



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA” din BUCUREȘTI



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

***UTILIZAREA BIOPSIEI LICHIDE PENTRU
CARACTERIZAREA DIN PUNCT DE VEDERE
MOLECULAR A ADENOCARCINOMULUI DUCTAL
PANCREATIC***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. GHEORGHE CRISTIAN

Student-doctorand:

STOICA (căs. VĂRZARU) BIANCA

ANUL 2026

Cuprins

Introducere.....	1
I. PARTEA GENERALĂ.....	5
Capitolul 1. Adenocarcinomul ductal pancreatic: tendințe în epidemiologie, factori de risc, principii de tratament și rezultate	5
Capitolul 2. Biopsia lichidă în adenocarcinomul ductal pancreatic	27
II. PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE	35
Capitol 3. Ipoteza de lucru și obiective generale	35
Capitol 4. Chimioterapia paliativă în adenocarcinomul ductal pancreatic – rezultate din viața reală	37
4.1 Introducere.....	37
4.2 Materiale și metode	38
4.3 Rezultate.....	40
4.3.1 Caracteristicile pacienților.....	40
4.3.2. Analiza statistică.....	41
4.4 Discuții	50
4.5 Concluzii	55
Capitol 5. Valoarea prognostică a concentrației de ADN liber circulant și a raportului neutrofile-limfocite la pacienții cu adenocarcinom ductal pancreatic: un studiu de cohortă prospectiv.....	57
5.1 Introducere.....	57
5.2. Pacienți și metode.....	58
5.3. Rezultate.....	69
5.3.1. Caracteristicile pacienților.....	69
5.3.2. Contribuții privind măsurarea concentrației de ccfDNA și corelațiile cu caracteristicile clinice și tumorale	71
5.3.3. Analiza supraviețuirii.....	73
5.3.4. Concentrația mai mare de ccfDNA și NLR sunt asociate cu o supraviețuire mai scurtă la pacienții cu PDAC	74
5.3.5. Combinarea concentrației de ccfDNA și a valorilor NLR îmbunătățește semnificativ acuratețea prognostică a pacienților cu PDAC	76
5.4. Discuții	78
5.5. Concluzii	83

Capitol 6. Supraviețuirea pe termen lung în adenocarcinomul ductal pancreatic rezecat cu co-mutație KRAS G12D/SMAD4: perspective dintr-un raport de caz și revizuire a literaturii de specialitate	84
6.1 Introducere.....	84
6.2. Prezentare de caz	86
6.3. Discuții	100
6.4. Concluzii	110
Capitolul 7. Concluzii și contribuții personale.....	111
7.1. Contribuțiile personale	111
7.2. Concluzii	114
Bibliografie.....	116

Introducere

Adenocarcinomul ductal pancreatic (PDAC) rămâne o provocare semnificativă de sănătate publică la nivel mondial. Debutul său insidios, adesea cu simptome nespecifice în stadii avansate, împiedică detectarea precoce și limitează opțiunile de tratament curativ. În ciuda progreselor înregistrate în terapiile sistemice, inclusiv terapiile țintite în anumite subgrupuri moleculare, rata de supraviețuire la 5 ani rămâne scăzută.

Paradigma modernă a oncologiei clinice pentru pacienții cu PDAC este de a îmbunătăți tratamentul chimioterapic pe baza biomarkerilor selectivi. Apariția biopsiei lichide oferă noi orizonturi pentru diagnosticarea precoce și prognosticul tumorilor. În prezent, aplicarea biopsiei lichide în detectarea tumorilor a primit o atenție sporită, cunoscând în prezent un progres rapid și având un potențial semnificativ pentru aplicații viitoare.

Ipoteza de lucru a prezentei teze este aceea că analiza cantitativă a ccfDNA și detectarea mutațiilor specifice tumorale utilizând biopsia lichidă pot determina prognosticul pacienților, răspunsul la tratament și recurența PDAC.

Obiectivele generale cuprind: (a) compararea eficacității schemelor de chimioterapie disponibile în țara noastră (FOLFIRINOX, gemcitabină în monoterapie și regimuri bazate pe gemcitabină) și identificarea factorilor prognostici ai supraviețuirii globale (OS) și ai supraviețuirii fără progresia bolii (PFS) într-un cadru real, precum și stabilirea dinamicii de recrutare a pacienților cu PDAC și a particularităților clinice - în acest scop s-a actualizat baza de date de tumori pancreatice a Clinicii de Gastroenterologie și Hepatologie (Institutul Clinic Fundeni, București) și s-a efectuat un studiu retrospectiv ce a inclus pacienții diagnosticați cu PDAC metastatic (mPDAC) între 2015 și 2017; (b) investigarea corelațiilor dintre cantitatea plasmatică de ccfDNA și caracteristicile clinice și tumorale, precum și valoarea prognostică a concentrației plasmatice de ADN liber circulant (ccfDNA) și a raportului neutrofile-leucocite (NLR) la pacienții cu PDAC – analiză efectuată printr-un studiu prospectiv de cohortă ce a inclus pacienții diagnosticați cu PDAC în toate stadiile între octombrie 2018 și decembrie 2021; (c) evidențierea valorii potențiale

a integrării modificărilor moleculare cu biomarkeri inflamatori și ai biopsiei lichide (nivelurile NLR și ccfDNA), pentru îmbunătățirea stratificării riscului în PDAC - în acest scop s-a prezentat un caz clinic și s-a efectuat o revizuire narativă a literaturii, subliniind tratamentele disponibile și semnificația lor clinică.

I. PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Adenocarcinomul ductal pancreatic: tendințe în epidemiologie, factori de risc, principii de tratament și rezultate

La nivel global, cancerul pancreatic este al 12-lea cel mai frecvent tip de cancer și a 7-a cea mai frecventă cauză de deces legat de cancer [1]. Diagnosticul precoce este important pentru îmbunătățirea prognosticului pacienților cu PDAC. Debutul PDAC este insidios, iar majoritatea pacienților sunt diagnosticați în stadiul de boală avansată, limitând opțiunile de tratament curativ [1,2]. Progresele în caracterizarea moleculară a PDAC au identificat potențiale ținte terapeutice [3]. O dezvoltare cheie a fost identificarea factorilor moleculari vizabili care contribuie la progresia PDAC.

Capitolul 2. Biopsia lichidă în adenocarcinomul ductal pancreatic

Biopsia lichidă este o metodă minim invazivă de colectare a probelor care se concentrează pe sânge sau secreții corporale pentru detectarea modificărilor moleculare, a celulelor tumorale și a metaboliților [4]. Mai mulți markeri moleculari pot fi detectați prin biopsie lichidă, cum ar fi celulele tumorale circulante (CTC), ADN-ul tumoral circulant (ctADN), veziculele extracelulare derivate din tumoră (EV), trombocitele instruite de tumoră (TEP) și ARN-ul liber circulant (cfRNA) [5]. *ADN-ul liber circulant (ccfDNA)* reprezintă fragmente de ADN care circulă în fluxul sanguin și poate fi obținut printr-o simplă recoltare de sânge.

Studiul ADN-ului liber circulant în plasmă/ser (cfDNA) implică două strategii majore: măsurarea cantității de cfDNA și detectarea aberațiilor genetice derivate din tumori, cum ar fi mutațiile punctuale, dezechilibrele alelice, instabilitatea microsateliților, polimorfismele genetice, pierderea heterozigoției și metilarea. Dintre acestea, numeroase rapoarte au demonstrat detectarea modificărilor genetice și epigenetice în cfDNA în fluxul sanguin al pacienților cu cancer [6–9].

Peisajul genetic al genomurilor tumorale pancreatice este caracterizat de prezența a patru gene frecvent mutate, reprezentate de: KRAS (90%), CDKN2A (p16, 90%), TP53 (70%) și SMAD4 (55%). Aceste patru gene (KRAS, TP53, CDKN2A și SMAD4) sunt considerate gene driver pentru PDAC.

Per ansamblu, biopsia lichidă are potențialul de a ne permite să diagnosticăm într-un stadiu incipient, să prezicem prognosticul, să urmărim starea actuală, cum ar fi eficacitatea terapeutică sau rezistența la tratament, și să oferim strategii de tratament optime și individuale pentru pacienții cu cancer, adică tratament personalizat. Dezvoltarea biopsiei lichide ar putea oferi numeroase beneficii pacienților cu cancer, în special pacienților cu PDAC. Recent, tehnicile de biopsie lichidă se mută treptat din practica de laborator în cea clinică.

II. PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitol 3. Ipoteza de lucru și obiective generale

Ipoteza de lucru a prezentei teze este aceea că analiza cantitativă a ccfDNA și detectarea mutațiilor specifice tumorale utilizând biopsia lichidă pot determina prognosticul pacienților, răspunsul la tratament și recurența PDAC.

Obiectivele generale cuprind:

- compararea eficacității schemelor de chimioterapie disponibile în țara noastră (FOLFIRINOX, gemcitabină în monoterapie și regimuri bazate pe gemcitabină) și identificarea factorilor prognostici ai OS și ai PFS într-un cadru real, precum și stabilirea dinamicii de recrutare a pacienților cu PDAC și a particularităților clinice - în acest scop s-a actualizat baza de date de tumori pancreatice a Clinicii de Gastroenterologie și Hepatologie (Institutul Clinic Fundeni, București) și s-a efectuat un studiu retrospectiv ce a inclus pacienții diagnosticați cu PDAC metastatic (mPDAC) între 2015 și 2017;
- investigarea corelațiilor dintre cantitatea plasmatică de ccfDNA și caracteristicile clinice și tumorale, precum și valoarea prognostică a concentrației plasmatice de ccfDNA și a NLR la pacienții cu PDAC – analiză efectuată printr-un studiu prospectiv de cohortă ce a inclus pacienții diagnosticați cu PDAC în toate stadiile între octombrie 2018 și decembrie 2021;
- evidențierea valorii potențiale a integrării modificărilor moleculare cu biomarkeri inflamatori și ai biopsiei lichide (nivelurile NLR și ccfDNA), pentru îmbunătățirea stratificării riscului în PDAC - în acest scop s-a prezentat un caz clinic și s-a efectuat o revizuire narativă a literaturii, subliniind tratamentele disponibile și semnificația lor clinică.

Capitol 4. Chimioterapia paliativă în adenocarcinomul ductal pancreatic – rezultate din viața reală

Într-un studiu retrospectiv de cohortă am analizat comparativ eficacitatea schemelor de chimioterapie disponibile în țara noastră (FOLFIRINOX vs regimuri bazate pe gemcitabină vs gemcitabină în monoterapie). Am analizat datele de la 83 de pacienți consecutivi diagnosticați cu mPDAC între 2015 și 2017 în Departamentul de Oncologie al Institutului Clinic Fundeni (București, România) și am analizat comparativ PFS și OS medii pentru fiecare linie de chimioterapie, precum și ratele de OS la 6, 12, 18 și 24 de luni în fiecare. Ulterior am utilizat un model de regresie Cox pentru a evalua relația dintre caracteristicile pacienților și supraviețuire, luând în considerare factori precum vârsta, sexul, localizarea tumorii, diabetul zaharat, status de performanță conform Grupului European de Cooperare Oncologică (ECOG-PS), schemele terapeutice administrate în linia întâi (L1) și a doua (L2) de chemoterapie paliativă, antigenul carbohidrat 19-9 (CA 19-9) și NLR la momentul diagnosticului.

În cadrul acestei lucrări, toate datele au fost analizate utilizând software-ul statistic SPSS (IBM SPSS Statistics 20.0). Conform metodei Kaplan-Meier, s-a efectuat o analiză a supraviețuirii, iar curbele de supraviețuire au fost comparate folosind testul log-rank, considerând $p < 0,05$ semnificativ statistic. Valoarea cut-off optimă pentru NLR inițial a fost determinată folosind o analiză a caracteristicii operaționale a receptorului (ROC) dependentă de timp, considerând supraviețuirea la 6 luni ca punct de referință.

Analiza multivariată a supraviețuirii a fost efectuată în continuare folosind modelul de regresie Cox, incluzând în analiză variabilele care s-au dovedit a fi semnificative ($p < 0,05$) în analiza univariată și ajustând în funcție de vârstă și statusul de performanță ECOG. Obiectivele studiului au fost de a evalua eficacitatea schemelor de chimioterapie utilizate în țara noastră și de a identifica variabilele care influențează OS și PFS în lumea reală.

Rezultatele acestui studiu au demonstrat că vârsta peste 70 de ani, nivelurile crescute de CA 19-9, $NLR > 4,15$ și tumorile localizate în corpul pancreatic au influențat negativ supraviețuirea fără progresie sub linia întâi de chimioterapie (PFS-L1), în timp ce

ECOG-PS 0/1 a fost asociat cu PFS-L1 prelungit. Sexul masculin, ECOG-PS 0/1 și prima linie de chimioterapie cu FFX (vs. Gem) au fost asociate cu o OS mai bună, în timp ce creșterea NLR a fost corelată cu o OS scăzută. În același timp, pacienții cu valori crescute ale CA 19-9 la momentul diagnosticării au avut o OS mai mică și, indiferent de regimul administrat în linia a doua, cei care au primit mai întâi FFX au avut o supraviețuire fără progresia bolii sub linia a doua de chimioterapie (PFS-L2) și OS-L2 semnificativ mai mari decât cei care au primit alt regim în prima linie.

În acest studiu, aproximativ o treime dintre pacienți au primit chimioterapie de linia a doua și, indiferent de regimul administrat în linia a doua, cei care au primit mai întâi FFX au avut PFS-L2 și OS-L2 semnificativ mai mari decât cei care au primit alt regim în prima linie. Informațiile disponibile cu privire la strategiile de tratament pentru cancerul pancreatic în Europa de Est sunt foarte limitate. Din câte știm, acesta este primul studiu care compară eficacitatea opțiunilor de chimioterapie paliativă pentru mPDAC disponibile în România la momentul publicării acestui studiu. Considerăm că rezultatele cercetării noastre pot fi utile în asistarea oncologilor în luarea deciziilor cu privire la alegerea schemelor de chimioterapie, având în vedere dificultățile pe care le întâmpină în controlul mPDAC.

Există unele limitări ale acestei cercetări, întrucât este un studiu retrospectiv efectuat într-un singur centru pe un număr mic de pacienți. În plus, din cauza caracterului retrospectiv al studiului, nu au putut fi colectate informații despre efectele psihosociale sau emoționale ale pacienților, în ciuda faptului că un număr tot mai mare de cercetări sugerează o legătură între stresul psihologic și mortalitatea cancer-specifică. Pentru a confirma constatările noastre, considerăm că este necesară o validare prospectivă multicentrică, la nivel național.

Capitol 5. Valoarea prognostică a concentrației de ADN liber circulant și a raportului neutrofile-limfocite la pacienții cu adenocarcinom ductal pancreatic: un studiu de cohortă prospectiv

Acest studiu observațional prospectiv a fost efectuat într-un centru terțiar de gastroenterologie din București, România, între octombrie 2018 și decembrie 2021. Ne-am propus să investigăm corelațiile dintre cantitatea plasmatică de ccfDNA și caracteristicile clinice și tumorale, precum și valoarea prognostică a concentrației plasmatice de ccfDNA și a NLR la pacienții cu PDAC. Astfel, a fost evaluată relația dintre nivelurile de ccfDNA și vârstă, sex, caracteristicile tumorii, ECOG-PS, stadiul tumorii, statusul metastatic sau parametrii biologici (CA 19-9, NLR).

Diagnosticul de PDAC a fost stabilit prin EUS-FNA. S-au recoltat 25 ml de sânge periferic din care s-a izolat cu succes ccfDNA plasmatic. Procedura de izolare a ccfADN-ului plasmatic este prezentată în detaliu în textul tezei de doctorat (Capitolul 5.2).

Analizele statistice au fost efectuate utilizând SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, versiunea 27.0, Armonk, NY, SUA: IBM Corp.) și software-ul R versiunea 4.0.2. Toate testele au fost bilaterale (two-sided), considerând $p < 0,05$ pentru semnificație statistică. Datele lipsă au fost excluse automat din analize. Variabilele continue au fost raportate ca mediane și interval intercuartil (IQR), iar variabilele categorice ca frecvență (%). Coeficientul de corelație Pearson și testul Mann-Whitney U au fost aplicate pentru variabilele categorice și, respectiv, continue, pentru a determina asocierea statistică dintre concentrațiile de ccfDNA și caracteristicile tumorii, ECOG-PS sau parametrii biologici (CA 19-9, NLR). Când au fost comparate mai mult de două grupuri (cum ar fi stadiul tumorii sau statusul metastatic), s-a utilizat analiza variației unidirecționale (ANOVA).

Pentru analiza supraviețuirii, am dihotomizat concentrația de ccfDNA la o valoare limită de 25,79 ng/mL utilizând o statistică de rang selectată maxim prin Monte-Carlo condiționat (R Software versiunea 4.0.2, pachetul maxstat) [10,11]. Acest lucru ne-a permis să clasificăm observațiile în două grupuri pe baza unei variabile predictor ordinale (independente). O analiză a caracteristicii operaționale a receptorului (ROC) dependentă

de timp a fost efectuată utilizând supraviețuirea la 6 luni ca punct de referință pentru a determina valoarea limită (cut-off) optimă pentru NLR inițial (cut-off 3,31, AUC 0,331, $p = 0,009$). Estimarea ratelor de supraviețuire a fost efectuată cu metoda Kaplan-Meier, iar curbele de supraviețuire au fost comparate utilizând testul log-rank, considerând $p < 0,05$ pentru semnificație statistică.

Analiza multivariată a supraviețuirii a fost efectuată în continuare utilizând modelul de regresie Cox, incluzând în analiză variabilele care s-au dovedit a fi semnificative ($p < 0,05$) sau aproape semnificative în analiza univariată și ajustând în funcție de vârstă și ECOG-PS. Caracteristicile inițiale (vârsta, sexul, localizarea tumorii, dimensiunea, stadiul, statusul metastatic, ECOG-PS, prezența diabetului zaharat, CA 19-9, NLR), precum și concentrația ccfDNA, au fost analizate în ceea ce privește semnificația lor prognostică.

Combinăția NLR cu concentrația ccfDNA a fost, de asemenea, analizată și au fost atribuite valori pozitive și negative atunci când NLR sau concentrația ccfDNA au fost peste (pozitiv) sau sub (negativ) cut-off-ul de valoare prognostică în OS; am definit trei grupuri: ambele pozitive (PP), unul pozitiv (PN), ambele negative (NN) [12]. Per total, supraviețuirea a fost definită ca timpul de la diagnostic până la deces din cauza complicațiilor legate de cancerul pancreatic sau până la sfârșitul urmăririi. Datele privind supraviețuirea au fost cenzurate la ultima evaluare. Data limită pentru urmărire a fost 15 mai 2023.

5.3. Rezultate

Rezultatele noastre au indicat o corelație între nivelurile plasmatice crescute de ccfDNA și vârsta de peste 55 de ani, invazia venoasă și arterială și numărul crescut de metastaze. De asemenea, am demonstrat că asocierea NLR cu nivelurile de ccfDNA îmbunătățește semnificativ capacitatea prognostică și oferă o stratificare precisă a riscului de supraviețuire.

În analizele univariate, dimensiunea tumorii (HR 1,02, CI 95% 1,01–1,04, $p = 0,004$); statusul metastatic: M0 vs. PDAC oligo-metastatic (HR 2,09, CI 95% 1,13–3,84, $p = 0,018$) și M0 vs. PDAC multi-metastatic (HR 2,53, CI 95% 1,49–4,29, $p = 0,001$); stadiul I/II vs. IV (HR 2,08, CI 95% 1,16–3,73, $p = 0,013$); NLR $\geq 3,31$ (HR 0,58, CI 95% 0,37–

0,91, $p = 0,017$); concentrația de ccfDNA $\geq 25,79$ ng/ml (HR 0,46, CI 95% 0,25–0,86, $p = 0,015$) și combinația dintre NLR și concentrația de ccfDNA: NN vs. PN (HR 1,62, CI 95% 1,01–2,62, $p = 0,048$) și NN vs. PP (HR 3,21, CI 95% 1,51–6,83, $p = 0,002$), au fost factori prognostici independenți pentru OS.

Analizele NLR-ului au demonstrat că valorile mai mari ($\geq 3,31$) au fost asociate cu o OS mai mică (4 vs. 10 luni; log-rank $p = 0,011$). În modelul de regresie Cox multivariată, ce a inclus NLR dihotomizat și concentrația de ccfDNA dihotomizată, factorii prognostici independenți ai OS au fost: dimensiunea tumorii (HR 1,02, CI 95% 1,00–1,03, $p = 0,049$), statusul metastatic: M0 vs. PDAC oligo-metastatic (HR 3,78, CI 95% 1,17–12,19, $p = 0,026$) și M0 vs. PDAC multi-metastatic (HR 5,37, CI 95% 1,33–21,62, $p = 0,018$) și nivelurile de ccfDNA $\geq 25,79$ ng/mL (HR 0,45, CI 95% 0,21–0,97, $p = 0,041$). Combinația dintre NLR și concentrația de ccfDNA a fost, de asemenea, analizată și s-a constatat o îmbunătățire a supraviețuirii globale (NN vs. PP: 10 vs. 3 luni, $p = 0,0003$ și NN vs. PN: 10 vs. 6 luni, $p = 0,038$).

Analiza multivariată, incluzând combinarea nivelurilor ccfDNA cu NLR, a relevat că statusul metastatic și combinarea nivelurilor ccfDNA cu NLR au fost factorii prognostici independenți ai OS. PDAC metastatic (oligo- sau multi-metastatic) a fost asociat cu o OS mai slabă în comparație cu boala non-metastatică (M0 vs. PDAC oligo-metastatic: HR 3,78, CI 95% 1,17–12,21, $p = 0,026$ și M0 vs. PDAC multi-metastatic: HR 5,73, CI 95% 1,40–23,37, $p = 0,015$). Mai mult, când nivelurile ccfDNA și NLR au fost combinate, pacienții cu NN au prezentat o OS semnificativ mai lungă decât pacienții cu PN sau PP (NN vs. PN (HR 1,56, CI 95% 0,93–2,63, $p = 0,092$) și NN vs. PP (HR 2,81, CI 95% 1,11–7,15, $p = 0,030$)).

În concluzie, acest studiu susține concentrația de ccfDNA și nivelurile NLR ca instrumente promițătoare pentru evaluarea prognostică neinvazivă a pacienților cu PDAC și demonstrează că combinarea NLR cu nivelurile de ccfDNA îmbunătățește semnificativ capacitatea prognostică și oferă o stratificare precisă a riscului de supraviețuire. Studiile ulterioare ar trebui să valideze această combinație ca indicator prognostic la pacienții cu DAC și să evalueze utilitatea acesteia pentru ghidarea deciziilor terapeutice.

Capitol 6. Supraviețuirea pe termen lung în adenocarcinomul ductal pancreatic rezecat cu co-mutație KRAS G12D/SMAD4: perspective dintr-un raport de caz și revizuire a literaturii de specialitate

Valoarea potențială a integrării modificărilor moleculare cu biomarkeri inflamatori și ai biopsiei lichide (nivelurile NLR și ccfDNA) a fost subliniată printr-un caz clinic rar de PDAC diagnosticat incidental, prezentând o co-mutație KRAS G12D/SMAD4, care a atins o perioadă prelungită de boală stabilă și supraviețuire globală și o revizuire narativă a literaturii. Prin intermediul acestui caz, am dorit să demonstrăm semnificația prognostică a concentrației NLR și a ccfDNA, evidențiind faptul că valorile scăzute ale acestor biomarkeri la momentul diagnosticului pot avea un impact pozitiv asupra prognosticului pacientului chiar și în prezența mutațiilor patogene.

Apariția concomitentă a mutațiilor KRAS G12D și SMAD4 definește un subtip molecular cu risc ridicat, asociat în mod obișnuit cu un prognostic slab, potențial metastatic ridicat și răspuns limitat la chimioterapia standard. Acest articol raportează un caz rar de PDAC diagnosticat incidental, prezentând o co-mutație KRAS G12D/SMAD4, care a atins o perioadă prelungită de boală stabilă și supraviețuire globală și prezintă o revizuire narativă a literaturii, subliniind tratamentele disponibile și semnificația lor clinică.

În acest capitol a fost prezentat cazul unei paciente în vârstă de 71 de ani, supusă unei colonografii de screening prin tomografie computerizată (colo-CT) în iunie 2019, care a evidențiat o formațiune tumorală localizată la nivelul corpului pancreatic cu diametrul de aproximativ 25 mm, ce manșona confluentul portal și îl stenoza, însă fără invazie arterială și fără adenopatii. Testele de laborator au arătat că nivelurile de CA19-9, CEA, AFP și bilirubina totală s-au încadrat în intervalele normale. Pacienta a fost supusă unei EUS-FNA a masei pancreatice, care a confirmat diagnosticul de adenocarcinom ductal pancreatic (PDAC) bine diferențiat.

ADN-ul celular liber circulant (ccfDNA) și ADN-ul genomic (ADNg) au fost izolate folosind aceleași protocoale pe care le-am detaliat în cercetările noastre anterioare

[13,14]. Concentrația de ccfDNA a fost cuantificată folosind un fluorometru Qubit 3.0 (Life Technologies) și măsurată în ng/ μ L, ccfDNA fiind eluat în 25 μ L de apă ultrapură, iar raportul neutrofile-limfocite (NLR) a fost calculat ca un raport simplu între numărul de neutrofile și limfocite din sângele periferic. În consecință, concentrația de ccfDNA a fost de 6,3 ng/ml, iar NLR a fost de 4,49. Ulterior, secvențierea de nouă generație (NGS) ținută bazată pe ampliconi a fost efectuată folosind platforma Illumina NextSeq 500. Analiza NGS a evidențiat o mutație patogenă în KRAS (G12D), împreună cu modificări ale genelor SMAD4, ARID1A, TSC2, TP53, EGFR și ERBB2 (HER2), acestea fiind cele mai frecvente mutații patogene identificate în probele de FNA sau în ambele probe (de FNA și de ccfDNA).

Cazul a fost prezentat în ședința multidisciplinară la care au participat chirurghi, oncologi, anatomopatologi și radiologi; echipa multidisciplinară a stabilit că tumora pancreatică era rezecabilă și s-a recomandat intervenția chirurgicală.

Astfel, pacienta a fost supusă unei pancreatectomii distale cu splenectomie și rezecție laterală a venei porte (PDAC pT2N1Mx, LVI+, Pnl+, stadiul IIB - ediția a 8-a a AJCC) [15], ulterior prezentând numeroase complicații postoperatorii.

Tratamentul adjuvant cu gemcitabină în monoterapie a fost inițiat în noiembrie 2019 din cauza statusului de performanță scăzut al pacientulei (ECOG PS 2-3) și a fost continuat până în aprilie 2020, când tomografia computerizată de restadializare a evidențiat progresia bolii .

Pacienta a fost tratată cu un regim terapeutic pe bază de gemcitabină (gemcitabină plus capecitabină) din mai 2020 până în octombrie 2021. Stabilitatea bolii a fost atinsă în primele șase cicluri de tratament. Cu toate acestea, nivelul CA 19-9 (144 U/L) a crescut în noiembrie 2021, iar o leziune nodulară hepatică nou apărută la tomografia computerizată a indicat o boală progresivă. Tratamentul cu irinotecan lipozomal (Onivyde®) plus 5-fluorouracil (5-FU) a fost inițiat în decembrie 2021 și a fost administrat până în august 2022, când tumora a progresat și a invadat vena mezenterică superioară, artera mezenterică superioară și trunchiul celiac, iar nivelurile de CA19-9 au crescut din nou la 114 U/L. În septembrie 2022, regimul terapeutic cu mFOLFOX6 a fost inițiat după ce comitetul de oncologie a revizuit cazul și a optat pentru schimbarea tratamentului.

Boala a fost stabilă până în aprilie 2023, când starea pacientului a început să se deterioreze, iar nivelul CA19-9 a crescut semnificativ (555 U/L). Imagistica a confirmat progresia dimensională a leziunii nodulare hepatice și existența nodulilor intraperitoneali. Din păcate, starea pacientului s-a agravat în următoarele luni, iar în noiembrie 2023, după o supraviețuire globală de 53 de luni, pacienta a decedat.

Prezența concomitentă a mutațiilor KRAS G12D și SMAD4 definește un subtip molecular cu risc ridicat, frecvent asociat cu un prognostic slab, potențial metastatic crescut și răspuns limitat la chimioterapia standard [16–20]. Mutația TP53, observată frecvent în PDAC, contribuie la biologia agresivă, reflectând un grad ridicat de instabilitate genomică și rezistență la apoptoză [17,21–23]. Modificările ARID1A și TSC2 sugerează în continuare dereglarea epigenetică și, respectiv, activarea căii mTOR, ambele fiind legate de progresia tumorii și rezistența la tratament [24–27].

În momentul analizei NGS, frecvența mutației SMAD4 (VAF) a fost extrem de scăzută, dar, având în vedere fenotipul agresiv generat de aceste mutații, aceasta ar putea fi extrem de semnificativă în timpul monitorizării pacienților.

În acest caz, co-apariția mutațiilor RYR2 și TSC2 ar putea sugera perturbarea căilor de homeostazie celulară, inclusiv activarea mTOR și răspunsurile la stres dependente de calciu. Deși în prezent nu pot fi acționate, aceste descoperiri susțin complexitatea biologică a tumorii și pot informa viitoarele investigații mecanistice sau terapeutice.

În cazul prezentat, în timpul primei linii de chimioterapie (regim pe bază de gemcitabină), supraviețuirea fără progresia bolii a fost de 18 luni, fiind similară cu datele prezentate în studiul ESPAC4 [28,29]; sub cea de-a doua linie de chimioterapie (onivyde® + 5-FU), PFS a fost de 9 luni (spre deosebire de studiul NAPOLI-1, unde PFS mediana a fost de 6,1 luni [30]). De asemenea, valorile markerilor tumorali ai pacientului au scăzut semnificativ pe parcursul celei de-a doua linii de chimioterapie. Mai mult, deși discutăm despre un pacient cu mai multe complicații postoperatorii care au dus la o stare generală alterată la momentul inițierii chimioterapiei, pacientul nu a prezentat reacții adverse majore în timpul tratamentului chimioterapeutic.

Diagnosticul incidental al unui PDAC în stadiu incipient (rezecabil) cu mutații KRAS G12D și SMAD4, care a prezentat multiple complicații postoperatorii și o perioadă prelungită de boală stabilă sub chimioterapie adjuvantă, atât în prima, cât și în a doua linie de chimioterapie, exemplifică unicitatea acestui caz. Numeroase studii clinice evaluează în prezent siguranța și eficacitatea terapiei cu KRAS G12D în tumorile solide, inclusiv PDAC. Înscrierea într-un studiu care investighează inhibitorii KRAS G12D trebuie luată în considerare dacă este disponibilă.

Captolul 7. Concluzii și contribuții personale

7.1. Contribuțiile personale

Informațiile disponibile cu privire la strategiile de tratament pentru cancerul pancreatic în Europa de Est sunt foarte limitate. Într-un studiu retrospectiv de cohortă am analizat comparativ eficacitatea schemelor de chimioterapie disponibile în țara noastră la acel moment (FFX, GB și Gem) și am identificat factorii prognostici ai OS și ai PFS într-un cadru real.

S-au analizat comparativ PFS și OS medie pentru fiecare linie de chimioterapie, precum și ratele de OS la 6, 12, 18 și 24 de luni în fiecare grup (subcapitolul 4.3.2, paragrafele 1 și 2, Figura 4.1, Figura 4.2, Figura 4.3 și Figura 4.4). Ulterior s-a utilizat un model de regresie Cox pentru a evalua relația dintre caracteristicile pacienților și supraviețuire, luând în considerare factori precum vârsta, sexul, localizarea tumorii, diabetul zaharat, ECOG-PS, schemele terapeutice L1 și L2, CA 19-9 și NLR la momentul diagnosticului.

Astfel, am observat o îmbunătățire semnificativă a OS la pacienții tratați cu scheme de tratament cu FFX sau GB comparativ cu pacienții care au primit Gem (12 luni și, respectiv, 14 luni, față de 8 luni). În studiul nostru de cohortă, analiza multivariată a arătat că ECOG-PS 0/1 a fost asociat cu PFS-L1 prelungită, în timp ce vârsta peste 70 de ani,

niveluri crescute de CA 19-9, $NLR > 4,15$ și tumorile localizate în corpul pancreatic au influențat negativ PFS-L1.

O supraviețuire globală mai lungă a fost asociată cu sexul masculin, ECOG-PS 0/1 și prima linie de chimioterapie cu FFX (vs. Gem), în timp ce supraviețuirea mai mică a fost asociată cu un NLR mai mare. O supraviețuire mai scăzută a fost prezisă și de niveluri mai ridicate de CA 19-9 la momentul diagnosticului, deși această predicție nu a fost semnificativă statistic (HR 0,41, CI 95% 0,17–1, $p = 0,05$). În plus, utilizarea FFX ca primă linie de chimioterapie (vs. Gem) a fost un predictor independent pentru PFS-L2 (HR 6,91, CI 95% 1,5–31,9, $p = 0,013$) și OS-L2 (HR 6,95, CI 95% 1,12–43,07, $p = 0,037$).

În cohorta analizată, pacienții care au primit FFX ca regim de prima linie au avut cea mai bună supraviețuire fără progresie a bolii (9 luni). Pacienții care au fost supuși chimioterapiei cu FFX sau cu GB au avut o supraviețuire globală similară (14 luni, respectiv 12 luni).

Rezultatele noastre demonstrează că vârsta peste 70 de ani, nivelurile crescute de CA 19-9, $NLR > 4,15$ și tumorile localizate în corpul pancreatic au influențat negativ PFS-L1, în timp ce ECOG-PS 0/1 a fost asociat cu PFS-L1 prelungit. Niciunul dintre următorii factori nu a fost semnificativ statistic asociat cu PFS-L1: sexul, diabetul zaharat sau regimul de chimioterapie. Sexul masculin, ECOG-PS 0/1 și prima linie de chimioterapie cu FFX (vs. Gem) au fost asociate cu o OS mai bună, în timp ce creșterea NLR a fost corelată cu o OS scăzută. În același timp, pacienții cu valori crescute ale CA 19-9 la momentul diagnosticării au avut o OS mai mică. În acest studiu, aproximativ o treime dintre pacienți au primit chimioterapie de linia a doua și, indiferent de regimul administrat în linia a doua, cei care au primit mai întâi FFX au avut PFS-L2 și OS-L2 semnificativ mai mari decât cei care au primit alt regim în prima linie.

Din câte știm, acesta este primul studiu care compară eficacitatea opțiunilor de chimioterapie paliativă pentru mPDAC disponibile în România la momentul publicării acestui studiu.

Acest prim studiu ne-a permis stabilirea dinamicii de recrutare a pacienților cu PDAC incluși în proiectul PANCNGS P4 și a particularităților clinice ale acestora. Pornind de la aceste date am efectuat cel de-al doilea studiu de cohortă.

În cel de-al doilea studiu, ne-am propus să investigăm corelațiile dintre cantitatea plasmatică de ccfDNA și caracteristicile clinice și tumorale (subcapitolul 5.2, Figura 5.4), precum și valoarea prognostică a concentrației plasmatice de ccfDNA și a NLR la pacienții cu PDAC (subcapitolul 5.3.4, Figura 5.5 și Figura 5.6). În acest sens, 82 de pacienți cu PDAC confirmat histopatologic au fost înrolați într-un studiu observațional prospectiv, iar izolarea ADN-ului plasmatic s-a efectuat utilizând sânge periferic recoltat înainte de orice procedură invazivă sau administrarea chimioterapiei. Protocolul de extracție (detaliat în subcapitolul 5.2) a dus la izolarea cu succes a ccfDNA. Fragmentele de ADN izolate au avut dimensiuni de 150-200 pb și a existat o contaminare mică sau deloc cu fragmente de ADN mai mari (ADN fragmentat din leucocite lizate) (subcapitolul 5.2).

Concentrația de ccfDNA a fost cuantificată utilizând un fluorometru Qubit 3.0 (Life Technologies, Kuala Lumpur, Malaezia) și măsurată în ng/ μ L, eluat în 25 μ L de apă ultrapură. Pentru a calcula concentrația de ccfDNA per 1 ml de plasmă, am înmulțit concentrația măsurată cu volumul de eluție și am împărțit rezultatul la volumul plasmei în toate cazurile (subcapitolul 5.2).

În acest studiu, a fost evaluată relația dintre nivelurile de ccfDNA și vârstă, sex, caracteristicile tumorii, ECOG-PS, stadiul tumorii, statusul metastatic sau parametrii biologici (CA 19-9, NLR). Constatările noastre au indicat o corelație între nivelurile plasmatice crescute de ccfDNA și vârsta de peste 55 de ani, invazia venoasă și arterială și numărul crescut de metastaze. De asemenea, am demonstrat că asocierea NLR cu nivelurile de ccfDNA îmbunătățește semnificativ capacitatea prognostică și oferă o stratificare precisă a riscului de supraviețuire. Am demonstrat că, independent de stadiul tumorii, cuantificarea nivelurilor de ccfDNA oferă o tehnică neinvazivă și simplă pentru prezicerea prognosticului clinic la pacienții cu PDAC.

Din câte știm, acesta este primul studiu efectuat în populația românească care evaluează rolul prognostic al concentrației de ccfDNA la pacienții cu PDAC. Mai mult, acesta este unul dintre primele studii care demonstrează valoarea predictivă a inflamației

sistemice în combinație cu concentrația de ccfDNA. Sunt necesare cercetări viitoare pentru a explora în continuare aplicabilitatea terapeutică a acestor descoperiri.

Pentru a evidenția valoarea potențială a integrării modificărilor moleculare cu biomarkeri inflamatori și ai biopsiei lichide (nivelurile NLR și ccfDNA), am ales să raportăm un caz rar de PDAC diagnosticat incidental, prezentând o co-mutație KRAS G12D/SMAD4, care a atins o perioadă prelungită de boală stabilă și supraviețuire globală și să prezentăm o revizuire narativă a literaturii, subliniind tratamentele disponibile și semnificația lor clinică.

Prin intermediul acestui caz, am dorit să demonstrăm semnificația prognostică a concentrației NLR și a ccfDNA, subliniind faptul că valorile scăzute ale acestor biomarkeri la momentul diagnosticului pot avea un impact pozitiv asupra prognosticului pacientului chiar și în prezența mutațiilor patogene, care sunt adesea asociate cu un prognostic slab.

7.2. Concluzii

PDAC rămâne o malignitate devastatoare, cu opțiuni limitate pentru o terapie eficientă. Îmbunătățirea rezultatelor pacienților va depinde de progresele multidisciplinare în imagistică, tehnici chirurgicale, radioterapie și terapii sistemice. Deși progresul clinic este lent, înțelegerea noastră despre biologia moleculară a PDAC și a micromediului tumoral continuă să se extindă și, în cele din urmă, va oferi informații pentru abordări terapeutice raționale care vor duce la beneficii clinice.

Biopsia lichidă este o metodă minim invazivă, eficientă și care economisește timp, ceea ce a atras treptat atenția cercetătorilor ca o alternativă valoroasă pentru biopsia tisulară. Biopsia lichidă joacă un rol important în medicina personalizată, fiind o strategie neinvazivă de detectare a tumorilor bazată pe caracteristici individuale. Tehnici avansate precum ddPCR, NGS și proteomica sunt utilizate în analiza biomarkerilor pentru biopsia lichidă. Mai mult, o varietate de tehnologii noi sunt dezvoltate pentru a exploata complexitatea informațiilor obținute din probele de sânge.

În primul studiu, prin compararea schemelor de chimioterapie disponibile în România am demonstrat că utilizarea FFX în prima linie de chimioterapie a fost o opțiune eficientă pentru pacienții cu scor ECOG-PS 0 sau 1, pacienții care au primit FFX ca regim de prima linie având cea mai lungă PFS (9 luni). Pacienții care au fost supuși chimioterapiei cu FFX sau cu GB au avut o OS similară (14 luni, respectiv 12 luni). În plus, nivelurile crescute de CA 19-9, NLR > 4,15 au fost factori de prognostic negativi la pacienții cu mPDAC.

În cel de-al doilea studiu am analizat relația dintre cantitatea plasmatică de ccfDNA și caracteristicile clinice și tumorale, precum și valoarea prognostică a concentrației plasmatice de ccfDNA și a NLR la pacienții cu PDAC. Studiul nostru susține concentrația de ccfDNA și nivelurile NLR ca instrumente promițătoare pentru evaluarea prognostică neinvazivă a pacienților cu PDAC și demonstrează că asocierea NLR cu nivelurile de ccfDNA îmbunătățește semnificativ capacitatea prognostică și oferă o stratificare precisă a riscului de supraviețuire. Studiile ulterioare ar trebui să valideze această combinație ca indicator prognostic la pacienții cu PDAC și să evalueze utilitatea acestuia pentru ghidarea deciziilor terapeutice.

Prin cazul clinic prezentat, am dorit să evidențiem faptul că valorile inițiale ale concentrației de ccfDNA și ale NLR pot influența pozitiv supraviețuirea pacienților chiar și în contextul unui profil mutațional asociat cu un prognostic nefavorabil.

Studiul nostru susține markerii de biopsie lichidă bazați pe ccfDNA ca instrumente clinice promițătoare pentru prognosticul neinvaziv și monitorizarea pacienților cu PDAC.

Considerăm că rezultatele cercetării noastre pot fi utile în asistarea oncologilor în luarea deciziilor cu privire la alegerea schemelor de chimioterapie, având în vedere dificultățile pe care le întâmpină în controlul PDAC. Identificarea biomarkerilor predictivi, rafinarea strategiilor de selecție a pacienților și explorarea unor noi regimuri combinate vor fi cruciale pentru creșterea eficacității abordărilor țintite în PDAC.

Bibliografie

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Winter K, Talar-Wojnarowska R, Dąbrowski A, Degowska M, Durlik 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. <https://doi.org/10.5114/pg.2019.83422>
3. Johannet P, Abdelfattah S, Wilde C, Patel S, Walch H, Rousseau B, et al. Molecular and Clinicopathologic Impact of GNAS Variants Across Solid Tumors. *J Clin Oncol* [Internet]. Wolters Kluwer; 2024;42:3847–57. <https://doi.org/10.1200/JCO.24.00186>
4. Li W, Liu J-B, Hou L-K, Yu F, Zhang J, Wu W, et al. Liquid biopsy in lung cancer: significance in diagnostics, prediction, and treatment monitoring. *Mol Cancer.* England; 2022;21:25. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01505-z>
5. Lone SN, Nisar S, Masoodi T, Singh M, Rizwan A, Hashem S, et al. Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer.* England; 2022;21:79. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01543-7>
6. Diehl F, Li M, Dressman D, He Y, Shen D, Szabo S, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. Proceedings of the National Academy of Sciences; 2005;102:16368–73. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507904102>
7. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AAM, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med.* United States; 2002;347:1999–2009. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021967>
8. Dawson S-J, Tsui DWY, Murtaza M, Biggs H, Rueda OM, Chin S-F, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* United States; 2013;368:1199–209. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1213261>
9. Chan KCA, Jiang P, Zheng YWL, Liao GJW, Sun H, Wong J, et al. Cancer genome scanning in plasma: detection of tumor-associated copy number aberrations, single-nucleotide variants, and tumoral heterogeneity by massively parallel sequencing. *Clin Chem.* England; 2013;59:211–24. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2012.196014>
10. Hothorn T, Lausen B. On the exact distribution of maximally selected rank statistics. *Comput Stat Data Anal.* 2003;43:121–37. [https://doi.org/10.1016/S0167-9473\(02\)00225-6](https://doi.org/10.1016/S0167-9473(02)00225-6)
11. Lausen B, Schumacher M. Maximally Selected Rank Statistics. *Biometrics.* 1992;48:73. <https://doi.org/10.2307/2532740>

12. Toledano-fonseca M, Cano MT, Inga E, Auxiliadora G, Guil-luna S, Mena-osuna R, et al. The Combination of Neutrophil – Lymphocyte Ratio and Platelet – Lymphocyte Ratio with Liquid Biopsy Biomarkers Improves Prognosis Prediction in Metastatic Pancreatic Cancer. 2021;
13. Varzaru B, Iacob RA, Bunduc S, Manea I, Sorop A, Spiridon A, et al. Prognostic Value of Circulating Cell-Free DNA Concentration and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma : A Prospective Cohort Study. *Int J Mol Sci.* 2024;
14. Bunduc S, Varzaru B, Iacob RA, Sorop A, Manea I, Spiridon A, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration pancreatic adenocarcinoma samples yield adequate DNA for next-generation sequencing: A cohort analysis Stefania. *World J Gastroenterol.* 2023;29:2864–74. <https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i18.2864>
15. M.B., Amin; S., Edge; F., Greene; D.R., Byrd; Brookland, R.K.; Washington, M.K.; Gershenwald, J.E.; Compton, C.C.; Hess, K.R.; Sullivan. *AJCC Cancer Staging Manual.* 8th ed. New York: Springer; 2017.
16. Qian ZR, Robinson DA, Nowak JA, Morales-oyarvide V, Dunne RF, Masuda A, et al. Association of Alterations in Main Driver Genes With Outcomes of Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *JAMA Oncol.* 2017;02215:1–6. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.3420>
17. Stefanoudakis D, Frountzas M, Schizas D, Michalopoulos N V, Drakaki A, Toutouzas KG. Significance of TP53 , CDKN2A , SMAD4 and KRAS in Pancreatic Cancer. *Curr Issues Mol Biol.* 2024;2827–44.
18. Bardeesy N, Cheng K, Berger JH, Chu GC, Pahler J, Olson P, et al. Smad4 is dispensable for normal pancreas development yet critical in progression and tumor biology of pancreas cancer. *Genes Dev.* 2006;3130–46. <https://doi.org/10.1101/gad.1478706.a>
19. Yokose T, Kitago M, Matsuda S, Sasaki Y, Masugi Y, Nakamura Y, et al. Combination of KRAS and SMAD4 mutations in formalin-fixed paraffin-embedded tissues as a biomarker for pancreatic cancer. 2020;2174–82. <https://doi.org/10.1111/cas.14425>
20. Izeradjene K, Combs C, Best M, Gopinathan A, Wagner A, Grady WM, et al. KrasG12D and Smad4/Dpc4 Haploinsufficiency Cooperate to Induce Mucinous Cystic Neoplasms and Invasive Adenocarcinoma of the Pancreas. *Cancer Cell.* 2007;229–43. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.01.017>
21. Morton JP, Timpson P, Karim SA, Ridgway RA, Athineos D, Doyle B. Mutant p53 drives metastasis and overcomes growth arrest / senescence in pancreatic cancer. 2010;107. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908428107>
22. Mello SS, Flowers BM, Mazur PK, Lee JJ, Müller F, Denny SK, et al. Multifaceted role for p53 in pancreatic cancer suppression. *PNAS.* 2023;1–9. <https://doi.org/10.1073/pnas>.
23. Mello SS, Valente LJ, Raj N, Hruban RH, Curtis C, Attardi LD. A p53 Super-tumor Suppressor Reveals a Tumor Suppressive p53-Ptpn14-Yap Axis in Pancreatic Article A

p53 Super-tumor Suppressor Reveals a Tumor Suppressive p53-Ptpn14-Yap Axis in Pancreatic Cancer. *Cancer Cell* [Internet]. Elsevier Inc.; 2017;32:460-473.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.09.007>

24. MINGYANG LIU. Arid1a: A Gatekeeper in the Development of Pancreatic Cancer From a Rare Precursor Lesion. *Gastroenterology*. 2022;371–3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2022.05.046>

25. Li R, Xiong G, Zhao J, Yang L. Targeting the alterations of ARID1A in pancreatic cancer : tumorigenesis, prediction of treatment, and prognostic value. *Am J Transl Res*. 2022;14:5952–64.

26. Kearns B, Mckell A, Steveson I, Worley P, Barton B, Bennett J, et al. ARID1A and Its Impact Across the Hallmarks of Cancer. *Int J Mol Sci*. 2025;1–14.

27. Tomihara H, Carbone F, Perelli L, Huang JK, Feng N, Takeda M, et al. Loss of ARID1A promotes epithelial-mesenchymal transition and sensitizes pancreatic tumors to proteotoxic stress. *Cancer Res*. 2022;81:332–43. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-3922.Loss>

28. Palmer DH, Jackson R, Springfield C, Ghaneh P, Rawcliffe C, Halloran CM, et al. Pancreatic Adenocarcinoma : Long-Term Outcomes of Adjuvant Therapy in the ESPAC4 Phase III Trial. *Gastrointest Cancer*. 2023;43. <https://doi.org/10.1200/JCO.24.01118>

29. Bertolo A, Hodul P, Kim DW. ESPAC-4 long-term follow-up : shall we choose gemcitabine and capecitabine as adjuvant therapy for elderly and low-risk pancreatic adenocarcinoma following surgical resection ? 2026;9. <https://doi.org/10.21037/apc-25-24>

30. Wang-Gillam A, Hubner RA, Siveke JT, Hoff DD Von, Belanger B, Jong FA De, et al. NAPOLI-1 phase 3 study of liposomal irinotecan in metastatic pancreatic cancer : Final overall survival analysis and characteristics of long-term survivors. *Eur J Cancer* [Internet]. Elsevier Ltd; 2019;108:78–87. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.12.007>

Lista lucrărilor științifice publicate

1. **Varzaru**, B. Iacob RA, Croitoru AE, Iacob SM, Radu CE, Dumitrescu SM, Gheorghe C. Real-Life Results of Palliative Chemotherapy in Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancers* (Basel). 2023;15(13):1–11. . Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers15133500>.

Revista indexată în PubMed (**Impact Factor 5.2**) (**Capitolul 4**)

2. **Varzaru** B, Iacob RA, Bunduc S, Manea I, Sorop A, Spiridon A, Chelaru R, Croitoru A, Topala M, Becheanu G, Dumbrava M, Dima S, Popescu I, and Gheorghe C. Prognostic Value of Circulating Cell-Free DNA Concentration and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Prospective Cohort Study. Vol. 25, *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. p. 2854. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms25052854>.

Revista indexată în PubMed (**Impact Factor 5.6**) (**Capitolul 5**)

3. **Varzaru** B, Croitoru AE, Sorop A, Lupescu IG, Dima SO, Iacob RA, Becheanu G, Gheorghe C. Unexpected long-term survival in resected pancreatic ductal adenocarcinoma harboring KRAS G12D/SMAD4 co-mutation: a case report and mini-review. *Diagnostics* (under review). 2026. Preprint **2026, 2026051987**. <https://doi.org/10.20944/preprints202605.1987.v1>

Revista indexată în PubMed (**Impact Factor 3.3**) (**Capitolul 6**)