticas y órganos vecinos apareciendo dolor (por infiltración del plexo celíaco o mesentérico) o vómitos por obstrucción del tracto digestivo (91). Es muy importante cuando hay clínica inespecífica epigástrica en pacientes mayores de 50 años que no mejoran a los tratamientos, y que incluso en la ecografía no se detecte ninguna patología, el recurrir al TAC para descartar un CP.

A resaltar en nuestro estudio como ningún paciente fue diagnosticado con tumor menor a 2 cm (Estadio I). Diferentes series de pacientes sometidos a resección pancreática por CP sin neoadyuvancia describen entre un 3,6 y 5,5% de pacientes con tumores menores de 2 cm (99-101). Aunque se trata de un porcentaje mayor, se trata de series con un número mayor de pacientes que facilita una mayor diferencia de estadios al diagnóstico.

El diagnóstico requiere alta sospecha, la realización de pruebas de imagen y, su confirmación con biopsias y/o resección de la pieza quirúrgica de pancreatectomía. En nuestra serie observamos como la ecografía era una prueba que solo se realizó al 52% y que diagnóstico un CP cuando los tumores presentaban estadios avanzados (afectación ganglionar o metástasis). Pensamos que la ecografía abdominal, tanto por su coste, como por su disponibilidad, es la prueba inicial a pesar de que para tumores en fases precoces no de buenos resultados diagnósticos. En un 22% nuestros pacientes (37/166) la ecografía fue diagnóstica de CP en estadios avanzados irresecables. Por eso en los casos en los que la ecografía sea normal y persista la sintomatología inespecífica o una dilatación de vía biliar sin causa etiológica clara, se debe de realizar un TC abdominal.

En nuestro estudio, como refieren otros autores, el TC fue la prueba de referencia y la que mayor sensibilidad tuvo a la hora del diagnóstico y estadiaje (34,91,102). En otros estudios la ecografía presenta una sensibilidad mayor al nuestro, cercana al 76%, pero mucho menor que en otras técnicas diagnósticas como el TC o la RM (102). Es más, actualmente, diferentes trabajos consultados no incluyen la ecografía como exploración diagnóstica en un paciente con sospecha de CP (91,103).

La RM resulto ser muy fiable para tumores localizados, por lo que puede ser una prueba útil para los tumores localizados no visualizados en estudio de TC, aunque la TC presenta más sensibilidad que la RM (103). Otra de las ventajas de la RM sobre el TC en el CP es la mayor sensibilidad para el diagnóstico de lesiones hepáticas (con características de metástasis de CP) de pequeño tamaño que podrían pasar desapercibidas en la TC. Actualmente es la TC la prueba recomendada para el diagnóstico, el estudio de resecabilidad y el estadiaje del CP, relegando la a RM como estudio para complementar las dudas que puedan plantearse en un estudio de TC.

A pesar de que las pruebas radiológicas nos ayudan al diagnóstico y estadiaje del CP, aún hay un porcentaje de pacientes (19% en nuestra serie) que son irresecables en el momento de la cirugía a pesar de que las pruebas de imagen indicaban resecabilidad. Este hecho obliga a replantear la estrategia antes de la cirugía y lo que puede aportar otras pruebas radiológicas como el PET-TC o la laparoscopia previa a la cirugía.

Numerosos estudios han determinado la posible utilidad del PET-TC como herramienta diagnóstica, además de estudio de extensión e incluso pronóstico del CP (104-106). Esto mismo se ha aplicado a otros tumores como el cáncer gástrico con buenos resultados. Uno de los problemas de esta estrategia es la disponibilidad y coste de la prueba. Otro problema añadido de la técnica es la positividad del PET en las adenopatías inter-aorto-cava por procesos inflamatorios. En nuestro centro no se incluye la realización del PET-TC como estudio preoperatorio para valorar la resecabilidad.

Actualmente una de las indicaciones más aceptadas para el uso del PET-TC en pacientes con CP es la posibilidad de valoración del pronóstico según los hallazgos del PET-TC (104-106), ya que la valoración de la extensión de la enfermedad se realiza mediante el estudio de TC. Pero los trabajos consultados concluyen que si se realizara PET-TC preoperatorio, se modificaría la actitud quirúrgica en un 36% de los pacientes (103). Estos datos hacen necesario valorar la inclusión del PET-TC como prueba diagnóstica preoperatoria en el protocolo de nuestro centro.

Numerosos estudios han determinado como la realización de laparoscopia previa a la resección (107-109) puede diagnosticar pacientes con enfermedad diseminada que ha podido pasar desapercibida con los estudios radiológicos realizados y así disminuir el número de laparotomías innecesarias. Esto mismo se ha aplicado a otros tumores como el cáncer gástrico con buenos resultados. En el protocolo que se sigue en nuestro hospital no establece el PET ni la laparoscopia previa a la laparotomía de forma estandarizada. Los trabajos consultados reflejan un índice de metástasis ocultas por CP de entre 15-50% (107-109). La identificación de estos pacientes evitaría un número no desdeñable de laparotomías innecesarias. Pero la actual presión asistencial condiciona el planteamiento de realizar una laparoscopia diagnóstica a todo paciente candidato, a priori, de una cirugía resectiva por CP. Para ello se ha planteado la selección de los pacientes que podrían beneficiarse con mayor probabilidad de un estudio laparoscópico (107), basándose en el tamaño tumoral (mayor de 3 cm) y en la elevación del Ca 19.9 superior a 150 U/ml.

Otro dato destacable en nuestro estudio fue como la mayoría de los tumores resecables fueron bien diferenciados y como la supervivencia estaba muy relacionada con la diferenciación celular. De tal modo que la supervivencia de los tumores indiferenciados era de 12.2 meses frente a los 22 meses de los bien diferenciados. Sin embargo, solo en un 38% de los pacientes de nuestra serie se pudo clasificar el grado de diferenciación. En nuestra serie el estudio histológico de los tumores se realizó, sobre todo, en piezas quirúrgicas resecaadas.

Los estudios consultados reflejan el grado de diferenciación en series de pacientes sometidos a intervención quirúrgica, siendo compleja la definición de del grado de diferenciación con citologías y/o biopsias de metástasis en órganos vecinos (100,101). La biopsia por ecoendoscopia tiene la ventaja de realizar una biopsia directa sobre el tumor primario, con bajo riesgo de diseminación, pero en general, con menor cantidad de muestra que la aportada con la biopsia obtenida con aguja gruesa tipo tru-cut guiada por ecografía o TC (110).

Los indicadores quirúrgicos de nuestra serie en esta patología han sido, en general, buenos, sin embargo solo se ha podido intervenir quirúrgicamente un 21%. Destaca la nula mortalidad y la estancia media de 15 días, mejor a otras series donde la mortalidad llega hasta el 4% (91,111).

En nuestra serie hubo 37% de complicaciones graves y 29% de los pacientes fueron reintervenidos, superior al 20% publicado en otras series (83). Las principales causas fueron la fístula pancreática y la hemorragia postoperatoria, sobre todo en pacientes sometidos a DPC. Debido a este dato, desde el año 2018 se modificó la técnica de la derivación pancreática a una anastomosis pancreato-gástrica, evaluando actualmente los resultados de la modificación de la técnica en relación al índice de fístulas pancreáticas.

Los datos de nuestra unidad, especializada en cirugía hepatobiliar, está formada por 6 cirujanos que llevan más de 5 años trabajando en esta área y en el que se realizan de forma rutinaria 3 o más intervenciones mayores de oncología hepatobiliar a la semana, y en la que existe una planificación en relevo generacional. Para conseguir estos resultados es importante la formación de los cirujanos especializados en esta patología. La relación entre el número de procedimientos de una técnica realizados por año en un equipo quirúrgico tiene una relación descrita inversamente proporcional con las complicaciones postquirúrgica de ese procedimiento (112,113). En la cirugía oncológica pancreática se ha confirmado esta relación en diferentes trabajos (113-116). Se han descrito diferencias significativas en cuanto a morbi-mortalidad al comparar centros con alto y bajo volumen de resecciones pancreáticas.

Los autores difieren en definir el número de intervenciones por año por centro o por cirujano, así como el número de las mismas, difiriendo entre más de 11 y 20 por centro y año (113,115,116), incluyendo las resecciones pancreáticas de etiología tumoral y no tumoral. Nuestro centro mantiene una media anual de entre 25 y 30 DPC, además de las resecciones de cuerpo-cola pancreáticos, cumpliendo criterios de centro de alto volumen. Las series consultadas presentan una mortalidad menor del 5% (113,115,116) y una morbilidad menor del 40% en centros de alto volumen. Estos resultados son extrapolables a los de nuestra serie, teniendo en cuenta que entre 35 pacientes intervenidos la mortalidad fue del 0%, y un 37% de complicaciones mayores según la escala de Clavien Dindo. Así mismo, la centralización de cirugía pancreática en centros de alto volumen se relaciona con una disminución de la estancia media, con la consiguiente mejora de la eficiencia en este tipo de cirugías (115-116).

Uno de los factores que más controversia crea actualmente en relación a la cirugía del CP es la determinación de metástasis a nivel de ganglios inter aorto-cava. Nuestro equipo mantiene el protocolo de biopsiar dicha adenopatías durante el acto quirúrgico, desistiendo en la resección del tumor ante su positividad. La controversia se basa en que diferentes equipos de cirugía pancreática descartar realizar esta biopsia y continuar con el procedimiento. Se ha observado que la supervivencia de los pacientes con metástasis en este grupo ganglionar es claramente menor (117-120), por lo que actualmente nuestro equipo mantiene la actitud de suspender la resección quirúrgica en estos casos.

El drenaje biliar preoperatorio en pacientes que debutan con ictericia es un tema controvertido. Es ampliamente conocido el alto riesgo de complicaciones graves (coagulopatía, insuficiencia hepática o alteraciones de conductividad cardiaca) en cirugía pancreática en pacientes con bilirrubina superior a 30 mg/dl (91), lo que apoya el drenaje de la vía biliar en pacientes con ictericias extremas. En nuestro hospital los pacientes con perspectiva quirúrgica y niveles de bilirrubina total superior a 15 mg/dl sin posibilidad de intervención precoz (menos de 3 días) son sometidos al drenaje de la vía biliar. La colocación de stent biliar no está exenta de complicaciones a medio plazo, entre las que destacan los episodios de colangitis de repetición que pueden condicionar la calidad de vida del paciente y la propia

intervención quirúrgica (121). Otro tema controvertido en la actualidad es la elección entre prótesis plástica o metálica. Diferentes autores defienden la colocación preoperatoria de prótesis metálica por menor número de complicaciones dependientes del stent (34,91), aunque el meta-análisis de Lee et al. (107) concluye que no existen diferencias significativas en cuanto a las complicaciones preoperatorias entre stent metálicos (recubiertos o no) y plásticos. Independientemente a esta disyuntiva, todos los estudios consultados defienden que la cirugía pancreática en pacientes portadores de stent se asocia a una mayor morbilidad, por lo que recomiendan la cirugía sin colocación de stent si las condiciones del paciente lo permiten (34,91,121).

Por otro lado, las lesiones pancreáticas que no pueden ser resecadas pueden provocar diferentes síntomas que deben ser tratados de forma paliativa (obstrucción biliar o duodenal). La ictericia obstructiva por compresión y/o infiltración de la vía biliar conlleva una necesidad de resolución de la obstrucción biliar, que fue necesaria hasta en el 43% de los pacientes de nuestra serie. El drenaje de la vía biliar preferiblemente se realiza por vía endoscópica, teniendo como segunda opción el drenaje percutáneo. El mayor riesgo de complicaciones de la técnica percutánea (sobre todo hemorragia) hace que la vía endoscópica sea la técnica de elección (91,121), tanto en las series consultadas como en la de nuestro centro.

La obstrucción duodenal es otra de las complicaciones que pueden derivarse de la progresión de un ACP, sobre todo localizado en cabeza o proceso uncinado. En los casos no quirúrgicos, la intolerancia digestiva total hace necesaria la colocación endoscópica de stent duodenal como tratamiento paliativo. Salvo que la tumoración inicial esté muy cerca del duodeno, dada la rápida progresión del tumor y su alta mortalidad, la mayoría de los pacientes fallecen antes de presentar clínica de obstrucción duodenal. En nuestra casuística únicamente en el 1,2% de los pacientes fue necesaria la colocación de stent duodenal.

La supervivencia media de nuestra serie fue de 13.3 meses, 1.2 meses para los pacientes a los que no se realizó ningún tratamiento frente a 34.1 meses de aquellos que se operaron y que además recibieron quimioterapia (91%). Un 11% (4 pacientes) de estos últimos pacientes, viven pasados los 5 años.

Estos datos refuerzan la idea de un tratamiento agresivo con cirugía radical más adyuvancia. Como siempre en la patología neoplásica maligna es clave el diagnóstico precoz y remitir a los pacientes a centros de referencia. Cuando no se realiza cirugía agresiva o quimioterapia combinada, a pesar de la mejoría de los cuidados postoperatorios así como los diferentes esquemas quimioterápicos actuales, los resultados son similares a los obtenidos hace 25 años (122).

Actualmente diferentes autores han publicado mejores resultados en la supervivencia con la utilización del FOLFIRINOX como esquema adyuvante, con una mayor incidencia de toxicidad (123) que puede condicionar la adherencia al tratamiento.

Las series consultadas, en concordancia con nuestra serie, reflejan una supervivencia de más de 6 meses en pacientes con CP avanzado al diagnóstico, tratados con esquemas basados en gemcitabina (124,125). La supervivencia media de nuestra serie de pacientes intervenidos con adyuvancia basada en esquemas con gemcitabina es de 34,1 meses, siendo superior a la mayoría de series consultadas, que oscilan entre los 18 y 35 meses (126). La supervivencia general aceptada de las series de pacientes con CP a los 5 años es de entre 6 y 8 % (126,127) lejos de la reflejada en nuestra serie del 2,4 %.

Otro aspecto a destacar de nuestro estudio es la supervivencia elevada de los pacientes que se aplicó quimioterapia paliativa combinada. Hasta hace unos años el tratamiento clásico era gemcitabina en monoterapia (124) con una supervivencia media de alrededor de 6 meses (128). La adicción a la gemcitabina de otros quimioterápicos como la capecitabina (91) o el esquema FOLFIRINOX consigue mejores resultados, datos ya reflejados en la literatura (128). La combinación de más de 2 fármacos parece incrementar la supervivencia a consta un incremento elevado de efectos secundarios (128).

En el CP aún hay un gran camino por recorrer fundamentalmente en el diagnóstico precoz y en la búsqueda de otras dianas terapéuticas que mejoren los datos actuales de supervivencia (129). En este sentido, nuestro grupo ha observado como en el CP hay un incremento de la presencia de CSC, expresando, entre otros marcadores, el SOX2.

La presencia de CSC se ha relacionado con la progresión tumoral y la resistencia al tratamiento quimioterápico (87). Aún más, la inhibición del SOX2 disminuye el crecimiento y desarrollo tumoral tanto *in vitro* como *in vivo* (87). Numerosos estudios han confirmado estos datos (130,131) con una importante relación entre la presencia de CSC y el grado de indiferenciación del CP, y por lo tanto, con la supervivencia de los pacientes de CP. Las terapias actuales basadas en gemcitabina disminuyen las células tumorales pero aumenta la proporción de CSC, provocando la selección de CSC pluripotenciales y quimiorresistentes (70,75,130). Lonardo E. et al. (74) planteaba en el año 2010 la necesidad de tratar la población de CSC bien con agentes que destruyan directamente las CSC o bien con agentes que provocaran la diferenciación de las CSC a células tumorales no pluripotenciales y aumentar su sensibilidad a la gemcitabina.

Desde entonces se están estudiando diferentes moléculas aisladas o combinadas como la cyclopamina (inhibidor de la vía de señalización Hedgehog) y rapamicina (inhibidor de la m-TOR) asociadas a la gemcitabina (75), tanto *in vitro* como *in vivo* en ratones, con una disminución de las CSC pancreáticas. Además se han descritos avances *in vitro* de moléculas que inhiben diferentes vías metabólicas de las CSC con la consiguiente disminución del número de las CSC como los inhibidores de la vía metabólica DCLK1(poly(lactide-co-glucolide)), inhibidores de las líneas C-Met y fármacos ya conocidos por otras indicaciones como la metformina o el disulfiram (ambos provocando *in vivo* la capacidad de supresión de las CSC).

En relación con nuestro trabajo se está estudiando la molécula miR-1181 que provoca un bloqueo tanto del SOX2 como de STAT3 (Signal transduction and activation of transcription3), que son dos vías que actúan de forma sinérgica en las CSC (132), reproduciéndose *in vivo* los resultados conseguidos por nuestro grupo *in vitro*.

Nuestro trabajo sigue evidenciando el mal pronóstico de CP que no ha variado en los últimos 25 años. La cirugía sigue limitada a los pocos pacientes que no presentan una diseminación de la enfermedad al diagnóstico. A pesar de las diferentes combinaciones de moléculas estudiadas basadas en la gemcitabina, la presencia y persistencia de las CSC conlleva una quimiorresistencia que obliga a actuar sobre estas células para conseguir un cambio en la esperanza de vida de estos pacientes. El bloqueo sobre el factor de transcripción SOX2 abre la puerta a la posibilidad de bloquear e incluso destruir las pluripotenciales y quimiorresistentes CSC.

Conclusiones

I.- El perfil de presentación clínica del cáncer de páncreas en nuestra serie fue de un hombre, mayor de 60 años, fumador y con diabetes.

II.- La localización más frecuente fue en la cabeza del páncreas (55%) y estaban avanzados en la mayoría de los casos, 77%.

III.- El estudio radiológico más sensible para el diagnóstico fue el TC. La ecografía abdominal se realizó en la mitad de los casos y presentaba una baja sensibilidad diagnóstica.

IV.- Los pacientes que debutaron con ictericia presentaron estadios más precoces, y fueron con más frecuencia resecables.

V.- El debut del CP con dolor se relaciona con una alta probabilidad de presentar criterios de irresecabilidad.

VI.- El porcentaje de morbilidad postoperatoria fue elevado, con un 37% de complicaciones graves (Clavien Dindo III-IV), pero no hubo ningún fallecimiento postoperatorio.

VII.- La supervivencia fue mayor en los pacientes intervenidos con quimioterapia adyuvante. La asociación de capecitabina a la gemcitabina mejoro la supervivencia.

VIII.- Las tasas de supervivencia de los pacientes con CP no han mejorado en los últimos 25 años a pesar de la evolución de los tratamientos quimioterápicos así como los cuidados postoperatorios.

IX.- SOX-2 esta sobreexpresado en el cáncer de páncreas, especialmente en los tumores menos diferenciados, y aumenta el crecimiento y progresión tumoral y su quimiorresistencia. Su bloqueo inhibe el crecimiento tumoral.

Bibliografía

1. McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. **Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes.** World J Gastroenterol. 2018 November 21; 24(43):4846-4861.
2. Pandol SJ, Apte MV, Wilson JS, Gukovskaya AS, Edderkaoui M. **The burning question: why is smoking a risk factor for pancreatic cancer?** Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol IAP AI. agosto de 2012;12(4):344-9.
3. Hart AR, Kennedy H, Harvey I. **Pancreatic cancer: a review of the evidence on causation.** Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc. marzo de 2008;6(3):275-82.
4. Luo J, Adami H-O, Reilly M, Ekblom A, Nordenvall C, Ye W. **Interpreting trends of pancreatic cancer incidence and mortality: a nation-wide study in Sweden (1960-2003).** Cancer Causes Control CCC. febrero de 2008;19(1):89-96.
5. **Cancer of the Pancreas - Cancer Stat Facts** Disponible en: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>
6. Zhou J, Enewold L, Stojadinovic A, Clifton GT, Potter JF, Peoples GE, et al. **Incidence rates of exocrine and endocrine pancreatic cancers in the United States.** Cancer Causes Control CCC. junio de 2010;21(6):853-61.
7. Pandol S, Gukovskaya A, Edderkaoui M, Edderkoui M, Dawson D, Eibl G, et al. **Epidemiology, risk factors, and the promotion of pancreatic cancer: role of the stellate cell.** J Gastroenterol Hepatol. marzo de 2012;27 Suppl 2:127-34.
8. Hernandez del Castillo C, E Jimenez R. **Epidemiology and risk factors for exocrine pancreatic cancer.** Up to Date. 26 de julio de 2013;
9. Duell EJ. **Epidemiology and potential mechanisms of tobacco smoking and heavy alcohol consumption in pancreatic cancer.** Mol Carcinog. enero de 2012;51(1):40-52.
10. Bosetti C, Lucenteforte E, Silverman DT, Petersen G, Bracci PM, Ji BT, et al. **Cigarette smoking and pancreatic cancer: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (Panc4).** Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO. julio de 2012;23(7):1880-8.
11. Heinen MM, Verhage BAJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. **Active and passive smoking and the risk of pancreatic cancer in the Netherlands Cohort Study.** Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. junio de 2010;19(6):1612-22.
12. Lucenteforte E, La Vecchia C, Silverman D, Petersen GM, Bracci PM, Ji BT, et al. **Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (Panc4).** Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO. febrero de 2012;23(2):374-82.

13. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de González A, Barzi F, Woodward M. **Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies.** Br J Cancer. 6 de junio de 2005;92(11):2076-83.
14. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Ransom J, de Andrade M, Petersen GM. **Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study.** Gastroenterology. agosto de 2005;129(2):504-11.
15. Ben Q, Xu M, Ning X, Liu J, Hong S, Huang W, et al. **Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies.** Eur J Cancer Oxf Engl 1990. septiembre de 2011;47(13):1928-37.
16. Illés D, Terzin V, Holzinger G, Kosár K, Róka R, Zsóri G, et al. **New-onset type 2 diabetes mellitus--A high-risk group suitable for the screening of pancreatic cancer?** Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol IAP AI. abril de 2016;16(2):266-71.
17. Lu Y, García Rodríguez LA, Malgerud L, González-Pérez A, Martín-Pérez M, Lagergren J, et al. **New-onset type 2 diabetes, elevated HbA1c, anti-diabetic medications, and risk of pancreatic cancer.** Br J Cancer. 1 de diciembre de 2015;113(11):1607-14.
18. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. **Body mass index and pancreatic cancer risk: A meta-analysis of prospective studies.** Int J Cancer J Int Cancer. 1 de mayo de 2007;120(9):1993-8.
19. Bracci PM. **Obesity and pancreatic cancer: overview of epidemiologic evidence and biologic mechanisms.** Mol Carcinog. enero de 2012;51(1):53-63.
20. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE, Bernstein L, van den Brandt PA, Calle EE, et al. **A pooled analysis of 14 cohort studies of anthropometric factors and pancreatic cancer risk.** Int J Cancer J Int Cancer. 1 de octubre de 2011;129(7):1708-17.
21. Arslan AA, Helzlsouer KJ, Kooperberg C, Shu X-O, Steplowski E, Bueno-de-Mesquita HB, et al. **Anthropometric measures, body mass index, and pancreatic cancer: a pooled analysis from the Pancreatic Cancer Cohort Consortium (PanScan).** Arch Intern Med. 10 de mayo de 2010;170(9):791-802.
22. Duell EJ, Lucenteforte E, Olson SH, Bracci PM, Li D, Risch HA, et al. **Pancreatitis and pancreatic cancer risk: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4).** Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO. noviembre de 2012;23(11):2964-70.
23. Talamini G, Falconi M, Bassi C, Sartori N, Salvia R, Caldiron E, et al. **Incidence of cancer in the course of chronic pancreatitis.** Am J Gastroenterol. mayo de 1999;94(5):1253-60.

24. Silverman DT, Schiffman M, Everhart J, Goldstein A, Lillemoe KD, Swanson GM, et al. **Diabetes mellitus, other medical conditions and familial history of cancer as risk factors for pancreatic cancer.** Br J Cancer. agosto de 1999;80(11):1830-7.
25. Olson SH, Kurtz RC. **Epidemiology of pancreatic cancer and the role of family history.** J Surg Oncol. enero de 2013;107(1):1-7.
26. Trikudanathan G, Philip A, Dasanu CA, Baker WL. **Association between Helicobacter pylori infection and pancreatic cancer. A cumulative meta-analysis.** JOP J Pancreas. enero de 2011;12(1):26-31.
27. Bradley MC, Hughes CM, Cantwell MM, Napolitano G, Murray LJ. **Non-steroidal anti-inflammatory drugs and pancreatic cancer risk: a nested case-control study.** Br J Cancer. 27 de abril de 2010;102(9):1415-21.
28. Rothwell PM, Fowkes FGR, Belch JFF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. **Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials.** Lancet Lond Engl. 1 de enero de 2011;377(9759):31-41.
29. Wolpin BM, Kraft P, Gross M, Helzlsouer K, Bueno-de-Mesquita HB, Steplowski E, et al. **Pancreatic cancer risk and ABO blood group alleles: results from the pancreatic cancer cohort consortium.** Cancer Res. 1 de febrero de 2010;70(3):1015-23.
30. Gomez-Rubio P, Rosato V, Márquez M, Bosetti C, Molina-Montes E, Rava M, et al. **A systems approach identifies time-dependent associations of multimorbidities with pancreatic cancer risk.** Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 1 de julio de 2017;28(7):1618-24.
31. Longnecker DS, Adler G, Hruban RH, Klöppel G. **WHO Classification of tumors of the digestive system. 2000.**
32. Sánchez Cabús S, Fernández-Cruz L. **Surgery for pancreatic cancer: Evidence-based surgical strategies.** Cir Esp. septiembre de 2015;93(7):423-35.
33. Fernandez del Castillo C, E. Jimenez R, L. Steer M. **Overview of surgery in the treatment of exocrine pancreatic cancer and prognosis.** Up to Date. 2015.
34. Alemi F, Alseidi A, Scott Helton W, Rocha FG. **Multidisciplinary management of locally advanced pancreatic ductal adenocarcinoma.** Curr Probl Surg. septiembre de 2015;52(9):362-98.
35. Parikh PY, Lillemoe KD. **Surgical management of pancreatic cancer--distal pancreatectomy.** Semin Oncol. febrero de 2015;42(1):110-22.

36. Bakkevold KE, Arnesjø B, Dahl O, Kambestad B. **Adjuvant combination chemotherapy (AMF) following radical resection of carcinoma of the pancreas and papilla of Vater--results of a controlled, prospective, randomised multicentre study.** Eur J Cancer Oxf Engl 1990. 1993;29A(5):698-703.
37. Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, Bassi C, Dunn JA, Hickey H, et al. **A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer.** N Engl J Med. 18 de marzo de 2004;350(12):1200-10.
38. Burris HA, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, et al. **Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial.** J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. junio de 1997;15(6):2403-13.
39. Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K, Langrehr J, Ridwelski K, et al. **Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial.** JAMA. 17 de enero de 2007;297(3):267-77.
40. Maeda A, Boku N, Fukutomi A, Kondo S, Kinoshita T, Nagino M, et al. **Randomized phase III trial of adjuvant chemotherapy with gemcitabine versus S-1 in patients with resected pancreatic cancer: Japan Adjuvant Study Group of Pancreatic Cancer (JASPAC-01).** Jpn J Clin Oncol. marzo de 2008;38(3):227-9.
41. Antoniou G, Kountourakis P, Papadimitriou K, Vassiliou V, Papamichael D. **Adjuvant therapy for resectable pancreatic adenocarcinoma: review of the current treatment approaches and future directions.** Cancer Treat Rev. febrero de 2014;40(1):78-85.
42. Kalser MH, Ellenberg SS. **Pancreatic cancer. Adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection.** Arch Surg Chic Ill 1960. agosto de 1985;120(8):899-903.
43. Wang F, Kumar P. **The role of radiotherapy in management of pancreatic cancer.** J Gastrointest Oncol. septiembre de 2011;2(3):157-67.
44. Klinkenbijl JH, Jeekel J, Sahmoud T, van Pel R, Couvreur ML, Veenhof CH, et al. **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.** Ann Surg. diciembre de 1999;230(6):776-82; discussion 782-784.
45. Heinrich S, Lang H. **Neoadjuvant Therapy of Pancreatic Cancer: Definitions and Benefits.** Int J Mol Sci. 26 de julio de 2017;18(8).
46. Du L, Wang-Gillam A. **Trends in Neoadjuvant Approaches in Pancreatic Cancer.** J Natl Compr Cancer Netw JNCCN. agosto de 2017;15(8):1070-7.

47. Fernandez del Castillo C, E. Jiménez R, E. Murphy J. **Supportive care of the patient with locally advanced or metastatic exocrine pancreatic cáncer.** Up to date. Feb 2019.
48. Hezel AF, Kimmelman AC, Stanger BZ, Bardeesy N, Depinho RA. **Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma.** Genes Dev. 15 de mayo de 2006;20(10):1218-49.
49. Feldmann G, Beaty R, Hruban RH, Maitra A. **Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia.** J Hepatobiliary Pancreat Surg. 2007;14(3):224-32.
50. Habbe N, Shi G, Meguid RA, Fendrich V, Esni F, Chen H, et al. **Spontaneous induction of murine pancreatic intraepithelial neoplasia (mPanIN) by acinar cell targeting of oncogenic Kras in adult mice.** Proc Natl Acad Sci U S A. 2 de diciembre de 2008;105(48):18913-8.
51. Brembeck FH, Schreiber FS, Deramandt TB, Craig L, Rhoades B, Swain G, et al. **The mutant K-ras oncogene causes pancreatic periductal lymphocytic infiltration and gastric mucous neck cell hyperplasia in transgenic mice.** Cancer Res. 1 de mayo de 2003;63(9):2005-9.
52. Ray KC, Bell KM, Yan J, Gu G, Chung CH, Washington MK, et al. **Epithelial tissues have varying degrees of susceptibility to Kras(G12D)-initiated tumorigenesis in a mouse model.** PloS One. 2011;6(2):e16786.
53. De La O J-P, Emerson LL, Goodman JL, Froebe SC, Illum BE, Curtis AB, et al. **Notch and Kras reprogram pancreatic acinar cells to ductal intraepithelial neoplasia.** Proc Natl Acad Sci U S A. 2 de diciembre de 2008;105(48):18907-12.
54. Means AL, Meszoely IM, Suzuki K, Miyamoto Y, Rustgi AK, Coffey RJ, et al. **Pancreatic epithelial plasticity mediated by acinar cell transdifferentiation and generation of nestin-positive intermediates.** Dev Camb Engl. agosto de 2005;132(16):3767-76.
55. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, et al. **Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions.** Am J Surg Pathol. mayo de 2001;25(5):579-86.
56. Hruban RH, Takaori K, Klimstra DS, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV, et al. **An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms.** Am J Surg Pathol. agosto de 2004;28(8):977-87.
57. Klein WM, Hruban RH, Klein-Szanto AJP, Wilentz RE. **Direct correlation between proliferative activity and dysplasia in pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN): additional evidence for a recently proposed model of progression.** Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc. abril de 2002;15(4):441-7.

58. Distler M, Aust D, Weitz J, Pilarsky C, Grützmann R. **Precursor lesions for sporadic pancreatic cancer: PanIN, IPMN, and MCN.** BioMed Res Int. 2014;2014:474905.
59. Hruban RH. **Molecular pathogenesis of exocrine pancreatic cancer.** Up to Date. Sep 2013;
60. Konstantinidis IT, Vinuela EF, Tang LH, Klimstra DS, D'Angelica MI, Dematteo RP, et al. **Incidentally discovered pancreatic intraepithelial neoplasia: what is its clinical significance?** Ann Surg Oncol. octubre de 2013;20(11):3643-7.
61. Recavarren C, Labow DM, Liang J, Zhang L, Wong M, Zhu H, et al. **Histologic characteristics of pancreatic intraepithelial neoplasia associated with different pancreatic lesions.** Hum Pathol. enero de 2011;42(1):18-24.
62. Longnecker DS, Adler G, Hruban RH, Klöppel G. **Intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas. WHO Classification of tumors of the digestive system.** 2000:237-240.
63. Tanaka M. **Thirty years of experience with intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas: from discovery to international consensus.** Digestion. 2014;90(4):265-72.
64. Tanaka M, Fernández-del Castillo C, Adsay V, Chari S, Falconi M, Jang J-Y, et al. **International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas.** Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol IAP AI. junio de 2012;12(3):183-97.
65. Zamboni G, Klöppel G, Hruban RH, Longnecker DS. **Mucinous cystic neoplasms of the pancreas. En: WHO Classification of tumors of the digestive system.** p. 234-6.
66. Hruban RH, Canto MI, Goggins M, Schulick R, Klein AP. **Update on familial pancreatic cancer.** Adv Surg. 2010;44:293-311.
67. Amin S, McBride RB, Kline JK, Mitchel EB, Lucas AL, Neugut AI, et al. **Incidence of subsequent pancreatic adenocarcinoma in patients with a history of nonpancreatic primary cancers.** Cancer. 1 de marzo de 2012;118(5):1244-51.
68. Abel EV, Simeone DM. **Biology and clinical applications of pancreatic cancer stem cells.** Gastroenterology. junio de 2013;144(6):1241-8.
69. Lonardo E, Frias-Aldeguer J, Hermann PC, Heeschen C. **Pancreatic stellate cells form a niche for cancer stem cells and promote their self-renewal and invasiveness.** Cell Cycle Georget Tex. 1 de abril de 2012;11(7):1282-90.
70. Caldwell ME, Tuveson DA. **Finding and killing the CRABs of pancreatic cancer.** Gastroenterology. septiembre de 2009;137(3):782-5.

71. Bachem MG, Schünemann M, Ramadani M, Siech M, Beger H, Buck A, et al. **Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells.** Gastroenterology. abril de 2005;128(4):907-21.
72. Masamune A, Kikuta K, Watanabe T, Satoh K, Hirota M, Shimosegawa T. **Hypoxia stimulates pancreatic stellate cells to induce fibrosis and angiogenesis in pancreatic cancer.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. octubre de 2008;295(4):G709-717.
73. Hermann PC, Sainz B. **Pancreatic cancer stem cells: A state or an entity?** Semin Cancer Biol. diciembre de 2018;53:223-31.
74. Lonardo E, Hermann PC, Heeschen C. **Pancreatic cancer stem cells - update and future perspectives.** Mol Oncol. octubre de 2010;4(5):431-42.
75. Mueller M-T, Hermann PC, Witthauer J, Rubio-Viqueira B, Leicht SF, Huber S, et al. **Combined targeted treatment to eliminate tumorigenic cancer stem cells in human pancreatic cancer.** Gastroenterology. septiembre de 2009;137(3):1102-13.
76. Wegner M. All purpose Sox: **The many roles of Sox proteins in gene expression.** Int J Biochem Cell Biol. marzo de 2010;42(3):381-90.
77. Yamanaka S. **Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells.** Cell Stem Cell. 7 de junio de 2007;1(1):39-49.
78. Zhao M, Amiel SA, Christie MR, Muiesan P, Srinivasan P, Littlejohn W, et al. **Evidence for the presence of stem cell-like progenitor cells in human adult pancreas.** J Endocrinol. diciembre de 2007;195(3):407-14.
79. White MG, Al-Turaifi HR, Holliman GN, Aldibbiat A, Mahmoud A, Shaw JAM. **Pluripotency-associated stem cell marker expression in proliferative cell cultures derived from adult human pancreas.** J Endocrinol. noviembre de 2011;211(2):169-76.
80. Sanada Y, Yoshida K, Ohara M, Oeda M, Konishi K, Tsutani Y. **Histopathologic evaluation of stepwise progression of pancreatic carcinoma with immunohistochemical analysis of gastric epithelial transcription factor SOX2: comparison of expression patterns between invasive components and cancerous or nonneoplastic intraductal components.** Pancreas. marzo de 2006;32(2):164-70.
81. Hermann PC, Huber SL, Herrier T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, et al. **Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer.** Cell Stem Cell. 2007; 1: 313-23.
82. Comité de Tumores Hepatobiliopancreaticos. H. Universitario Donostia 2012. **Protocolo de actuación para el manejo del paciente con adenocarcinoma de páncreas.**

83. Sabater L, Mora I, Gámez Del Castillo JM, Escrig-Sos J, Muñoz-Forner E, Garcés-Albir M, et al. **Outcome quality standards in pancreatic oncologic surgery in Spain.** Cirugia Espanola. julio de 2018;96(6):342-51
84. Dindo D, Demartines N, Clavien P-A. Classification of Surgical Complications: **A New Proposal With Evaluation in a Cohort of 6336 Patients and Results of a Survey.** Ann Surg. agosto de 2004;240(2):205-13.
85. Zhang JS, Koenig A, Young C, Billadeau DD. **GRB2 couples RhoU to epidermal growth factor receptor signaling and cell migration.** Mol Biol Cell 2011; 22:2119–2130.
86. Fernandez del Castillo, C. **Clinical manifestations, diagnosis, and staging of exocrine pancreatic cáncer.** Up to date Marzo de 2019.
87. Herreros-Villanueva M, Zhang J-S, Koenig A, Abel EV, Smyrk TC, Bamlet WR, et al. **SOX2 promotes dedifferentiation and imparts stem cell-like features to pancreatic cancer cells.** Oncogenesis. 5 de agosto de 2013;2(8):e61
88. Buanes TA. **Pancreatic cáncer-improved care achievable.** World J Gastroenterol. 2014 August 14; 20(30):10405-18
89. Coupland VH, Konfortion J, Jack RH, Allum W, Kocher HM, Riaz SP, Luchtenborg M, Moller H. **Resection rate, hospital procedure volumen and survival in pancreatic cancer patients in England: Population-based study, 2005-2009.** Eur J Surg Oncol. Febrero de 2016; 42(2): 190-6.
90. Ilic M, Ilic I. **Epidemiology of pancreatic cancer.** World J Gastroenterol. Noviembre de 2016; 22(44): 9694-9705.
91. Eskander MF, Bliss LA, Tseng J. **Pancreatic Adenocarcinoma.** Current problems in surgery. 2016; 53:107-154.
92. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. **Hábitos de vida. Informe anual del Sistema Nacional de Salud 2016.** (2):11-14
93. Galán I, González MJ, Valencia-Martín JL. **Patrones de consumo de alcohol en España: Un país en transición.** Rev Esp Salud Pública. 2014; 88: 529-40.
94. Matsubayashi H, Kiyozumi Y, Ishiwatari H, Uesaka K, Kikuyama M, Ono H. **Surveillance of individuals with a family history of pancreatic cancer and inherited cancer syndromes: A strategy for detecting early pancreatic cancer.** Diagnostics. 2019; 9, 169.
95. Lorenzo D, Rebours V, Maire F, Palazzo M, Gonzalez JM, Vullierme MP, et al. **Role of endoscopic ultrasound in the screening and follow-up of high-risk individuals for familial pancreatic cancer.** World J Gastroenterol. Septiembre de 2019; 14, 25(34):5082-96.

96. Matsubayashi H, Ishiwatari YH, Sasaki K, Uesaka K, Ono H. **Detecting early pancreatic cancer: Current problems and future prospects.** Gut and Liver. Enero de 2020; 14(1): 30-36.
97. Kore M. **Pathogenesis of pancreatic cancer-related diabetes mellitus. Quo Vadis?** Pancreas. Mayo-Junio 2019; 48(5):594-7.
98. Pang Y, Kartsonaki C, Guo Y, Bragg F, Yang L, Bian Z, et al. **Diabetes, plasma glucose and incidence of pancreatic cancer: A prospective study of 0,5 million Chinese adults and a meta-analysis of 22 cohort studies.** Int. J. Cancer. 2017; 140:1781-88.
99. Van Roessel S, Kasumova GG, Verheij J, Najarian RM, Magino L, De Pastena M, et al. **International validation of the eighth edition of the american joint committee on cancer (AJCC) TNM staging system in patients with resected pancreatic cancer.** Jama Surg. 2018; 153(12): e183617.
100. Brennan MF, Katan MW, Klimstra D, Conlon K. **Prognostic nomogram for patients undergoing resection for adenocarcinoma of the pancreas.** Annals of Surgery. Agosto de 2004; 240(2): 293-8.
101. Hartwig W, Hackert T, Hinz U, Gluth A, Bergmann F, Strobel O et al. **Pancreatic cancer surgery in the new millennium.** Annals of Surgery. Agosto de 2001; 254(2):311-9.
102. Bipat S, Phoa SSKS, van Delden O, Bossuyt PMM, Gouma DJ, Laméris J, et al. **Ultrasonography, computed tomography and magnetic resonance imaging for diagnosis and determining resectability of pancreatic adenocarcinoma. A meta-analysis.** J Comput Assist Tomogr. Julio/Agosto de 2005; 29(4):438-45.
103. Chu LC, Gogins MG, Fishman EK. **Diagnosis and detection of pancreatic cancer.** The Cancer Journal. Noviembre/Diciembre de 2017; 23(6):333-42.
104. Sanchez-Bueno F, Garcia-Perez R, Claver Valderas MA, De La Peña Moral J, Frutos Esteban L, Ortiz Ruiz E et al. **Utilidad de la 18.fluorodeoxiglucosa en la tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada (PET-TC) preoperatoria en el diagnóstico precoz del cáncer de páncreas exocrino: estudio de 139 casos resecados.** Cirugía Española. 2016; 94(9):511-17.
105. Wang SL, Cao S, Sun YN, Wu R, Chi F, Tang MY et al. **Standardized uptake value on positron emission tomography/computed tomography predicts prognosis in patients with locally advanced pancreatic cancer.** Abdominal Imaging. Octubre de 2015; 40(8):3117-21.
106. Wang Z, Chen JQ, Liu JL, Qin XG, Huang Y. **FDG-PET in diagnosis, staging and prognosis of pancreatic carcinoma. A meta-analysis.** World J Gastroenterol. Agosto de 2007; 19(29): 4808-17.
107. De Rosa A, Cameron IC, Gomez D. **Indications for staging laparoscopy in pancreatic cancer.** HBP. 2016;18:13-20.

108. O'Connor DB, Sulistijo A, Chung B, Conlon KC. **The role of staging laparoscopy in resectable and borderline resectable pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis.** Dig Surg. 2019; 36:251-60.
109. Yamamura K, Yamashita YI, Yamao T, Kuroda D, Eto T, Kitano Y, et al. **Efficacy of staging laparoscopy for pancreatic cancer.** Anticancer Research. Febrero de 2020; 40(2):1023-27.
110. Goldin SB, Bradner MW, Zervos EE, Rosemurgy AS. **Assessment of pancreatic neoplasm: review of biopsy techniques.** J Gastrointest Surg. Junio de 2007;11(6):783-90.
111. Schlottmann F, Iovaldi ML, Capitanich P, McCormack L. **Resultado de la cirugía pancreática en pacientes mayores de 70 años.** Cir Esp. 2015; 93(10):638-42.
112. Begg C, Cramer L, Hoskins W, et al. **Impact of hospital volumen on perioperative mortality for mayor cancer surgery.**JAMA. 1998;280:1747-51.
113. McPhee JT, Hill JS, Whalen GF, Zayaruzny M, Litwin DE, Sullivan ME et al. **Perioperative mortality for pancreatectomy. A national perspective.** Ann Surg. Agosto de 2007; 246(2):246-53.
114. Simons JP, Shah SA, Chau Ng S, Whalen GF, Tseng JF. **National complication rates after pancreatectomy: beyond mere mortality.** J Gastrointes Surg. Octubre de 2009; 13(10):1798-805.
115. Schneider EB, Ejaz A, Spolverato G, Hirose K, Makary MA, Wolfgang CL et al. **Hospital volumen and patient outcomes in hepato-pancretico-biliary surgery: is assessing differences in mortality enough?.** J Gastrointes Surg. Diciembre de 2014; 18(12):2105-15.
116. Macedo FIB, Jayanthi P, Mowzoon M, Yakoub D, Dudeja V, Merchant N. **The impact of surgeon volumen on outcomes after pancreaticoduodenectomy: a meta-analysis.**J Gastrointes Surg. Octubre de 2017; 21(10):1723-31.
117. Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Yuasa Y, Sueda T. **Prognostic impact of para-aortic lymph node metástasis in pancreatic ductal adenocarcinoma.** World J Surg. Agosto de 2010; 34(8):1900-7.
118. Schwarz L, Lupinacci RM, Svrcek M, Lesurtel M, Bubenheim M, Vuarnesson H, et al. **Para-aortic lymph node sampling in pancreatic head adenocarcinoma.** Br J Surg. Abril de 2014; 101(5):530-8.
119. Doi R, Kami K, Ito D, Fujimoto K, Kawaguchi Y, Wada M et al. **Prognostic implication of para-aortic lymph node metástasis in resectable pancreatic cancer.** World J Surg. 2007;31:147-154.

120. Agalianos C, Gouvas N, Papaparaskeva K, Derveniz C. **Positive para-aortic lymph nodes following pancreatectomy for pancreatic cancer. Systematic review and meta-analysis of impact on short term survival and association with clinicopathologic features.** HBP. 2016; 18:633-41.
121. Lee PJ, Podugu A, Wu D, Lee AC, Stevens T, Windsor JA. **Preoperative biliary drainage in resectable pancreatic cancer: a systematic review and network meta-analysis.** HBP. 2018; 20:477-86.
122. Niederhuber JE, Brannen MF, Menck HR. **The national cancer data base report on pancreatic cancer.** Cancer. Noviembre de 1995;76(9):1671-7.
123. Conroy T, Hammel P, Hebbar M, Ben Abdelghani, Wei AC, Raoul JL, et al. **FOLFIRINOX or gemcitabine as adjuvant therapy for pancreatic cancer.** N Engl J Med. 20 de Diciembre de 2018; 379(25):2395-406.
124. Arshad A, Al-Leswas D, Al-Taani O, Stephenson J, Metcalfe M, Steward WP, et al. **Pooled survival and response data from phase III randomized controlled trials for gemcitabine-based regimens in the treatment of advanced pancreatic cancer.** Am J Clin Oncol. Agosto de 2013; 36(4):411-4
125. Chen J, Chen L, Yu J, Xu Y, Wang X, Zeng Z, et al. **Meta-analysis of current chemotherapy regimens in advanced pancreatic cancer to prolong survival and reduce treatment-associated toxicities.** Mol Med Rep. Enero de 2019;19:477-89.
126. Conroy T, Ducreux M. **Adjuvant treatment of pancreatic cancer.** Curr Opin Oncol. Julio de 2019; 31(4):346-353.
127. Sathyanurthy A, Chela H, Romana B, Yousef M, Winn J, Madsen R, et al. **Pancreatic cancer survival outcome at a tertiary medical center based on sex and geographic location.** South Med J. Noviembre de 2006; 109(11):718-20.
128. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, Bécaudin Y, et al. **FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer.** N Engl J Med. 12 de Mayo de 2011;364(19):1817-25.
129. Luo W, Yang G, Qiu J, Luan J, Zhang Y, You L, et al. **Novel discoveries targeting gemcitabine-based chemoresistance and new therapies in pancreatic cancer. How far are we from the destination?** Cancer Med. 2019; 8:6403-13.
130. Herreros-Villanueva M, Bujanda L, Billadeau DD, Zhang JS. **Embryonic stem cell factors and pancreatic cancer.** World J Gastroenterol. Marzo de 2014; 20(9):2247-54.
131. Wuebben EL, Wilder PJ, Cox JL, Grunkemeyer JA, Caffrey T, Hollingsworth MA, et al. **SOX2 functions as a molecular rheostat to control the growth, tumorigenicity and drug responses of pancreatic ductal adenocarcinoma cells.** Oncotarget. 2016;7(23):34890-906.

132. Jiang J, Li Z, Yu C, Chen M, Tian S, Sun C. **MiR-1181 inhibits stem cell-like phenotypes and suppresses SOX2 and STAT3 in human pancreatic cancer.**Cancer Letters. 2015;356:962-70.

Anexos

ANEXO I

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA LA REALIZACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO DEL ESTUDIO: SOX 2 como factor de desdiferenciación en el adenocarcinoma de páncreas. Implicaciones clínicas en los tumores indiferenciados de páncreas

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Xabier Arteaga Martin. Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Planta 3ª N° Telf.: 943007033

CENTRO: Hospital Donostia.

INTRODUCCION

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética del Hospital Donostia, de acuerdo a la legislación vigente, y a las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico. Si usted decide revocar su consentimiento, no se recogerán nuevos datos, y se destruirán los datos obtenidos tras la revisión de su historia clínica.

Los datos serán codificados según un sistema de codificación simple, en la que existirá un código específico único. La clave de conexión entre el código y el sujeto está en manos del investigador clínico que es quien se encarga de protegerlo y preservar el secreto.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

El objetivo de este estudio es analizar los datos epidemiológicos (como edad, sexo, método al que se ha llegado al diagnóstico y terapias a las que ha sido sometido) para intentar obtener datos sobre la evolución del adenocarcinoma o cáncer de páncreas.

La metodología del estudio se basa en revisar los diferentes datos necesarios para realizar el estudio, obtenidos desde su historia clínica, para realizar lo que se denomina un “estudio retrospectivo”. Estos datos serán archivados por un sistema de codificación simple, en el que solo el investigador principal tendrá acceso a la información.

La realización del estudio no conlleva ninguna visita al hospital ni realizar ninguna exploración complementaria, basándonos únicamente en los datos obtenidos durante el tratamiento de su enfermedad.

El objetivo de este estudio es reclutar alrededor de unos 150 pacientes para poder obtener datos que nos permitan sacar conclusiones en relación al adenocarcinoma de páncreas.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

El estudio espera conseguir información epidemiológica que sirva para valorar la eficacia de los tratamientos actuales y modificar los mismos si así se concluyera en el estudio.

El paciente que participe en el estudio no conseguirá ningún beneficio para su salud por participar en el estudio.

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Sus datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio y colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países, previa notificación a la Agencia Española de Protección de Datos, los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta

cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias, al Comité de Ética del Hospital Donostia y personal autorizado, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

Cualquier nueva información que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos, si bien los responsables del estudio podrán seguir utilizando la información recogida sobre usted hasta ese momento, a no ser que usted se oponga expresamente.

ANEXO II

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROFESIONAL: Xabier Arteaga Martin. Médico Adjunto. Sº de Cirugía General y del Ap. Digestivo

CENTRO SANITARIO: Hospital Universitario Donostia

Este documento tiene por objeto ofrecerle información con la finalidad de **pedir su autorización** para recoger datos sobre el problema de salud en relación al Adenocarcinoma de Páncreas, por el que fue o está siendo tratado en este centro.

El adenocarcinoma de páncreas es uno de los tumores más frecuentes. El tratamiento actual se basa en cirugía, quimioterapia o una combinación de ambos para intentar conseguir una respuesta satisfactoria. Con este estudio queremos valorar el grado de afectación de

Si decide autorizar, debe recibir información personalizada del profesional que solicita su consentimiento, **leer antes este documento** y hacer todas las preguntas que precise para comprender los detalles sobre el mismo. Si así lo desea, puede llevarse el documento, consultarlo con otras personas y tomarse el tiempo necesario para decidir si autoriza o no.

Su decisión es completamente **voluntaria**. Ud. puede decidir no autorizar el uso de sus datos de salud. Le aseguramos que esta decisión no afectará a la relación con el profesional que se lo solicita ni a la asistencia sanitaria a la que Ud. tiene derecho.

¿Cuál es el propósito de esta petición?

Nuestro interés es exponer su problema de salud como “**caso clínico**” a la comunidad científica, con la finalidad de dar a conocer a otros profesionales cómo ha sido tratado y cómo ha evolucionado. Esta información podría ser de utilidad en el futuro para otras personas con un problema de salud como el suyo.

¿Qué me están solicitando?

Ud. fue o está siendo atendido en este centro por padecer un adenocarcinoma de páncreas (Cáncer de Páncreas). Solicitamos su permiso para estudiar la evolución de su enfermedad revisando la historia clínica de este centro y obtener los datos necesarios para completar este estudio.

Si firma este documento, nos autoriza para recoger datos de su historia clínica y realizar una publicación científica sobre el problema de salud que se describe.

La publicación científica puede ser de varios tipos, por ejemplo: una conferencia, una comunicación a un congreso, un artículo en una revista científica o incluso una actividad docente.

¿Obtendré algún beneficio o inconveniente?

No se espera que Ud. obtenga beneficio ni se exponga a ningún riesgo. Con su colaboración contribuirá a aumentar el conocimiento científico.

¿Se publicarán los datos del caso clínico?

Sí, en publicaciones científicas dirigidas a profesionales de la salud. Ha de saber que algunas de estas publicaciones pueden ser de acceso libre en internet, por lo que también pueden ser leídas por muchas otras personas ajenas al mundo sanitario. No se transmitirá ningún dato de carácter personal, tal como se describe en el punto siguiente. Si es de su interés, se le podrá facilitar la publicación realizada.

¿Cómo se protegerá la confidencialidad de mis datos?

El tratamiento, comunicación y cesión de sus datos se hará conforme a lo dispuesto por la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

Solamente los autores de la publicación científica tendrán acceso a todos sus datos, que se recogerán **anonimizados**, es decir, sin ningún dato de carácter personal salvo la fecha de nacimiento. Le garantizamos que no recogeremos nombre y apellidos, ni DNI, ni número de historia clínica, ni número de Seguridad Social ni código de identificación personal contenido en su tarjeta sanitaria.

El/los profesional/es autor/es de la publicación científica no recibirán retribución específica por la dedicación al estudio. Ud. no será retribuido por autorizar el uso de sus datos de salud.

Puede retirar su consentimiento en cualquier momento sin dar explicaciones, pero una vez que el caso clínico haya sido aceptado para su publicación no habrá posibilidad de cambiar de parecer.

Si tiene alguna duda puede contactar con el Dr. Xabier Arteaga Martin

Teléfono: 943007033. Correo-electrónico: xabier.arteagamartin@osakidetza.net

Muchas gracias por su colaboración.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

D/D^a.....

....Leí la información contenida en este documento, y autorizo a que se utilicen los datos de mi historia clínica en las condiciones que se describen.

☐

(Se me ha facilitado ver y leer la versión final del documento y autorizo su publicación

☐

Deseo conocer el documento una vez que se haya publicado

Fdo.: El/ la paciente
Nombre y Apellidos:
Fecha:

Fdo.: Persona autorizada:
Relación de parentesco:
Nombre y Apellidos:
Fecha:

Fdo.: El/la profesional que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos:
Fecha:

Nombre y apellidos:
Fecha:



Donostia Ospitalea
Hospital Donostia

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D. José Ignacio Emparanza Knörr, Presidente del Comité Ético de Investigación
Clínica del Área Sanitaria de Gipuzkoa,

CERTIFICA:

Que este Comité, de acuerdo a la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, Principios éticos de la declaración de Helsinki y resto de principios éticos aplicables, ha evaluado el Estudio Observacional titulado: ***“Sox2 como factor de desdiferenciación en el Adenocarcinoma de Páncreas. Implicaciones clínicas en los tumores indiferenciados de páncreas”*** Código de Protocolo: XAM-CSC-2017-01. Investigador Principal: Xabier Arteaga

Versión del Protocolo: 2 de fecha 22 de Septiembre de 2017

Version de la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado: 1 de
fecha 22 de Septiembre de 2017

Y que este Comité reunido el día 24/10/2017 (recogido en acta 09/2017) ha
decidido Aprobar dicho estudio y que sea realizado por el siguiente investigador:

Xabier Arteaga Martín – Cirugía General y del Aparato Digestivo –
Hospital Universitario Donostia

Lo que firmo en San Sebastián, a 24 de Octubre de 2017

Fdo.: Jose Ignacio Emparanza

ANEXO IV

ESTADIAJE TNM/AJCC VII EDICIÓN

T: tumor primario

Tx: no puede asegurarse

T0: no evidencia de tumor primario

Tis: carcinoma in situ

T1: tumor limitado al páncreas, de 2 cm o menos

T2: tumor limitado al páncreas, mayor de 2 cm

T3: tumor extendido más allá del páncreas pero sin afectación de tronco celiaco o arteria mesentérica superior.

T4: tumor que afecta a tronco celiaco o arteria mesentérica superior (irresecable)

N: ganglios regionales

Nx: desconocido

N0: no ganglios afectados

N1: ganglios afectados

M: metástasis a distancia:

M0: no hay metástasis a distancia

M1: metástasis a distancia

Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio IA	T1	N0	M0
Estadio IB	T2	N0	M0
Estadio IIA	T3	N0	M0
Estadio IIB	T1-T3	N1	M0
Estadio III	T4	Cualquier N	M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

ANEXO V

CLASIFICACIÓN DE MORBILIDAD POSTOPERATORIA DE CLAVIEN DINDO

Grado		Definición
I		Cualquier desviación del postoperatorio normal que no requiera reintervención a cielo abierto, radiológica ni endoscópica. Se considera el incluir el uso de soluciones electrolíticas, antieméticos, antipiréticos, analgésicos y fisioterapias. Incluye infección superficial tratada en la cama del paciente.
II		Se requiere tratamiento farmacológico diferente a los anteriores. Uso de transfusiones sanguíneas o de hemoderivados y nutrición parenteral
III		Requiere intervención quirúrgica, endoscópica o radiológica.
	a	Sin anestesia general
	b	Con anestesia general
IV		Complicaciones que amenazan la vida del paciente y requieren tratamiento en cuidados intermedios o intensivos
	a	Disfunción orgánica única (incluye diálisis)
	b	Disfunción orgánica múltiple
V		Muerte del paciente

Sufijo d: Se aplica cuando el paciente sufre una complicación al alta.

Traducido del trabajo de Dindo et al. (84)

ANEXO VI

ESCALA KARNOFSKY PERFORMANCE STATUS

Puntuación	Situación clínico-funcional
100%	Normal, sin quejas ni evidencia de enfermedad
90%	Capaz de llevar a cabo una actividad normal, pero con signos o síntomas leves.
80%	Actividad normal con esfuerzo, algunos signos y síntomas de enfermedad.
70%	Capaz de cuidarse, pero incapaz de llevar a cabo actividad normal o trabajo activo.
60%	Requiere atención ocasional, pero incapaz de llevar a cabo actividad normal o trabajo activo.
50%	Necesita ayuda importante, y asistencia médica frecuente
40%	Incapaz, necesita ayuda y cuidados especiales
30%	Totalmente incapaz. Necesita hospitalización y tratamiento de soporte activo
20%	Muy gravemente enfermo. Necesita tratamiento activo
10%	Moribundo irreversible
0%	Muerto.

ANEXO VII

CLASIFICACIÓN DEL ESTADO FÍSICO DE LOS PACIENTES DE LA *AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGIST (ASA)*

ASA I	Paciente sin ninguna alteración diferente del proceso localizado que precisa la intervención. Paciente sano.
ASA II	Paciente con alguna alteración o enfermedad sistémica leve o moderada que no produce incapacidad o limitación funcional.
ASA III	Paciente con alteración o enfermedad sistémica grave que produce limitación funcional definida y en determinado grado
ASA IV	Pacientes con enfermedad sistémica grave e incapacitante que constituye una amenaza constante para la vida y que no siempre se puede corregir por medio de cirugía.
ASA V	Pacientes terminales o moribundos, con unas expectativas de supervivencia no superior a 24 horas con o sin tratamiento quirúrgico
ASA VI	Pacientes clínicamente con muerte cerebral, que son atendidos con medidas de soporte, para obtención de órganos de transplante.
ASA E	Cualquier estado de salud con una cirugía de emergencia. E= Intervención de emergencia.

