



**ANUL 2023**

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**

*Caracterizarea profilului mutațiilor somatice în  
adneocarcinomul pancreatic*  
**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:  
PROF. UNIV. DR. GHEORGHE CRISTIAN**

Student-doctorand:  
**BUNDUC ȘTEFANIA**

**ANUL 2023**

## Cuprins

Problema fundamentală .....	1
Ipoteza de lucru și obiectivele generale .....	3
Capitolul 1. Profilul mutațiilor somatice în adenocarcinomul pancreatic diagnosticat prin puncție aspirativă cu ac fin ghidată ecoendoscopic.....	5
Capitolul 2. Rolul prognostic al ADN-ului liber circulant în adenocarcinomul pancreatic – un review sistematic și meta-analiză.....	7
Capitolul 3. Rolul prognostic al exosomilor în adenocarcinomul pancreatic – un review sistematic și meta-analiză .....	8
Concluzii și contribuții personale .....	9
Contribuțiile proprii.....	9
Concluzii .....	10
Bibliografie .....	13

## Problema fundamentală

Adenocarcinomul pancreatic are o incidență în creștere și un prognostic sumbru (1). În prezent reprezintă cea de-a șaptea cauză de mortalitate prin cancer la nivel global, însă se estimează că va deveni cea de-a treia cauză de mortalitate prin cancer în Statele Unite până în 2040 (2). Acest fenomen este explicat prin creșterea prevalenței factorilor de risc – obezitate, diabet zaharat și de asemenea creșterea speranței de viață (3). În plus, prognosticul adenocarcinomului pancreatic este sumbru, supraviețuirea la 5 ani nu depășește o medie de 9% pentru toate stadiile de boală și nu a înregistrat o îmbunătățire remarcabilă în ultimele decenii în pofida progreselor majore din oncologie (1). Între cauzele acestei mortalități crescute a cancerului de pancreas se numără pe de o parte diagnosticul bolii în stadii avansate non-elegibile pentru terapii cu viză curativă, iar pe de altă parte, o rezistență crescută a acestuia la chimio-radioterapie (4). Diagnosticul se stabilește tardiv deoarece, în stadii precoce, boala este asimptomatică, sau determină simptome nespecifice ușor de atribuit altor patologii benigne (4). De asemenea, deoarece incidența în populația generală este scăzută prin comparație cu incidența cancerului colorectal sau mamar, aplicarea de metode de screening este nefezabilă – chiar și un test cu sensibilitate și specificitate de 99% ar produce un număr mare de rezultate fals negative, care ar genera anxietate pentru subiecții din această categorie și costuri importante în sistemele de sănătate fără beneficia reale (4). Abordarea actuală în acest sens este de a urmări prin metode imagistice subiecții cunoscuți a avea un risc semnificativ crescut de cancer de pancreas față de populația generală – cum sunt cei cu cancer pancreatic familial, diferite sindroame genetice, pacienții cu diabet zaharat nou diagnosticat sau pacienți cu afecțiuni cu potențial de progresie către adenocarcinom pancreatic cum sunt cei cu pancreatită cronică, sau chiste mucinoase pancreatice (3,4). În ceea ce privește rezistența la tratament, se consideră că, pe lângă stroma intens desmoplazică ce aracterizează adenocarcinoamele pancreatice și care nu permite distribuția tratamentelor sistemice la nivel tumoral, în procesul de carcinogeneză se produc multiple alterări moleculare care permit continuarea dezvoltării tumorale sub tratament antineoplazic (1,4). Toate aceste elemente fac adenocarcinomul pancreatic tumora solidă cea mai redutabilă atât pentru pacient, cât și pentru echipa de management al acestuia.

Progresele remarcabile în domeniul geneticii și ingineriei biomedicale, au dus la descoperirea de mecanisme fiziopatologice subtile în special în patologiile neoplazice și la o schimbare de paradigmă cu impact major în oncologie și nu numai – respectiv terapia personalizată – în funcție de profilul molecular tumoral. Efectul acestui fenomen în cancerul pancreatic însă este încă redus. Mutațiile genetice cae apar în aproximativ 90% dintre adenocarcinoamele pancreatice, încă din stadia precoce ale bolii sunt mutații ale genei KRAS, care până recent era considerată inaccesibilă prin tratament țintit (5). Alterările moleculare potențial acționabile ce apar în cancerul pancreatic, au o incidență individuală scăzută, însă cumulat, pot fi decelate la un sfert dintre bolnavii cu cancer pancreatic (5). Actualmente există molecule care țintesc mutațiile KRAS12C care și-au dovedit eficacitatea și în cancerul de pancreas, dar mutațiile KRAS12C apar rar în acest tip tumoral, și sunt în curs de dezvoltare terapii țintite pentru mutațiile KRAS mai frecvent întâlnite în cancerul de pancreas cum sunt mutațiile KRAS12D (6) (7).

Cunoașterea profilului mutational a cancerului pancreatic a devenit o premisă indispensabilă pentru un tratament care să ofere beneficii maxime pacientului. Testarea genetică este actualmente recomandată de rutină rudelor de gradul I ale pacienților cu adenocarcinom pancreatic, pentru a evalua agregarea familială a acestuia și de asemenea pacienților cu stadia avansate de boală pentru ghidarea terapiilor țintite (3). În plus, eforturi de cercetare susținute adresează posibilitatea utilizării testelor genetice atât pentru un diagnostic precoce al bolii, cât și pentru ghidarea managementului acesteia (8).

În lucrarea de față abordăm două direcții principale în ceea ce privește profilul mutational în adenocarcinomul pancreatic – pe de o parte – posibilitatea utilizării probelor tumorale obținute prin puncție aspirativă cu ac fin sub ghidaj ecoendoscopic, pentru secvențiere genică de nouă generație și pe de altă parte posibilitatea de a utiliza metode de biopsie lichidă pentru evaluarea prognosticului acesteia.

## Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Rolurile prelevării de material bioptic sub ghidaj ecoendoscopic în cancerul de pancreas s-au extins, de la diagnosticarea tumorii la obținerea de probe adecvate pentru teste moleculare (9–11). Deși, conform ghidurilor actuale, în cazul leziunilor solide pancreatice ar trebui utilizate fragmente tisulare pentru efectuarea de teste moleculare, există tot mai multe dovezi cu privire la fezabilitatea efectuării testelor genetice de nouă generație pe baza probelor FNA

ADN-ul liber circulant și ADN-ul tumoral circulant (ctDNA) reprezintă cel mai studiat tip de biopsie lichidă în PDAC (12). ADN-ul liber circulant este format din lanțuri scurte de acizi nucleici eliberați de celulele, în principal în timpul necrozei sau apoptozei, și carec onțin modificări genetice și epigenetice specifice celulei din care provin (13). Există din ce în ce mai multe dovezi privind asocierea biomarkerilor cfDNA cu stadiul tumorii, încărcătura tumorală și prognosticul PDAC (14–17). Există dovezi preliminare sugerând că detectarea de ctDNA este asociată cu prezența micrometastazelor și ar putea prezice recidiva tumorală înainte ca aceasta să devină detectabilă prin metode imagistice, prezentând astfel un mare potențial pentru monitorizarea bolii (18,19).

Exozomii sunt vezicule extracelulare de dimensiuni nanometrice (30-150 nm), de origine endosomală, eliberate în mod fiziologic (20,21). Aceștia pot acționa asupra celulelor țintă fie pe cale endocrină fiind eliberați în circulația sistemică în acest scop, fie prin mecanisme paracrine și autocrine activând căi de semnalizare specifice (20,21). Aceștia transportă în principal acizi nucleici, lipide și proteine protejate de degradare în mediul extracelular de un bi-strat lipidic (20,22). În cancerul de pancreas, exozomii sunt implicați în procese precum tranziția epitelial-mezenchimală, proliferarea celulară, angiogeneză, formarea nișei premetastatice, favorizând astfel dezvoltarea și răspândirea tumorii (22,23). Deși izolarea exozomilor este laborioasă, aceștia pot reflecta cu acuratețe heterogenitatea tumorală prin varietatea conținutului lor molecular având stabilitate în mediul extracelular(24)(25).

Ipoteza de lucru a prezentei teze este aceea că rezultatele testelor moleculare în adenocarcinomul pancreatic utilizând probe tumorale prelevate prin ecoendoscopie și metode de biopsie lichidă sunt complementare și indispensabile pentru ghidarea managementului personalizat în adenocarcinomul pancreatic care poate ameliora prognosticul acestuia

Obiectivele generale cuprind, în acest sens: evaluarea posibilității de utilizare a probelor de puncție aspirativă cu ac fin pentru caracterizarea profilului mutațiilor somatice în adenocarcinomul pancreatic prin evaluarea parametrilor ADN-ului extras din acest tip de probe și utilizarea lor pentru secvențiere de nouă generație,- iar aceasta s-a efectuat printr-un studiu prospective de cohortă. Un alt obiectiv general a fost evaluarea posibilității utilizării metodelor de biopsie lichidă pentru ghidarea managementului adenocarcinomului pancreatic prin caracterizarea rolului lor prognostic – specific a ADN-ului liber circulant și biomarkerilor exosomal -în acest scop s-au efectuat două review-uri sistematice și meta-analize pentru fiecare tip de biomarkeri.

## **Capitolul 1. Profilul mutațiilor somatice în adenocarcinomul pancreatic diagnosticat prin puncție aspirativă cu ac fin ghidată ecoendoscopic**

Testele genetice sunt efectuate din ce în ce mai frecvent pentru gestionarea cazurilor de cancer pancreatic nerezecabil. Pentru acestea, ghidurile actuale recomandă folosirea de fragmente tisulare, deși pe baza unor dovezi de calitate moderată. Cu toate acestea, puncția, aspirativă cu ac fin (FNA) este cel mai adesea utilizată în practică între metodele de achiziții de material biptic sub ghidaj de ecoendoscopic (EUS). Scopul acestui studiu a fost de a evalua calitatea ADN-ului izolat din probe de adenocarcinom pancreatic (PDAC) prelevat prin EUS-FNA pentru secvențierea de nouă generație (NGS).

### **METODE**

Am efectuat un studiu de cohortă. În perioada noiembrie 2018 și decembrie 2021, 105 pacienți cu PDAC confirmat prin EUS-FNA au fost incluși în studiu. Pentru FNA au fost folosite fie ace de 22 gauge (G) fie de 19G. Un pasaj de FNA a fost dedicat extragerii ulterioare de ADN. Concentrația (ng/uL) și puritatea (A260/280, A260/230) ADN au fost evaluate prin spectrofotometrie. Am evaluat diferențele în parametrii ADN în funcție de dimensiunea acului și de caracteristicile tumorale (dimensiune, locație) și calitatea ADN-ului extras pentru NGS (materialul adecvat definit ca  $A260/280 \geq 1,7$  și cantitatea de ADN:  $\geq 10$  ng pentru NGS țintit pe bază de ampliconi,  $\geq 50$  ng pentru secvențierea întregului exom [WES],  $\geq 100$  ng pentru secvențierea întregului genom [WGS]). În acest scop am efectuat analiza varianței și respectiv testul t pentru observații independente. De asemenea, am evaluat parametrii de puritate a ADN-ului între în raport cu cantitatea de ADN izolat.

### **REZULTATE**

Cohorta noastră a inclus 49% bărbați, cu vârsta de  $67,02 \pm 8,38$  ani. Acul de 22G a fost folosit în 71% din cazuri. Parametrii ADN din probele noastre au variat după cum urmează: cantitatea de ADN: 1289 ng (inter interval de quartile: 534,75-3101),  $A260/280 = 1,85$  (1,79-1,86),  $A260/230 = 2,2$  (1,72-2,36). Am izolat  $> 10$  ng ADN din toate probele și  $> 100$  ng în 93% dintre acestea (o probă a produs  $< 50$  ng ADN). Nu au fost diferențe semnificative de concentrație și  $A260/280$  între probe în funcție de dimensiunea acului. Dimensiunea acului a fost singurul predictor independent al  $A260/230$  care a fost mai mare în probele 22G ( $P = 0,038$ ). Rata probe adecvate pt NGS a fost de 90% pentru acele de 19G, indiferent de tipul NGS, și pentru acele de 22G - 89% pentru adecvarea WGS și respectiv 91% pentru WES și NGS bazat pe ampliconi. Probele care au produs  $> 100$  ng ADN au avut  $A260/280$  semnificativ

mai mare ( $1,89 \pm 0,32$  vs  $1,34 \pm 0,42$ ,  $P = 0,013$ ). Caracteristicile tumorale nu au fost corelate semnificativ cu parametrii ADN.

#### CONCLUZIE

Probele de adenocarcinom pancreatic prelevate prin puncție aspirativă cu ac fin sub ghidaj ecoendoscopic produc ADN adecvat pentru NGS. Cantitatea de ADN a fost similară între acele de FNA de 22G și 19G. Parametrii de puritate ai ADN pot varia indirect cu dimensiunea acului.



## Capitolul 2. Rolul prognostic al ADN-ului liber circulant în adenocarcinomul pancreatic – un review sistematic și meta-analiză

Aceast review sistematic și meta-analiză a evaluat rolul prognostic al ADN-ului liber circulant (cfDNA) în adenocarcinomul ductal pancreatic (PDAC). Studiile eligibile au raportat diferențe în supraviețuirea globală (OS) și fără progresie de boală (PFS) în funcție de parametri cfDNA. Modelul cu efect aleatoriu a generat ratele hazard (HR) și intervalele de confidență de 95% (CI). Pozitivitatea biomarkerilor de cfDNA a fost definită ca: detectarea ADN-ului tumoral circulant (ctDNA), detectarea de mutații KRAS și alte modificări ale cfADN. În total, 38 de studii (3.318 pacienți) au îndeplinit criteriile de eligibilitate. Supraviețuirea fără progresie de boală (HR = 1,92, 95 % CI: (1,29, 2,86)) și supraviețuirea globală (HR = 2,25, 95 % CI:(1,73,2,92)) au fost semnificativ reduse în cazurile cu cfADN detectabil. Rezultate similare s-au obținut și în cazul detectării de mutații KRAS atât pentru PFS (HR = 1,88, CI:1,22,2,92); cât și pentru OS (HR = 1,52, 95% CI:(1,22,1,90)), incluzând în analiză toate stadiile de boală. Pentru stadiile non-rezecabile de boală, riscul de progresie a fost semnificativ mai mare în cazurile cu ctDNA detectabil (HR = 2,50, 95% CI:(1,94,3,23)). Rezultatele nu au fost similare pentru cazurile non-rezecabile cu mutații KRAS detectabile (HR = 1,16, 95 %CI:(0,46,2,94)). Pozitivitatea biomarkerilor cfDNA s-a corelat cu prognostic alterat și în stadiile rezecabile de boală și dacă a fost depistată în timpul tratamentului. În concluzie, biomarkerii cfDNA indică progresie accelerată a bolii și scăderea supraviețuirii în PDAC. Sunt necesare studii suplimentare pentru stabilirea semnificației detectării mutațiilor KRAS în stadiile non-rezecabile de boală.

### **Capitolul 3. Rolul prognostic al exosomilor în adenocarcinomul pancreatic – un review sistematic și meta-analiză**

Am efectuat un review sistematic și o meta-analiză pentru a evalua rolul prognostic al biomarkerilor exosomalți în adenocarcinomul ductal pancreatic (PDAC). Căutarea sistematică a fost efectuată pe 18 ianuarie 2021 în MEDLINE, Embase, Scopus, Web of Science și CENTRAL. Au fost incluse în review studiile care raportează diferențele în supraviețuirea globală (OS) și fără progresie de boală (PFS) la pacienții PDAC în funcție de statusul biomarkerilor exosomalți circulanți. Modelul cu efect aleatoriu a estimat ratele de hazard multivariate (AHR) și univariate (UHR) și intervalele de confidență de 95% (CI) corespunzătoare. Unsprezece studii cuprinzând 634 de pacienți au fost eligibile pentru meta-analiză. Detectarea biomarkerilor exosomalți a indicat un risc crescut de mortalitate precoce (UHR = 2,81, IC: 1,31 6,00, I2 = 88,7%, P < 0,001) și progresie a bolii (UHR = 3,33, IC: 2,33 4,77, I2 = 0, P = 0,879) în diferite stadii ale PDAC. Detectarea biomarkerilor exosomalți preoperator la stadiile rezecabile au relevat un risc mai mare de mortalitate precoce (UHR = 5,55, CI: 3,24 9,49, I2 = 0, P = 0,898). Nu s-au decelat diferențe semnificative în supraviețuirea globală în stadiile non-rezecabile de boală cu biomarkeri exosomalți pozitivi (UHR = 2,51, CI: 0,55 11,43, I2 = 90,3%, P < 0,001). Decelarea anumitor tipuri de micro ARN exosomal s-a fost asociat mortalitate precoce (UHR = 4,08, CI: 2,16 7,69, I2 = 46,9%, P = 0,152) în diferite stadii de boală. Aceste rezultate reflectă potențialul biomarkerilor exosomalți pentru evaluarea prognosticului în PDAC. Heterogenitatea asociată rezultatelor reflectă variabilitatea a metodelor utilizate în studiile care au raportat rezultate eligibile și necesitatea uniformizării lor în vederea utilizării acestui tip de biomarkeri în clinică.

## **Concluzii și contribuții personale**

### **Contribuțiile proprii.**

Analiza noastră de cohortă a arătat că dimensiunea acului FNA nu influențează concentrația și parametrul primar de puritate (A260/280) ale ADN-ului extras din probele de adenocarcinom pancreatic atunci când se folosesc ace de FNA de 19G sau 22G EUS. Cu toate acestea, dimensiunea acului a fost singurul predictor independent al A260/230. Diametrul și localizarea tumorii nu au influențat puritatea ADN-ului și parametrii de concentrație. Pe baza pragurilor de puritate și în funcție de cantitatea de ADN izolată, nu au existat diferențe semnificative în ratele de adecvare a probelor pentru NGS între cele două dimensiuni de ac de FNA. Rata de adecvare a probelor pentru NGS a fost de 90% pentru probele obținute cu ace de 19G, indiferent de tipul de NGS, în timp ce pentru probele obținute cu ace de 22G a fost de 89% pentru WGS și de 91% atât pentru WES, cât și pentru NGS bazat pe ampliconi. În ceea ce privește parametrii de puritate, A260/280 a fost semnificativ mai bun în probele cu randament de ADN peste 100 ng. În plus, am realizat cu NGS țintit bazat pe ampliconi pe un subgrup de 20 de probe. Genele cel mai frecvent mutate în subplotul examinat au fost KRAS, ERBB2, TP53, ATM și PALPB2. Datele noastre sunt concordanțe cu alte date similare raportate în literatură.

Am efectuat un review sistematic și meta-analiză pentru evaluarea rolului prognostic al biomarkerilor cfDNA în adenocarcinomul pancreatic. Rezultatele au arătat că biomarkerii cfDNA indică o scădere a supraviețuirii globale și a supraviețuirii fără progresie în PDAC, atât în stadii rezecabile de boală, cât și nerezecabile, și atunci când sunt detectați în timpul tratamentului.

.De asemenea, rezultatul analizei de subgroup dedicată mutațiilor KRAS decelabile în cfDNA au evidențiat o scădere a supraviețuirii globală și fără progresie de boală la acești pacienți atunci când în analiză am inclus toate stadiile de boală, însă diferențe nesemnificative de supraviețuire între cele două categorii de pacienți în stadii nerezecabile de boală.

Pe de altă parte, decelarea de ADN tumoral circulant, prin alte metode cât identificarea exclusive de mutații KRAS a indicat scăderea OS și PFS în cazurile de PDAC nerezecabile.

Riscul global de bias în studiile incluse în review-ul sistematic a fost scăzut pentru - raportarea analizei statistice, considerarea factorilor de confuzie, măsurarea factorilor de prognostic și participarea la studiu și respectiv moderat pentru abandonul studiului și măsurarea rezultatelor.

Am efectuat un aldoilea review sistematic și meta-analiză evaluând rolului prognostic al biomarkerilor exosomalți în PDAC. Pacienții cu biomarkeri exosomalți pozitivi au avut OS și PFS scăzute. Detectarea biomarkerilor exosomalți înainte de intervenția chirurgicală în cazurile rezecabile a evidențiat un risc crescut de progresie. Cu toate acestea, nu am detectat o asociere semnificativă între biomarkerii exosomalți și o mortalitate precoce în stadiile nerezecabile de boală. Toți biomarkerii cercetați sunt implicați în dezvoltarea tumorală și procesele de invazie. Riscul global de bias atât pentru OS, cât și pentru PFS a fost scăzut pentru - raportarea analizei statistice, măsurarea factorilor de confuzie, evaluarea participării la studiu, măsurarea rezultatelor și respectiv moderat pentru renunțarea la studiu. Riscul de bias pentru măsurarea rezultatelor a fost moderat pentru OS și scăzut pentru PFS. Riscul global de bias a fost moderat-scăzut OS iar pentru PFS fost scăzut.

### **Concluzii**

Diagnosticul molecular în adenocarcinomul pancreatic, deși actualmente aplicat în centrele cu resurse ridicate sau predominant în scop de cercetare, va deveni indispensabil pentru un management corect al acestuia. La decelarea bolii, în cazurile cu indicație de tratament obținerea unei probe tumorale va rămâne obligatorie pentru stabilirea diagnosticului, dar aceste probe vor fi folosite și pentru efectuarea de teste moleculare. În cursul evoluției bolii, pentru evaluarea răspunsului la tratament, și monitorizarea modificărilor profilului molecular tumoral, în special al profilului mutațional și deci a oportunităților de adaptare a terapiei personalizate, vor putea fi efectuate prin metode de biopsie lichidă – probele biologice fiind obținute prin metode minim invazive, ușor de agreat de către pacient și cu costuri accesibile de prelevare. Efectuarea de teste genetice de înaltă performanță precum secvențierea de nouă generație s-a dovedit a fi fezabilă în studiul nostru atunci când se folosesc probe obținute prin puncție aspirativă cu ac fin ghidată ecoendoscopic. În plus prin meta-analizele efectuate am evidențiat un potențial real de a folosi markeri de biopsie lichidă de tip cfDNA și biomarkeri exosomalți

pentru evaluarea prognosticului în adenocarcinomul pancreatic și urmărirea răspunsului la tratament în situații clinice specifice. Astfel, obiectivele cercetării au fost atinse.

În ceea ce privește implicațiile tehnico-economice – faptul că se pot utiliza și ace de FNA pentru prelevarea de probe dedicate testelor genetice de înaltă performanță -este relevant. Tendința actuală este ca acele de biopsie să înlocuiască acele de citologie în prelevarea de material sub ghidaj ecoendoscopic în leziunile pancreatice solide. Acele de biopsie au însă încă prețuri mai mari decât cele de citologie și nu sunt accesibile pe scară largă în special în centrele mai mici. Va fi esențială însă standardizarea metodelor de procesare a probelor anterior procesului de secvențiere pentru a asigura obținerea de rezultate comparabile ale testelor genetice indiferent de metoda de prelevare a materialului dedicat acestui scop.

Legat de utilizarea biopsiei lichide în PDAC pentru evaluarea prognosticului bolii - biomarkerii de cfDNA sunt predictorii ai supraviețuirii în PDAC, iar pozitivitatea lor indică necesitatea unei monitorizări atente a pacienților. Aceștia indică un comportament tumoral mai agresiv și o posibilă progresie a bolii dacă sunt detectați în timpul tratamentului. În cazurile rezecabile, aceștia ar putea ajuta la luarea deciziei privind administrarea unei terapii neoadjuvante. Detectarea biomarkerilor exosomalii în sângele pacienților cu PDAC este asociată cu un risc crescut de mortalitate, recurență a bolii sau rezistență la chimioterapie. Deși monitorizarea vigilentă a unor astfel de cazuri pare justificată, efectuarea de studii prospective în care deciziile terapeutice consideră și biomarkerii exosomalii sunt încă necesare înainte de a dezvolta recomandări clare cu privire la utilizarea lor pentru ghidarea managementului PDAC. Lipsa unor metode standard de pe de o parte de detectare a acestui tip de biomarkeri și pe de altă parte de procesare a probelor dedicate acestui scop și în plus, inaccesibilitatea acestor metode (rezultată din costurile ridicate accesul la aparatură performantă și personal dedicate), previn momentan utilizarea lor de rutină în clinică. Dezvoltarea kiturilor de izolare – atât pentru cfDNA cât și pentru exosomi adresează atât necesitatea scăderii costurilor cât și aceea de uniformizare a metodelor utilizate.

Pentru consolidarea dovezilor actuale și formularea de recomandări cu caracter de ghid internațional este necesară utilizarea testelor genetice pentru ghidarea managementului PDAC în studii prospective randomizate controlate care să includă toate stadiile de boală. În special

pentru biomarkerii de biopsie lichidă studiile trebuie să includă perioade de urmărire sufficient de lungi pentru o aproximare corectă a impactului acestora asupra prognosticului bolii. .

## Bibliografie

1. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, Asbun H, Bain A, Behrman SW, et al. Pancreatic adenocarcinoma, version 2.2017: Clinical practice guidelines in Oncology. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw.* 2017;15(8):1028–61; 10.6004/jnccn.2017.0131; 28784865.
2. 2020\_ GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.pdf.
3. Winter K, Talar-Wojnarowska R, Dąbrowski A, Degowska M, Durlík M, Gąsiorowska A, et al. Diagnostic and therapeutic recommendations in pancreatic ductal adenocarcinoma. Recommendations of the working group of the Polish Pancreatic Club. *Prz Gastroenterol.* 2019;14(1):1-18;10.5114/pg.2019.83422; PMID: 30944673.
4. Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10242):2008–20. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30974-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30974-0)
5. Tumas J, Baskirova I, Petrenas T, Norkuniene J, Strupas K, Sileikis A. Towards a personalized approach in pancreatic cancer diagnostics through plasma amino acid analysis. *Anticancer Res.* 2019;39(4):2035–42.
6. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, Price TJ, Falchook GS, Wolf J, et al. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Jun 24;384(25):2371–81. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2103695>
7. Study of MRTX1133 in Patients With Advanced Solid Tumors Harboring a KRAS G12D Mutation [Internet]. [cited 2023 Jun 14]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05737706>
8. Chen L, Zhang Y, Cheng Y, Zhang D, Zhu S, Ma X. Prognostic value of circulating cell-free DNA in patients with pancreatic cancer : A systemic review and meta-analysis. *Gene* [Internet]. 2018;679(July):328–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.09.029>
9. Dumonceau JM, Deprez PH, Jenssen C, Iglesias-Garcia J, Larghi A, Vanbiervliet G, et al. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline - Updated January 2017. *Endoscopy.* 2017;49(7):695–714; 10.1055/s-0043–

- 109021; PMID: 28511234.
10. Costache MI, Iordache S, Costache CA, Dragos E, Dragos A, Saftoiu A. Molecular Analysis of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Receptors in EUS-guided Samples Obtained from Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. *J Gastrointest Liver Dis* [Internet]. 2017 Mar;26(1):51-57;10.15403/jgld.2014.1121.261.eus; PMID: 28338. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28338114>
  11. Roos E. Pow, Maximilien Barret, Katharina Biermann, Raf Bicchops, Laszo Czaki, Kristina B. Gecse, Mario Dinis-Ribeiro JE van H. Endoscopic tissue sampling - Part1: Upper gastrointestinal and hepatobiliary tracts. *European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. Endoscopy.* 2021;53(11):1174–88; 10.1055/a-1611-5091 ; PMID: 34535035.
  12. Sivapalan L, Kocher HM, Ross-adams H, Chelala C. Molecular profiling of ctDNA in pancreatic cancer : Opportunities and challenges for clinical application. *Pancreatology.* 2021;21(2):363–78.
  13. Botrus, G, Kosirorek, H, Sonbol B et al. Circulating Tumor DNA-Based Testing and Actionable Findings in Patients with Advanced and Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *Oncol.* 2021;25(1):1–10.
  14. Hammel P, Fabienne P, Mineur L, Metges JP, Andre T, De La Fouchardiere C, et al. Erythrocyte-encapsulated asparaginase (eryaspase) combined with chemotherapy in second-line treatment of advanced pancreatic cancer: An open-label, randomized Phase IIb trial. *Eur J Cancer.* 2020;124:91–101.
  15. Pietrasz D, Pécuchet N, Garlan F, Didelot A, Dubreuil O, Doat S, et al. Plasma circulating tumor DNA in pancreatic cancer patients is a prognostic marker. *Clin Cancer Res.* 2017;23(1):116–23.
  16. Hadano N, Murakami Y, Uemura K, Hashimoto Y, Kondo N, Nakagawa N, et al. Prognostic value of circulating tumour DNA in patients undergoing curative resection for pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2016;115(1):59–65.
  17. Sausen M, Phallen J, Adleff V, Jones S, Leary RJ, Barrett MT, et al. Clinical implications of genomic alterations in the tumour and circulation of pancreatic cancer patients. *Nat Commun.* 2015;6(7686):1–15.
  18. Guo S, Shi X, Shen J, Gao S, Wang H, Shen S, et al. Preoperative detection of KRAS



- G12D mutation in ctDNA is a powerful predictor for early recurrence of resectable PDAC patients. *Br J Cancer*. 2020;122(6):857–67.
19. Qi Z, Xu H, Zhang S, Xu J, Li S, Gao H. The Significance of Liquid Biopsy in Pancreatic Cancer. *J Cancer*. 2018;9(Figure 1):3417–26.
  20. Sun W, Ren Y, Lu Z, Zhao X. The potential roles of exosomes in pancreatic cancer initiation and metastasis. *Mol Cancer*. 2020;19(135):1–18.
  21. Sorop A, Constantinescu D, Cojocaru F, Dinischiotu A, Cucu D, Dima SO. Exosomal microRNAs as biomarkers and therapeutic targets for hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9).
  22. Nsenga A, Gabriel A, Wang F, Jiao Q, Yvette U, Yang X, et al. The involvement of exosomes in the diagnosis and treatment of pancreatic cancer. *Mol Cancer*. 2020;19(132):1–9.
  23. Costa-silva B, Aiello NM, Ocean AJ, Singh S, Zhang H, Thakur BK, et al. Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver. 2015;17(6).
  24. Kawamura S, Inuma H, Wada K, Takahashi K, Minezaki S, Kainuma M, et al. Exosome-encapsulated microRNA-4525, microRNA-451a and microRNA-21 in portal vein blood is a high-sensitive liquid biomarker for the selection of high-risk pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2019;26(2):63–72.
  25. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 ( MISEV2018 ): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. 2018;3078.

## Lista lucrărilor științifice publicate

1. **Bunduc, S.**, Varzaru, B., Iacob, R. A., Sorop, A., Manea, I., Spiridon, A., Chelaru, R., Croitoru, A. E., Becheanu, G., Dumbrava, M., Dima, S., Popescu, I., & Gheorghe, C. (2023). Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration pancreatic adenocarcinoma samples yield adequate DNA for next-generation sequencing: A cohort analysis. *World journal of gastroenterology*, 29(18), 2864–2874. Indexare CAB Abstracts, Chemical Abstracts, Current Contents/Clinical Medicine, Index Medicus/MEDLINE/PubMed/PubMed Central, Science Citation Index Expanded, factor de impact 5.374 <https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i18.2864> (rezultate prezentate în cadrul Capitolului 1)
2. **Bunduc, S.**, Gede, N., Vánca, S., Lillik, V., Kiss, S., Dembrovsky, F., Eröss, B., Szakács, Z., Gheorghe, C., Mikó, A., & Hegyi, P. (2022). Prognostic role of cell-free DNA biomarkers in pancreatic adenocarcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Critical reviews in oncology/hematology*, 169, 103548. Indexare: Embase, Scopus, Web of Science, PubMed/Medline,, factor de impact 6,625 <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2021.103548> (rezultate prezentate în cadrul Capitolului 2)
3. **Bunduc, S.**, Gede, N., Vánca, S., Lillik, V., Kiss, S., Juhász, M. F., Eröss, B., Szakács, Z., Gheorghe, C., Mikó, A., & Hegyi, P. (2022). Exosomes as prognostic biomarkers in pancreatic ductal adenocarcinoma-a systematic review and meta-analysis. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*, 244, 126–136. Indexare: Academic, OneFile, BIOSIS Previews, CAB Abstracts, CINAHL, Current Contents/Clinical Medicine, Current Contents/Life Sciences, Elsevier BIOBASE, Embase, GeoRef, Global Health, Index Medicus/MEDLINE/PubMed, Science Citation Index, Scopus, Tropical Diseases Bulletin , factor de impact 10,171 <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2022.01.001> (rezultate prezentate în cadrul Capitolului 3)