

Prognostička vrijednost izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače

Hrabar, Davor

Doctoral thesis / Disertacija

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:416085>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





Središnja medicinska knjižnica

Hrabar, Davor (2012) *Prognostička vrijednost izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače [Prognostic value of syndecan-1 and -2 expression in pancreatic adenocarcinoma].*
Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/1608>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Davor Hrabar

Prognostička vrijednost izraženosti sindekana-1 i
sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače

DISERTACIJA



Zagreb, 2012.

Disertacija je izrađena na Internoj klinici i Kliničkom zavodu za patologiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelj rada: dr. sc. Davor Tomas, znanstveni suradnik

Zahvaljujem se svome mentoru dr. sc. Davoru Tomasu na velikoj i nesebičnoj pomoći te na svim stručnim primjedbama i dragocijenim savjetima pri izradi ove disertacije. Također se zahvaljujem predstojniku i djelatnicima Kliničkog zavoda za patologiju „Ljudevit Jurak“ KBC Sestre milosrdnice na pomoći u izradi ovog rada. Zahvaljujem se i djelatnicima Zavoda za gastroenterologiju i hepatologiju te svim suradnicima i prijateljima koji su na bilo koji način pomogli u ovom poduhvatu.

Svojim najbližima zahvaljujem na ustrajnoj potpori, strpljenju i razumijevanju.

SADRŽAJ

Popis oznaka i kratica

1. Uvod.....	1
1.1. Epidemiologija karcinoma gušterače.....	1
1.2. Rizični faktori.....	7
1.2.1. Nasljedni čimbenici.....	7
1.2.2. Nenasljedni čimbenici.....	9
1.3. Patologija i podjela tumora gušterače.....	12
1.4. Patofiziologija tumora gušterače.....	17
1.5. Klinička slika.....	21
1.6. Dijagnostičke metode.....	24
1.6.1. Dijagnostički testovi.....	24
1.6.2. Slikovne metode.....	26
1.7. Liječenje.....	33
1.7.1. Kirurški pristup.....	33
1.7.2. Kemoterapeutici.....	35
1.7.3. Palijativno liječenje.....	39
1.8. Sindekani.....	44
1.8.1. Sindekan-1.....	48
1.8.2. Sindekan-2.....	50
2. Hipoteza.....	55
3. Ciljevi istraživanja.....	56
4. Bolesnici i metode.....	57
4.1. Bolesnici.....	57
4.2. Metode.....	59
4.3. Statistička analiza dobivenih rezultata.....	60
5. Rezultati.....	61
6. Rasprava.....	71
7. Zaključci.....	78
8. Sažetak.....	80
9. Summary.....	82
10. Literatura.....	83
11. Životopis.....	101

Popis oznaka i kratica

AFIP	Institut za patologiju američkih vojnih snaga (engl. Armed Forces Institute of Pathology)
AJCC	Američko udruženje za rak (engl. American Joint Committee on Cancer)
AKT2	RAC-beta serin/treonin-protein kinase
AMS	gornja mezenterična arterija
ATM	ataksija teleangiektazija
BMI	indeks tjelesne mase (engl. Body mass index)
BRCA1 /2	Breast Cancer 1/2, geni odgovorni za nasljedni rak dojke
CA 19-9	Karbohidratni antigen 19 -9, tumorski biljeg
CCK	kolecistokinin
CEA	Karcinoembrionalni antigen, tumorski biljeg
COX-2	ciklooksigenaza-2
DAKO	Korporacija koja se bavi distribucijom i prodajom reagensa i strojeva za patohistološku obradu, Kopenhagen, Danska
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
EGF	epidermalni faktor rasta
EGFR	receptor za epidermalni faktor rasta
EORTC	Europska organizacija za istraživanje i liječenje tumora (engl. European Organization for Research and Treatment of Cancer)
EPC	Europsko udruženje za gušteraču (engl. European Pancreatic Club)
ERCP	endoskopska retrogradna kolangiopankreatografija
EUS	endoscopic ultrasound, endoskopski ultrazvuk
FDA	Američka Agencija za hranu i lijekove (engl. Food and Drug Administration)
FDG	fluorodeoxyglucose, flourom radioobilježena glukoza; dijagnostičko kontrastno sredstvo
FGF-2	faktor rasta fibroblasta
FNA	Biopsije tankom iglom (engl. Fine needle aspiration)
GITSG	Studijska grupa za gastrointestinalne tumore (engl. The

	Gastrointestinal Tumor Study Group)
GSTT1	glutathion S-transferaza T1
HBV	hepatitis B virus
HE	hemalaun eozin
HGF	hepatocitni faktor rasta (engl. Hepatocyte growth factor)
HS	heparin sulfat
IAP	Međunarodna udruga za pankreatologiju (engl. International Association of Pancreatology)
IGF-1R	receptor za inzulinu sličan faktor rasta-1
INF alfa	interferon alfa
IPMN	intraduktalna mucinozna neoplazma pankreasa
LSAB	metoda označavanja streptavidin biotina (engl. Labeled Streptavidin Biotin Method)
MR	magnetska rezonancija
MRCP	Magnetska kolangiopankreatografija
MSCT	Višeslojna kompjutorska tomografija
MTAP	metiladenozin fosforilaza
mTOR	receptor za rifampicin
NCCN	Nacionalna mreža za rak (engl. The National Comprehensive Cancer Network)
NFkB	nuklearni faktor kappa B
NSAIL	nesteroidni protuupalni lijekovi
ODC	ornitin dekarboksilaza
PanIN	intraepitelna neoplazma gušterače
PCKy	protein kinaza C gama
PDZ	postsynaptic density protein
PET	pozitronska emisijska tomografija
PIN	prostatična intraepitelna neoplazija
PRSS1	cationic trypsinogen gene
PSA	specifični antigen prostate (engl. Prostate-specific antigen)
RNA	ribonukleinska kiselina
RTOG	Grupa za onkološku terapiju zračenjem (engl. Radiation Therapy Oncology Group)
RUNX3	protein Runt-related transcription factor 3

SDF-1	stromalni čimbenik-1
SMA	glatkomišićni aktin (engl. smooth muscle actin)
SMV	superior mesenteric vein, gornja mezenterična vena
STK 11	tumor supresor gen 11
TGF- β	transformirajući faktor rasta beta
TNM	TNM klasifikacija malignih tumora (engl. TNM Classification of Malignant Tumours)
UICC	International Union Against Cancer
VEGF	endotelni vaskularni faktor rasta
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organisation)

1. UVOD

1. 1. Epidemiologija karcinoma gušterače

Po učestalosti karcinom gušterače zauzima trinaesto mjesto u odnosu na sve maligne tumore, s incidencijom od 8–10 oboljelih na 100.000 stanovnika (1,2). Iako se karcinom gušterače ne nalazi u skupini najčešćih sijela tumora, u SAD-u je na četvrtom mjestu od svih uzroka smrti od karcinoma i kod muškaraca i kod žena te drugi uzrok smrti u skupini karcinoma probavnoga sustava, odmah nakon kolorektalnoga karcinoma (3).

Postoje dobne, spolne i etničke razlike u pojavnosti bolesti. Incidencija karcinoma gušterače raste s dobi bolesnika. Vrhunac pojavnosti doseže u 7. i 8. desetljeću, dok se rijetko javlja prije 45. godine života. U SAD-u prosječna se dob bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze karcinoma gušterače neznatno razlikuje od prosječne dobi umrlih bolesnika od iste bolesti. Od 2004. do 2008. prosječna dob bolesnika u trenutku verifikacije karcinoma bila je 72 godine. Od ukupnoga broja bolesnika s dijagnosticiranim karcinomom gušterače u razdoblju od 2004. do 2008. u SAD-u nitko nije bio mlađi od 20 godina, a najveći se broj nalazio u skupinama od 65 do 84 godine (od 65 do 74 godine 25,4% bolesnika, a od 75 do 84 godine 28,6%). Od ukupnoga broja umrlih od karcinoma gušterače od 2003. do 2007. najveći se udio bolesnika nalazio unutar dobne granice od 75 do 84 godine i iznosio je 30,9%, a prosječna dob iznosila je 73 godine.

Uzimajući u obzir razlike u prevalenciji u odnosu na spol bolesnika, incidencija karcinoma gušterače je 1,3 puta viša u muškaraca u odnosu na žene. Prema podacima 0,53% muškaraca i 0,39% žena između 50. i 70. godine života oboljet će od karcinoma pankreasa.

Postoje i etničke razlike u incidenciji i preživljenju bolesnika s karcinomom pankreasa. Najviša incidencija uočena je u Afroamerikanaca (14,8 na 100.000 u odnosu na 8,8 na 100.000 u općoj populaciji) (4). U tablicama 1 i 2 prikazani su učestalost i stopa smrtnosti od karcinoma gušterače u SAD u razdoblju od 2004. do 2008. ovisno o etničkoj i spolnoj skupini na 100.000 stanovnika.

Tablica 1. Učestalost karcinoma pankreasa u SAD-u od 2004. do 2008. ovisno o etničkoj skupini i spolu na 100.000 stanovnika. Preuzeto iz <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>.

Etnička skupina	Muškarci	Žene
Sve rase	13,6 na 100.000	10,7 na 100.000
Bijela rasa	13,5 na 100.000	10,5 na 100.000
Crna rasa	17,1 na 100.000	14,8 na 100.000
Azijati	10,6 na 100.000	8,6 na 100.000
Američki Indijanci	11,4 na 100.000	10,0 na 100.000
Hispanci	11,0 na 100.000	10,1 na 100.000

Tablica 2. Stopa smrtnosti od karcinoma gušterače u SAD-u od 2003. od 2007. ovisno o etničkoj skupini i spolu na 100.000 stanovnika. Preuzeto iz <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>.

Etnička skupina	Muškarci	Žene
Sve rase	12,3 na 100.000	9,4 na 100.000
Bijelci	12,2 na 100.000	9,1 na 100.000
Crna rasa	15,4 na 100.000	12,4 na 100.000
Azijati	8,2 na 100.000	6,9 na 100.000
Američki Indijanci	9,9 na 100.000	8,0 na 100.000
Hispanci	9,1 na 100.000	7,5 na 100.000

Od 2004. do 2008. u SAD-u incidencija karcinoma gušterače prema dobi iznosila je 12 oboljelih na 100.000 stanovnika, a stopa smrtnosti prema dobi 10,7 na 100.000 stanovnika u razdoblju 2003–2007. (5).

Visoka smrtnost posljedica je visoke učestalosti već poodmakle metastatske bolesti u trenutku dijagnoze. Posljednjih nekoliko godina nije nažalost zapažen porast u preživljenju te bolesti. Prognoza svakoga pacijenta,

iako najčešće individualna, uvelike ovisi o stupnju proširenosti i o histološkom stupnju tumora.

U tablici 3. prikazana je distribucija bolesnika prema stadiju bolesti i prema relativnom petogodišnjem preživljenju u SAD-u u razdoblju od 2001. do 2007. Nažalost, i to istraživanje potvrdilo je činjenicu da je u velikog broja bolesnika, više od pola, proširena metastatska bolest s vrlo malim (manje od 2%) petogodišnjim preživljenjem.

Tablica 3. Distribucija prema stadiju bolesti i petogodišnje relativno preživljenje ovisno o stupnju proširenosti bolesti za sve rase i oba spola (2001–2007, SAD). Preuzeto iz <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>.

Stadij bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze	Distribucija prema stadiju bolesti (%)	Petogodišnje relativno preživljenje (%)
I. Lokalizirani tumor (ograničen na primarno sijelo)	8	21,5
II. Regionalno proširen tumor (zahvaćeni regionalni limfni čvorovi)	27	8,6
III. Prošireni tumor (udaljene metastaze)	53	1,8
IV. Nepoznat	13	4,2

Bilimoria i sur. (6), koji su evaluirali podatke američke nacionalne baze karcinoma, uočili su da se u nižim stadijima karcinoma značajno poboljšava dugoročno preživljavanje u osoba koje su bile operativno liječene. Iako postoji poboljšanje u preživljenju, nažalost velika većina bolesnika od karcinoma gušterače, bez obzira na liječenje, na kraju umire od te bolesti. U tablicama 4 i 5 prikazan je postotak preživljenja bolesnika koji su bili operativno liječeni te onih koji nisu, prema stadiju bolesti te s obzirom na vrijeme koje proteklo od dijagnoze (6).

Tablica 4. Preživljenje bolesnika koji boluju od karcinoma gušterače i operativno su liječeni praćeno 5 godina te medijan preživljenja u odnosu na stadij bolesti (6)

Operativno liječeni bolesnici			Preživljenje praćeno godinama (%)					Medijan preživljenja (mjeseci)
Stadij	Broj bolesnika	(%)	1.	2.	3.	4.	5.	
I. A	1.886	8,8	71,3	50,2	40,7	34,7	31,4	24,1
I. B	2.364	11,0	67,3	45,4	35,3	29,6	27,2	20,6
II. A	3.846	17,9	60,7	34,9	23,8	18,4	15,7	15,4
II. B	7.828	36,4	52,7	23,8	14,4	10,2	7,7	12,7
III.	2.850	13,2	44,5	19,3	11,0	8,1	6,8	10,6
IV.	2.738	12,7	19,2	8,4	5,3	3,7	2,8	4,5
Ukupno	21.512							12,6

Tablica 5. Preživljenje bolesnika koji boluju od karcinoma gušterače, a nisu operativno liječeni praćeno 5 godina te medijan preživljenja u odnosu na stadij bolesti (6)

Konzervativno liječeni bolesnici			Preživljenje praćeno godinama (%)					Medijan preživljenja (mjeseci)
Stadij	Broj bolesnika	(%)	1.	2.	3.	4.	5.	
I. A	3.412	4,4	29,2	10,5	6,2	4,6	3,8	6,8
I. B	4.298	5,4	26,0	9,4	5,7	4,0	3,4	6,1
II. A	8.486	10,1	25,0	7,7	4,1	2,8	2,4	6,2
II. B	6.570	11,8	26,9	7,7	3,8	2,6	2,0	6,7
III.	12.981	13,0	27,0	7,3	3,4	2,4	1,8	7,2
IV.	64.454	55,2	8,3	2,3	1,2	0,8	0,6	2,5
Ukupno	100.201							3,5

Preživljenje od karcinoma gušterače se osim u odnosu na TNM-klasifikaciju može promatrati i s obzirom na stupanj diferenciranosti tumora. Adenokarcinomi gušterače se kao i ostali tumori mogu podijeliti prema stupnju diferenciranosti (*grading*) na dobro diferencirane (*gradus* 1), srednje (*gradus* 2) i slabo diferencirane (*gradus* 3) te izrazito anaplastične tumore (*gradus* 4). Prema studiji Longneckera i sur. (7) iz 2000. medijan preživljenja u mjesecima bio je, očekivano, niži za slabo diferencirane tumore. Najveći broj bolesnika (42,5%) pripadao je slabo diferenciranim tumorima s kratkim medijanom preživljenja od samo 2,8 mjeseci (tablica 6) (7).

Tablica 6. Medijan preživljenja s obzirom na histološki stupanj diferencijacije stanica (7)

Stupanj histološke diferencijacije stanica	Postotak bolesnika (%)	Medijan preživljenja (mjeseci)
1	16	5,7
2	35	4,4
3	42,5	2,8
4	6,6	2,2

Podaci u Europi nešto se razlikuju od podataka dobivenih iz Amerike, ali u znatnoj mjeri ne odstupaju od njih. Tako je u Europi karcinom gušterače po učestalosti deseti najčešći karcinom, odgovoran za 2,6% karcinoma u oba spola te prepoznat kao osmi vodeći uzrok svih smrti povezanih s karcinomima (65.000 smrtnih slučajeva godišnje). U muškaraca godišnja incidencija iznosi između 8,7 /100.000 na istoku i 7,3/100.000 na sjeveru i zapadu Europe, a u žena 5,7/100,000 na sjeveru te 4,5 /10.000 na istoku Europe. Muškarci imaju 50% višu incidenciju prema dobi od žena. Uočeno je da incidencija strmo raste s godinama, od 1,5/100.000 na godinu kod pacijenata u dobi 15–44 do čak 55/100.000 u pacijenata starijih od 65 godina (8).

Prema dostupnim podacima Hrvatskoga zavoda za javno zdravstvo, vidljivo je da se Hrvatska s obzirom na podatke vezano uz karcinom gušterače uklapa u sliku europske regije kojoj pripada. Tako je u Hrvatskoj 2008.

zabilježena incidencija od 15,5 novooboljelih na 100.000 stanovnika (muškarci 17,5, žene 13,7) (tablica 7) (9).

Tablica 7. Incidencija karcinoma pankreasa u Hrvatskoj ovisno o spolu.
Preuzeto iz http://www.hzjz.hr/publikacije/Incidencija_raka_u_Hrvatskoj_2008.pdf.

Godina	Incidencija na 100.000 stanovnika	Broj novooboljelih	Muškarci	Žene
2006.	13,0	578	285	293
2007.	14,2	630	340	290
2008.	15,5	690	374	316

Ako se promatra broj umrlih u Hrvatskoj od karcinoma gušterače, prema podacima uočava se da se ne razlikuju značajno u odnosu na incidenciju (tablica 8).

Tablica 8. Broj umrlih u Hrvatskoj od karcinoma gušterače ovisno o spolu.
Preuzeto iz http://www.hzjz.hr/publikacije/umrli_2009.pdf:

Godina	Broj umrlih	Muškarci	Žene
2006.	562	290	292
2007.	631	319	312
2008.	712	363	349

1. 2. Rizični faktori

Identificirano je više čimbenika rizika koji se povezuju s razvojem karcinoma gušterače, a svrstani su u dvije velike skupine: hereditarni (nasljedni) i nehereditarni (nenasljedni) rizični čimbenici. Trideset posto karcinoma gušterače povezano je s pušenjem, 20% s prehranom, 5% s kroničnim pankreatitisom, 5–10% s hereditarnim pankreatitisom, dok je 40% sporadičnih slučajeva.

1. 2. 1. Nasljedni čimbenici

Osobe s opterećenom obiteljskom anamnezom imaju 1,5 do 13 puta veću vjerojatnost za razvoj karcinoma pankreasa u odnosu na opću populaciju (10). Pet do deset posto bolesnika s karcinomom pankreasa ima genetsku predispoziciju za razvoj bolesti, odnosno ima krvne srodnike u prvom koljenu kojima je postavljena ista dijagnoza, a postotak je još i veći ukoliko su u obitelji oboljeli od karcinoma bili mlađi od pedeset godina. Ghadirian i sur. (11) u svojoj *case-control* studiji upravo su to pokazali. Prema toj studiji djeca koja imaju krvnog srodnika u prvom koljenu koji boluje od karcinoma gušterače imaju rizik za razvoj karcinoma pankreasa u budućnosti oko 4,7%, a ako je krvnom srodniku u prvom koljenu karcinom pankreasa verificiran prije 60. godine, onda taj rizik raste na 7,2%, odnosno 12,3% ukoliko krvni srodnik ima ujedno verificirane multiple karcinome (11). Brune i sur. (12) pokazali su da djeca s obiteljskom anamnezom hereditarnog adenokarcinoma pankreasa i ona koja u obiteljskoj anamnezi imaju sporadični adenokarcinom pankreasa kod najmanje jednog rođaka u prvom koljenu, imaju povišen rizik od razvoja karcinoma gušterače u budućnosti (omjer rizika = 1,55, 95% CI = 1,19 do 2,03 godišnje) u usporedbi s općom populacijom. Dok pojavnost karcinoma pankreasa prije pedesete godine kod članova obitelji s hereditarnim karcinomom pankreasa povećava rizik od karcinoma pankreasa u odnosu na one kod kojih se bolest pojavila kasnije, ako je riječ o sporadičnom karcinomu pankreasa, rizik je jednak (12). Zaključujemo da bolesnici s opterećenom obiteljskom anamnezom obolijevaju u ranijoj dobi, a pušenje se pokazalo kao dodatni rizični faktor.

Schenk i sur. (13) pokazali su da osobe s opterećenom obiteljskom anamnezom imaju 2,49 puta veći rizik, a pušači 2,04 puta veći rizik za karcinom pankreasa u odnosu na kontrolnu skupinu. Ukoliko su oba rizika prisutna i ako je karcinom srodniku dijagnosticiran prije 60. godine života, rizik se povećava na 8,23 (95% CI = 2.18 do 31,07) (13).

Većina oboljelih od hereditarnoga kroničnog pankreatitisa razvije simptome prije dvadesete godine, a karcinom pankreasa dijagnosticira im se u prosjeku oko 57. godine. Hereditarni kronični pankreatitis (autosomno-dominantno nasljedna mutacija gena za kationski tripsinogen, PRSS1) nosi rizik od 54% za nastanak karcinoma pankreasa do 75. godine. Kumulativni rizik raste na 75% u paternalnom nasljeđivanju (14). Studija na 200 bolesnika s dijagnosticiranim hereditarnim pankreatitisom pokazala je da kumulativni rizik od razvoja karcinoma pankreasa u članova tih obitelji iznosi 11% i 49% za muškarce te 8% i 55% za žene u dobi od 50 do 75 godina. Standardizirani omjer incidencije karcinoma pankreasa u bolesnika s hereditarnim pankreatitisom uspoređen s općom populacijom iznosi 87 (95% CI 42–113). Ovim istraživanjem nije nađena povezanost povećanoga rizika s tipom PRSS1 mutacije (15). Iako još nije identificirana točna mutacija gena koja je potrebna za razvoj hereditarnoga pankreatitisa, u francuskoj studiji pokazano je da se gen nalazi na dugom kraku 7. kromosoma (16). U nedavno objavljenoj studiji 81% pacijenata s hereditarnim pankreatitisom imalo je mutaciju PRSS1-gena. Stopa mortaliteta kod bolesnika s hereditarnim pankreatitisom očekivano raste ukoliko razviju karcinom gušterače (17). Ostali slučajevi obiteljskoga karcinoma gušterače povezuju se s nasljednim karcinomom ovarija ili dojke (osobe s pozitivnim genom BRCA1 i BRCA2 imaju 5% rizik za razvoj karcinoma pankreasa), sindromom displastičnoga melanoma (pozitivni na CDKN2A imaju 19% rizik), Peutz–Jeghers sindromom (pozitivni na STK imaju 11–36% rizik), familijarnom adenomatoznom polipozom (APC), hereditarnim nepolipoznim kolorektalnim karcinomom (Lynch II) (geni za popravak DNK), ataksijom teleangijektazijom (ATM) i Li–Fraumeni sindromom (P53) (18). Prema studiji Greer i sur. (19) bolesnici s mutacijama BRCA1 i BRCA2 imaju 2,3–3,6 puta veći rizik od razvoja karcinoma gušterače, uz napomenu da u bolesnika s mutacijom BRCA2 incidencija seže do 7% (19). Sve poznate mutacije gena i pripadni sindromi čine tek 20% od ukupnoga broja bolesnika s hereditarnim

karcinomom pankreasa, stoga se može pretpostaviti da većina odgovornih gena još nije identificirana. Dvije velike prospektivne studije istraživale su povezanost pojavnosti karcinoma pankreasa s krvnim grupama. Rezultati su pokazali da populacija s krvnim grupama A, AB i B ima 1,2 puta viši rizik od krvne grupe 0 za razvoj karcinoma gušterače (standardizirani omjer vjerojatnosti 1,32, 1,51 i 1,72) (20). Također uočeno je da bolesnici s ne-0 grupama, a koji su inficirani s CagA pozitivnim sojevima *H. pylori*, imaju veći rizik od razvoja karcinoma pankreasa. Ta teza temelji se na spoznaji da CagA inhibira transkripcijsku aktivnost RUNX3, tumor supresor gena, smanjujući njegovu razinu u stanicama (21).

1. 2. 2. Nenasljedni čimbenici

Istraživani nenasljedni rizični čimbenici za nastanak karcinoma pankreasa su postojanje kroničnoga pankreatitisa, šećerna bolest, pušenje, prekomjerna težina, neprimjerena prehrana, konzumacija kave i alkohola, uzimanje nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAIL), infekcija *H. pylori* te stanje nakon gastrektomije i kolecistektomije.

Dugogodišnji kronični pankreatitis prokazan je u više studija kao rizični faktor za razvoj karcinoma pankreasa. U multicentričnoj studiji na više od 2000 bolesnika pokazano je da kronični pankreatitis povećava 26 puta rizik za razvoj karcinoma pankreasa te da se taj rizik kreće linearno s vremenom, odnosno iznosi 1,8% nakon 10 godina te 4% nakon 20 godina (22).

Pušenje je najčešći okolišni rizični čimbenik za koji je dokazana čvrsta povezanost s razvojem te bolesti. Osobe s homozigotnom delecijom gena za glutation S-transferazu T1 (GSTT1) i anamnezom dugotrajna i prekomjerna nikotinizma imaju povišen rizik za razvoj karcinoma pankreasa, što je najviše izraženo u žena bijele rase. Relativni rizik za nastanak karcinoma pankreasa u pušača iznosi 1,5, a povećava se s brojem popušanih cigareta i godinama pušenja. Rizik raste s brojem dnevno konzumiranih cigareta >30/dan na OR 1,75 (CI 1,38–2,26), duljinom pušenja >50 godina na OR 2,13 (95% CI 1,25–3,62) te kumulativnom dozom pušenja >40 kutija godišnje na OR 1,78 (95% CI 1,35–2,34). Pokazano je da dugotrajnost pušenja ima veći učinak od broja

cigareta, jer je rizik bio veći kod dugogodišnjih pušača s manjim brojem kutija godišnje. Ta spoznaja, kao i činjenica da osobe koje nisu pušile dulje od 15 godina imaju jednak rizik kao i novi pušači, govori u prilog zakašnjelog efekta pušenja u pankreasnoj karcinogenezi. Pušačima koji su prestali pušiti unatrag 10 godina rizik se smanjuje za 30%, a globalni prestanak pušenja prevenirao bi 27% karcinoma gušterače u SAD-u (23).

Inzulinska rezistencija također se pokazala kao faktor rizika za nastanak karcinoma pankreasa. Metaanaliza 30 studija pokazala je da osobe s dugotrajnom šećernom bolesti, u trajanju od 5 godina i više, imaju 2 puta veći rizik od razvoja karcinoma pankreasa. Metaanalizom 36 studija pokazano je da osobe kojima je nedavno otkrivena šećerna bolest tipa 2 (<4 godine) imaju 50% veći rizik za razvoj karcinoma od onih koji imaju dijabetes dulje od 5 godina (OR 2,1 prema 1,5, $p=0.005$) (24). Bolesnici sa šećernom bolesti tipa 1 kojima je bolest otkrivena u mladosti imaju dva puta veći relativni rizik za razvoj karcinoma gušterače u odnosu na kontrolnu skupinu (CI 95%, 1,37–3,01), dok tip 2 donosi 2,1 puta veći relativni rizik (95%, CI 1,6–2,8) (25). Šećerna bolest može biti i posljedica karcinoma gušterače te je tako u studiji u usporedbi s kontrolnim skupinama prevalencija dijabetesa bila viša u bolesnika s karcinomom gušterače 47% prema 7% u kontrolnoj skupini, uz višu vjerojatnost razvoja dijabetesa u sljedeće dvije godine od oko 74% u prvoj odnosno 53% u drugoj godini (26).

Intolerancija glukoze također je mogući rizični čimbenik, jer ovisno o razini glikemije (posebice kod GUK >11.1 mmol/L) raste relativni rizik od mortaliteta od karcinoma gušterače (27). Polipeptid amilin koji se izlučuje iz beta-stanica Langerhansovih otočića reducira inzulinsku osjetljivost *in vivo* i sintezu glikogena *in vitro*. Pokazano je da je koncentracija serumskog amilina viša u bolesnika s karcinomom gušterače koji imaju dijabetes (28). Upravo zato novootkriveni dijabetes u odraslih mršavih osoba trebao bi pobuditi sumnju na mogući karcinom gušterače u podlozi, posebice zbog toga što je karcinom pankreasa resektabilan u doba pojave dijabetesa (29). Karcinom gušterače može se pojaviti već 18–36 mjeseci nakon verifikacije šećerne bolesti u starijih osoba bez drugih poznatih čimbenika, no isplativoga probirnoga testa nema.

Pretilost, posebice centralna debljina, povezana je s povećanom incidencijom karcinoma pankreasa. U slučaju pretilosti u ranoj odrasloj dobi

dobna granica pojavnosti karcinoma se smanjuje, dok je pretilost u starijoj dobi povezana s lošijim preživljenjem od karcinoma gušterače (30). Metaanalizom 21 prospektivne studije, koje su ukupno uključivale 3.495.981 osoba i 8.062 osoba s karcinomom pankreasa, pokazalo se da je povećanje indeksa tjelesne mase (BMI) za 5 kg/m² u oba spola povisilo relativni rizik za karcinom gušterače 1,12 puta (95% CI, 1,06–1,17), odnosno u muškaraca 1,16 (95% CI, 1,05–1,28; p= 0.001) i 1,10 puta (95% CI, 1,02–1,19; p= 0.12) u žena (31). Usporedbom osoba koje imaju BMI između 18,5–25 m/kg² u usporedbi s osobama koje imaju BMI>35 kg/m² pokazan je 45% veći rizik od karcinoma gušterače u skupini pretilih odnosno s BMI>35 kg/m². Utvrđeno je i da žene koje su se prema opsegu struka nalazile unutar najviše kvantile imaju 70% (95% CI, 10–160%) veći rizik, dok za muškarce isto nije dokazano (32, 33).

U jednoj studiji utvrđeno je da konzumacija 10 ili više alkoholnih pića mjesečno povećava rizik za karcinom gušterače 3 puta, no rezultati ovisni o dozi alkohola nisu bili koherentni. Druge studije nisu pokazale utjecaj konzumacije alkohola na razvoj karcinoma pankreasa (34, 35).

Kava se nije pokazala kao rizični čimbenik u karcinogenezi pankreasa (35).

Povezanost uzimanja NSAIL dvojbena je, iako su neke studije pokazale da osobe koje uzimaju 14 ili više tableta acetil-salicilne kiseline tjedno tijekom 4 godine imaju povećan rizik od karcinoma pankreasa, druga velika kohortna studija nije potvrdila povećani rizik čak ni u bolesnika koji su uzimali 30 tableta mjesečno više od 20 godina (36).

Incidencija karcinoma gušterače niža je u bolesnika koji konzumiraju hranu bogatu biljnim vlaknima, posebice folatima i likopenima, te antioksidanse kao što su vitamin E i C. Studijom na životinjama, prehrana bogata mastima i proteinima pokazala se promotorom karcinogeneze najvjerojatnije interferirajući s mehanizmima popravka DNK i apoptozom (37).

Izloženost hepatitisu B pokazala se kao mogući rizični čimbenik, no potrebne su dodatne studije koje bi dale odgovor da li je potrebno liječenje reaktivacije hepatitisa za vrijeme kemoterapije (38).

Prethodna parcijalna gastrektomija i kolecistektomija mogući su čimbenici rizika koji se povezuju s nastankom karcinoma gušterače, iako podaci kojima se zasad raspolaže nisu koherentni (39–43).

1.3. Patologija i podjela tumora gušterače

Tumori gušterače nastaju kao posljedica nekontrolirane proliferacije duktalnih, acinarnih, multipotentnih matičnih stanica te Langerhansovih otočića. Egzokrini tumori pankreasa čine 95% tumora pankreasa. Dijagnoza karcinoma gušterače klinički se ponajprije odnosi na duktalni adenokarcinom i njegove podtipove, jer oni čine 80–85% svih tumora pankreasa. Adenokarcinomi se u većini slučajeva prezentiraju kao siva, tvrda i scirozna masa slabo ograničena od okolnoga tkiva gušterače koji su u 75% slučajeva lokalizirani u glavi gušterače, 15–20% ih je lokalizirano u trupu, a 5–10% u repu gušterače. Duktalni karcinom ne znači nužno lokalizaciju tumora u glavnom pankreasnom vodu, štoviše mnogi su lokalizirani više periferno u malim vodovima unutar acinarnoga tkiva. Veličina tumora gušterače izrazito je varijabilna te najviše ovisi o stupnju diferenciranosti tumora i sposobnosti produkcije mucina. Najmanja veličina tumora pankreasa koja se može vizualizirati slikovnim metodama je 2–5 mm. Veličinom mogu sezati i do 36 cm, a uglavnom je u takvim slučajevima riječ o cističnim tumorima. Lokalizirani tumori promjera do 5 cm smatraju se resektabilnima, ukoliko ne zahvaćaju okolne vaskularne strukture (44). U svjetskoj literaturi najčešće se primjenjuju dvije klasifikacije karcinoma gušterače: World Health Organisation (WHO) i Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) (45, 46). Prema WHO-klasifikaciji karcinomi gušterače dijele se na tri glavne skupine: benigni, potencijalno maligni i maligni (tablica 9.) (45).

Tablica 9. Klasifikacija egzokrinih tumora pankresa prema WHO-klasifikaciji (45)

BENIGNI	POTENCIJALNO MALIGNI (GRANIČNI)	MALIGNI
Serozni cistadenom	Mucinozne cistične neoplazme s umjerenom	Duktalni adenokarcinom (85%) karcinom stanica <i>prstena pečatnjaka</i> adenoskvamozni karcinom
Mucinozni cistadenom	displazijom	anapastični (nediferencirani) karcinom mucinozni necistični (koloidni) karcinom
Intraduktalni papilarni mucinozni adenom	Intraduktalna papilarna mucinozna neoplazma s umjerenom displazijom	Intraduktalni papilarni mucinozni karcinom (2– 3%) invazivni neinvazivni
	Solidni pseudopapilarni tumori	Mucinozni cistadenokarcinom (1%) invazivni neinvazivni Solidni pseudopapilarni karcinom (1%) Karcinom acinarnih stanica (<1%) Pankreatoblastom (<1%) Serozni cistadenokarcinom (<1%)

Prema AFIP-klasifikaciji karcinomi gušterače dijele se na egzokrine epitelijalne tumore, neuroendokrine, neepitelne, sekundarne, neklasificirane i tumorske lezije (tablica 10) (46).

Tablica 10. Klasifikacija tumora gušterače prema AFIP-u. Preuzeto iz <http://www.afip.org/consultation/vetpath/who/whoalimen.html>.

EGZOKRINI EPITELIJALNI TUMORI		ENDOKRINI TUMORI		TUMORSKE LEZIJE
Benigni	Maligni	Benigni	Maligni	
Duktalni (tubularni) adenom	Duktalni (tubularni) adenokarcinom	<i>Islet cell</i> adenom	<i>Islet cell</i> karcinom	Nodularna hiperplazija acinarnih stanica
Acinarni adenom	Acinarni karcinom			Duktalna hiperplazija
	Nediferencirani (anaplastični) karcinom			Kronični pankreatitis
				Heterotopni pankreas
				Pankreasni steatitis
				Ciste kongenitalne retencijske
				Pseudociste
				Nesidioblastoza

Kao i ostali tumori, adenokarcinomi gušterače mogu se s obzirom na histološku prezentaciju odnosno stupanj diferenciranosti (*grading*) podijeliti na dobro diferencirane (gradus 1), umjereno diferencirane (gradus 2) i slabo diferencirane (gradus 3) tumore. Dobro diferencirani tumori karakterizirani su formiranjem dobro definiranih žlijezda koje mogu lučiti mucin. Polimorfizmi jezgara su rijetki, kao i mitoze, koje, ako se nađu, ne pokazuju atipiju. Kod umjereno diferenciranih tumora često se mogu naći nepravilni žljezdani lumeni i polimorfizmi jezgre stanica. Mitoze su česte i poneke su atipične. Slabo diferencirani adenokarcinomi imaju loše formirane žlijezde pomiješane sa solidnim dijelovima. Proizvode vrlo malo mucina za razliku od dobro

diferenciranih. Izražen je polimorfizam jezgara, koje su velike i neobična oblika, česte su i atipične mitoze. U tablici 11 vidljiva je podjela adenokarcinoma gušterače prema histološkom značaju koja u obzir uzima stupanj žljezdane diferencijacije, produkciju mucina, atipiju jezgara te broj mitozna (tabl. 11) (45–49).

Tablica 11. Histološko stupnjevanje adenokarcinoma gušterače (49)

Gradus tumora	Diferenciranost žlijezda	Produkcija mucina	Mitoze	Atipija jezgara
1	Dobro diferencirane žljezdane strukture	Intenzivna	≤5	Vrlo malo pleomorfizama, usmjeravanje prema polovima stanice
2	Umjereno diferencirane vodovima slične strukture i tubularne žlijezde	Nepravilna	6-10	Umjeren pleomorfizam
3	Slabo diferencirane žlijezde, muko-epidermoidne i pleomorfne strukture	Nema produkcije	>10	Izražen pleomorfizam i povećanje veličine jezgre stanice

Najčešće je primjenjivan sustav stupnjevanja tumora gušterače kombinacija American Joint Committee on Cancer (AJCC) i International Union Against Cancer (UICC) (tablica 12) (50).

Tablica 12. Sustav stupnjevanja tumora gušterače prema AJCC (50)

Primarni tumor (T)			
Tx		Primarni se tumor ne može utvrditi	
T0		Nema vidljivoga primarnog tumora	
Tis		Karcinom <i>in situ</i>	
T1		Tumor ograničen na pankreas, tumor 2 cm ili manji u najvećem promjeru	
T2		Tumor ograničen na pankreas, tumor veći od 2 cm u najvećem promjeru	
T3		Infiltracija peripankreatičnog tkiva, ali bez zahvaćanja trunkusa celijakusa ili arterije mezenterike superior (AMS)	
T4		Infiltracija peripankreatičnoga tkiva sa zahvaćanjem trunkusa celijakusa ili arterije mezenterike superior (neresektabilan primarni tumor)	
Regionalni limfni čvorovi (N)			
Nx		Regionalni limfni čvorovi ne mogu se utvrditi	
N0		Nema metastaza u regionalnim limfnim čvorovima	
N1		Metastaze u regionalnim limfnim čvorovima	
Udaljene metastaze (M)			
M0		Bez udaljenih metastaza	
M1		Udaljene metastaze	
Stadiji			
Stadij 0	Tis	N0	M0
Stadij IA	T1	N0	M0
Stadij IB	T2	N0	M0
Stadij IIA	T3	N0	M0
Stadij IIB	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Stadij III	T4	Bilo koji N	M0
Stadij IV	Bilo koji T	Bilo koji N	M1

1. 4. Patofiziologija tumora gušterače

U posljednje vrijeme ekstenzivno se istražuje molekularna patofiziologija egzokrinog karcinoma gušterače. Bolje razumijevanje 12 signalnih putova, kojih je regulacija poremećena u pankreasnoj tumorogenezi, omogućeno je genetskom analizom 24 karcinoma pankreasa i sekvencioniranjem 20.661 eksona. Nađeno je 63 točkastih mutacija odgovornih za disregulaciju signalnih putova u 67–100% slučajeva svakoga pojedinog istraživnog karcinoma (51).

U adenokarcinomu pankreasa najčešće su prisutne multiple kombinacije ovih genetskih mutacija:

- aktivacije protonkogeni i onkogeni (K-ras),
- inaktivacija tumor supresor gena (TP53, p16/CDKN2 i SMAD4),
- inaktivacija DNK reparacijskih gena (hMLH1 i MSH2) i gena koji kontroliraju apoptozu,

koje su odgovorne za somatske mutacije i obiteljsku predispoziciju za rak gušterače (52).

S obzirom na učestalost prema studijama proizlazi da:

- u 80–95% slučajeva karcinoma gušterače postoji K-ras genska mutacija, locirana na kromosomu 12p,
- u 85–98% slučajeva mutacija, delecija ili hipermetilacija gena CDKN2,
- u 50% mutacija p53 i u 55% homozigotna delecija ili mutacija SMAD4.

Važnost učestalosti tih mutacija leži u činjenici da se većina može naći već i u premalignim lezijama, primjerice K-ras onkogen nalazi se u 90% bolesnika s karcinomom pankreasa u ranoj fazi tumorogeneze. Prevalencija mutacija raste sa stupnjem displazije u premalignim lezijama (53, 54).

U pankreasnoj tumorogenezi inaktivirana su tri tumor supresor gena: TP53, p16/CDKN2 i SMAD4.

Gubitak gena p16/CDKN2A na kromosomu 9p, homozigotnom delecijom, kombinacijom genetske mutacije i delecije drugog alela te hipermetilacijom, uzrokuje tumorsku proliferaciju stanica. Nasljedna mutacija istoga gena jedan je od uzroka sindroma displastičnog nevusa te istovremeno ti bolesnici imaju 20–

24 puta veći rizik od razvoja karcinoma pankreasa. Homozigotna delecija p16 dovodi i do inaktivacije gena MTAP (metiladenozin fosforilaza), čija smanjena aktivnost dovodi do povišenja ornitin dekarboksilaze (ODC), koja sudjeluje u proliferaciji stanica i inhibiciji apoptoze. Inhibicijom ODC-a na tumorskim stanicama *in vitro* postignuto je usporenje rasta tumorskih stanica i ubrzana apoptoza stanica, što implicira mogući cilj djelovanja budućih terapeutika (55).

U kroničnom pankreatitisu 30% bolesnika ima detektibilne mutacije gena p16 i 10% mutaciju gena K-ras. Iako je heterozigotna mutacija p53 i p16 gena vidljiva već u kroničnom pankreatitisu, inaktivacija gena najčešće se dogodi kasnije, tijekom pankreasne karcinogeneze, stoga određivanje aneuploidije u pankreasnom soku u bolesnika s kroničnim pankreatitisom može biti koristan *screening*-test (56). Povećana ekspresija gena p53, odnosno mutacija kromosoma 17p, koja pospješuje staničnu proliferaciju i inhibira apoptozu, korelira s agresivnijim tipom karcinoma (57).

Protein koji je produkt SMAD4 (ili DPC4), gena locirana na kromosomu 18q, sudjeluje u intracelularnoj signalizaciji nakon vezanja TGF-beta. Neke su studije naime pokazale da mutacije mogu biti i u njihovim receptorima (58). TGF-beta ekstracelularni je ligand koji, vežući se na receptor, potiče signalizaciju i posljedično stimulira stanični rast, diferencijaciju i apoptozu stanica. Imunohistokemijsko bojenje na odutnost SMAD4 može u budućnosti biti alat u dvojbjenim bioptatima. Karcinomi sa smanjenom ekspresijom SMAD4 imaju lošiju prognozu i stoga u budućnosti takav način detekcije može biti korisno oružje u prognozi i važan čimbenik u donošenju odluke o terapiji (58).

Maligne stanice u pankreasnoj intraepitelijalnoj neoplazmi (PanIN) nastaju kao posljedica disregulacije signalnih putova, kojoj su u podlozi molekularne promjene uzrokovane mutacijama navedenih gena. Inicijalna je mutacija nastajanje onkogenog K-ras i skraćivanje telomera (PanIN1). Kao sljedeći korak dolazi do inaktivacije p16/CDKN2A (PanIN2), inaktivacije TP53 i SMAD4/DPC4 (PanIN3) te konačno razvoj adenokarcinoma pankreasa (58).

Obitelji s mutacijama BRCA-2, koje su povezane s visokim rizikom od karcinoma dojke, imaju također povišen rizik od karcinoma pankreasa. Produkt BRCA-2 sudjeluje u mehanizmu popravka DNK. Karcinomi pankreasa u kojima je inaktivirana BRCA-2 imaju bolji odgovor na kemoterapeutike u odnosu na one s intaktnom BRCA-1 (59).

Mutacija gena PALB-2, čiji produkt kodira BRCA-2 vezajući protein, također je uočena u 3% hereditarnih pankreatitisa. Mutacija (inaktivacija) gena STK11 (tumor supresor gena) dokazana je u 4% karcinoma pankresa, u 25% IPMN te u Peutz-Jeghersovu sindromu, kod kojeg bolesnici imaju 36% veći rizik od razvoja raka gušterače. Te spoznaje vode zaključku da on ima ulogu u nasljednom i sporadičnom karcinomu pankreasa (59).

Mutacija gena koji sudjeluju u popravku DNK (hMLH1 i hMSH2) prisutna je u 4% karcinoma pankreasa i ti karcinomi imaju tipičnu histološku sliku (60).

Karcinomi gušterače, u kojima je mutacijom pogođen popravak DNK, čini se imaju bolju prognozu i slabiji odgovor na kemoterapeutike u odnosu na standardne karcinome pankreasa, no to još nije prihvaćeno u kliničkoj praksi. Metilacija, mitohondrijalne mutacije, ekspresija mikro-RNA budući su terapijski ciljevi i ostavljaju mjesto za nove *screening*-metode. Upravo verifikacija gena uključenih u tumorogenezu omogućila je *screening* u bolesnika s opterećenom obiteljskom anamnezom, detekciju maligne transformacije duktalnih stanica pankreasa u neinvazivne prekursorne lezije i u invazivne karcinome te stvaranje novih klasifikacija u koje je integrirana i genetika (61–63).

Danas se istražuju mnogi mogući molekularni ciljevi na koje bi potencijalno djelovali kemoterapeutici (tablica 13.) (64).

Tablica 13. Mogući molekularni ciljevi kemoterapeutika (64)

Molekularni ciljevi za kemoterapeutike	Učestalost mutacije/ekspresije u bolesnika s karcinomom pankreasa (%)
Telomeraza	95
VEGF	83
KRAS	95
EGFR (ErbB1/HER1)	69
ErbB2 (HER/2/neu)	35–52
Prekusors gastrina i gastrin	23–91
CCK/receptor gastrina	95
COX-2	67–90
AKT2	10–20
Aktivirani AKT/mTOR	50–55
RelA (p65 podjedinica NFkB)	67
Sonic hedgehog	70
Notch3	69–74
IGF-1R	64
Mezotelin	90–100
MUC1	90

Kratice: VEGF – endotelni vaskularni faktor rasta; EGFR – receptor za epidermalni faktor rasta; CCK – kolecistokinin; COX-2 – ciklooksigenaza-2; mTOR – receptor za rifampicin; IGF-1R – receptor za inzulinu sličan faktor rasta-1.

1. 5. Klinička slika

U kliničkoj slici karcinoma gušterače najčešći su simptomi: bol u epigastriju koja se širi prema kralješnici, mučnina, slabost, gubitak teka i tjelesne težine te žutica ovisno o lokalizaciji tumora.

Bol je najčešći simptom (očituje se u 80% do 85% bolesnika) i javlja se u većini slučajeva kada je bolest već lokalno uznapredovala ili metastazirala (65). Bol je gotovo redovito tupa karaktera, lokaliziran u epigastriju sa širenjem u torakalni ili lumbalni dio kralješnice, što najčešće implicira retroperitonealnu invaziju splanhničnoga živčanog plexusa. Bolovi mogu biti konstantni s predominacijom tijekom noći i progresijom u intenzitetu nakon podražajnog obroka te se često ublažuju u položaju fetusa. Svi bolesnici tijekom razvoja bolesti dožive u jednom trenutku bol. U trenutku konačne dijagnoze raka gušterače trećina bolesnika nema bolove, druga trećina ima blage, a trećina izrazite bolove.

Gubitak na tjelesnoj težini kao simptom može biti povezan sa samom progresijom tumorskog procesa, no može biti i posljedica egzokrine insuficijencije u podlozi koje je lokalizacija tumora, primjerice pri opstrukciji kanalnoga sustava. U tom slučaju bolesnici se žale na dijareju i steatoreju, odnosno na masne stolice. Mučnina i brzo zasićenje koje bolesnici mogu osjetiti povezuje se s ekstraluminalnom opstrukcijom lumena probavnoga trakta, što također može pridonijeti tumorskoj kaheksiji.

Novodijagnosticirana šećerna bolest godinu prije verifikacije karcinoma pankreasa može biti jedan od dijagnostičkih znakova, no mora se uzeti u obzir da je samo 1% novodijagnosticiranih šećernih bolesti u odraslih povezano s okultnim karcinomom. Probir se mora provesti pažljivo, visoko su sumnjivi bolesnici stariji od 70 godina bez drugih čimbenika rizika za dijabetes (66).

Bezbolna žutica najčešći je znak tumora glave pankreasa. Bolesnici često zapaze svrbež, akoličnu stolicu i tamni urin prije razvoja abdominalnih bolova. Bolna žutica bilježi se u polovice bolesnika s lokalno neresektabilnom bolesti, a bezbolna žutica u polovice bolesnika s potencijalno resektabilnom ili lječivom bolesti (66).

Depresija, simptom koji se javlja kod svih tumorskih bolesti, vrlo je učestala u bolesnika s karcinomom pankreasa, što se najčešće pripisuje konačnoj dijagnozi tumora u neresektabilnoj fazi i lošoj dugoročnoj prognozi.

Migrirajući tromboflebitis (Trousseauov znak), duboka venska tromboza, tromboembolijski incidenti i marantički endokarditis mogu se javiti kao prvi znakovi bolesti.

Ovisno o lokalizaciji tumora može se govoriti o predominaciji simptoma, za tumor s lokalizacijom u području glave pankreasa to je bezbolna žutica, a za one u području glave i repa specifična je bol. Nažalost, većina tih simptoma prisutna je kad je bolest toliko uznapredovala da se ne može kirurški liječiti.

Case control studija provedena u 120 bolesnika s karcinomom pankreasa pokazala je da su spomenuti nespecifični simptomi češći u ispitivanoj nego u kontrolnoj skupini (67).

U fizikalnom statusu, od općih znakova može se uočiti kaheksija, gubitak na težini te palpirati rezistencija u području epigastrija. Jedan od znakova je i palpabilni bezbolni žučni mjehur, tzv. Courvoisierov znak, te ekskoriacije koje su posljedica svrbeža.

Znakovi metastatske bolesti su palpabilna intraabdominalna masa, ascites, hepatomegalija i/ili splenomegalija kao posljedica opstrukcije portalnoga venskog sustava. Paraumbilikalne supkutane metastaze, takozvani čvor Sister Mary Joseph, Virchowljevi čvorovi, odnosno supraklavikularna limfadenopatija ili palpabilna rektalna masa često su prisutni kod diseminirane bolesti. Rjeđe mogu biti prisutna supkutana područja nodularne nekroze masnoga tkiva, točnije pankreatični pankulitis.

Laboratorijski znakovi kod karcinoma pankreasa uglavnom su nespecifični. Tako može biti prisutna anemija kronične bolesti, trombocitoza te znakovi kolestaze. Mogu se naći povišene vrijednosti bilirubina, alkalne fosfataze i gama-glutaril transferaze te povišenje u manjoj mjeri aspartat i alanin aminotransferaza. Hiperamilazemija i povišene lipaze prisutne su u polovine bolesnika s resektabilnim karcinomom i u četvrtine s neresektabilnim. Jetrene metastaze mogu uzrokovati povišenje alkalne fosfataze i jetrenih aminotransferaza. Svakako treba uvijek uzeti u obzir posljedice malnutricije, primjerice hipoalbuminemiju i hipokolesterolemiju.

Zbog kasne pojave simptoma, koji su najčešće nespecifični, u samo 15–20% bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze moguće je kirurški resekirati tumor (67).

1. 6. Dijagnostičke metode

Dijagnostički testovi, kao što je određivanje tumorskog biljega CA 19-9 te brojne slikovne tehnike, ultrazvuk (UZV) abdomena, višeslojna kompjutorska tomografija (MSCT), magnetska rezonancija (MR), kolangiopankreatografija (MRCP), endoskopska retrogradna kolangiopankreatografija (ERCP), endoskopski ultrazvuk (EUS), aspiracijska citopunkcija tankom iglom pod vodstvom UZV-a, CT-a ili EUS-a i laparoskopija, nisu se pokazali dostatnim u utvrđivanju bolesti u ranoj fazi dok je još lokalizirana i potencijalno kurativno operabilna.

1. 6. 1. Dijagnostički testovi

CA 19-9, sijalizirani antigen Lewis krvne grupe A, standardni je tumorski biljeg adenokarcinoma gušterače i jedini ima opravdanu kliničku primjenu. Osjetljivost i specifičnost tog biljega za karcinom gušterače iznosi 80% do 90% ovisno o veličini tumora (68). U bolesnika s malim i kirurški resektabilnim karcinomima korist određivanja CA 19-9 ograničena je (69, 70). Znatno udio populacije (5–10%) karakterizira Lewis-negativni fenotip kod kojih određivanje CA 19-9 nije svrsishodno (71). Vrijednost od 37 IU/ml granica je benignih i malignih bolesti pankreasa, s osjetljivošću testa 77% i specifičnošću 87%. No ako su isključeni drugi uzroci kao što su bilijarna opstrukcija, benigne bolesti pankreasa i jetrena bolest, vrijednosti CA19-9 iznad 100 U/ml visoko su specifične za malignu bolest. Iz navedenoga proizlazi da se CA 19-9 ne može primjenjivati kao metoda probira u dijagnosticiranju karcinoma gušterače, kao ni samostalni indikator operabilnosti. Određivanje razine inicijalnih i postoperativnih vrijednosti CA 19-9 primjenjuje se u praćenju tijeka bolesti (odgovora na terapiju i pojave recidiva bolesti), što se mora potvrditi slikovnim metodama i/ili biopsijom. Iako je nekoliko serumskih biljega proučavano u pretkliničkim studijama, primjerice makrofag inhibirajućeg citokina-1, nijedan dosad nije zamijenio CA 19-9. Samo 4% bolesnika sa CA19-9 >300 imaju resektabilni tumor te se postavlja pitanje da li se kombinacija slikovnih metoda i vrijednosti CA19-9 može primijeniti za odluku o potencijalnoj resektabilnosti. CA19-9 nije dobar biljeg za probir (*screening*), ne preporučuje se koristiti se

samo njime kao prediktivnim markerom operabilnosti te kao dokazom recidiva tumora, bez potvrde slikovnim metodama ili biopsijom. Iako se ne preporučuje uporaba samo vrijednosti CA19-9 za praćenje odgovora na liječenje, može se serijski (svaki mjesec do svaka 3 mjeseca) određivati tijekom provođenja terapije pa ako dođe do porasta vrijednosti zaključak je da bolest progredira. Pritom CA19-9 nije specifičan samo za karcinom pankreasa, već su mu vrijednosti povišene i kod tumora gornjega gastrointestinalnoga trakta, tumora ovarijskog, hepatocelularnog i kolorektalnog karcinoma, u upalnim stanjima hepatobilijarnoga sustava i drugim benignim bolestima, primjerice bolestima štitnjače. Također može biti povišen kod malignih i benignih opstrukcija bilijarnoga trakta. CA19-9 ne mora biti povišen kod malih malignih tumora bilijarnoga trakta. Pri preoperativnoj evaluaciji vrijednosti CA19-9 često su bile određivane kako bi se došlo do ishoda bolesti.

Postoje studije na malom broju bolesnika koje su pokazale korelaciju između preživljenja bolesnika i pada vrijednosti CA19-9. Pad u CA19-9 vrijednostima pomaže i u određivanju učinkovitosti određenih kemoterapeutika i da li treba nastaviti liječenje s njima. Povišenje vrijednosti CA19-9 na početku kemoterapije povezuje se s lošijim preživljenjem. Koliko često treba određivati vrijednosti još nije utvrđeno te koje povišenje vrijednosti CA19-9 je signifikantno i nakon koliko vremena se ta promjena mora vidjeti (72). U općoj populaciji u osoba starijih od 40 godina povišene vrijednosti CA19-9 nađene su u 0,2% asimptomatskih osoba uz 80% lažno pozitivnih nalaza, dok u osoba sa simptomima u 4,3% slučajeva. Pacijenti sa CA19-9 <100 IU najvjerojatnije nemaju okultne metastaze i stoga nije potrebno laparoskopsko određivanje proširenosti tumora prije operativnoga zahvata. Preoperativne vrijednosti >50 U/l CA19-9 pokazale su povećanu šansu za recidiv bolesti (73, 74).

Karcinoembrijski antigen (CEA) koji je tumorski marker mnogih gastrointestinalnih karcinoma nije dovoljno osjetljiv ni specifičan marker karcinoma gušterače.

1. 6. 2. Slikovne metode

Postoji više slikovnih metoda za verifikaciju karcinoma pankreasa, uključujući transabdominalni ultrazvuk (UZV), endoskopski ultrazvuk (EUS), kompjutorsku tomografiju (MSCT), endoskopsku kolangiopankreatografiju (ERCP), magnetsku kolangiopankreatografiju (MRCP), magnetsku rezonanciju (MR), pozitronsku emisijsku tomografiju (PET). Iako postoji više smjernica i radnih skupina koje su donijele konsenzuse, radiološki su kriteriji neresektabilnosti raka gušterače isti, dok opće stajalište o granično resektabilnim tumorima još nije doneseno.

Opći su radiološki kriteriji za neresektabilnost:

- 1) lokalno proširena i metastatska bolest koja podrazumijeva zahvaćenost peripankreatičnog tkiva, regionalnih i udaljenih limfnih čvorova i/ili udaljene metastaze;
- 2) zahvaćenost više od 50% cirkumferencije ili okluzija gornje mezenterične vene ili pripoja gornje mezenterične vene i portalne vene;
- 3) zahvaćenost gornje mezenterične arterije, donje šuplje vene, aorte ili celijačnog trunkusa;
- 4) kod tumora repa zahvaćenost slezene ne znači inoperabilnost (75).

Granično resektabilni tumori po The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) su oni tumori glave i trupa kod kojih postoji (76):

- 1) značajna unilateralna i bilateralna zahvaćenost gornje mezenterične ili portalne vene;
- 2) manje od 50% zahvaćenosti cirkumferencije gornje mezenterične arterije, zahvaćenost hepatične arterije te okluzija kratkog segmenta gornje mezenterične vene samo ukoliko je moguća rekonstrukcija vene, odnosno uvjet je postojanje adekvatnog segmenta proksimalno i distalno od tumora;
- 3) granično resektabilni tumori repa pankreasa su oni koji zahvaćaju manje od 180 stupnjeva gornje mezenterične arterije ili celijačne arterije (*truncus celiacus*).

American Hepato-Pancreato-Biliary Association, Society of Surgical Oncology and the Society for Surgery of the Alimentary Tract smatraju granično resektabilnim tumorima one (77):

- 1) kod kojih nema udaljenih metastaza;
- 2) koji zahvaćaju gornju mezenteričnu i portalnu venu sa ili bez opstruiranja njihova lumena;
- 3) koji zahvaćaju SMV/portalnu venu, ali bez zahvaćanja okolnih arterija, ili mali segment okluzije vene koji je rezultat tumorskoga tromba ili infiltracije, ali uz odgovarajući proksimalni i distalni odječak pogodan za rekonstrukciju;
- 4) gdje tumor ne zahvaća više od 180 stupnjeva cirkumferencije zida krvne žile.

Transabdominalni ultrazvuk inicijalna je (*screening*) metoda u otkrivanju karcinoma pankreasa. To je jeftina i neinvazivna metoda kojom se može vizualizirati dilatirano pankretobilijarno stablo, tumorska masa unutar pankreasnoga tkiva, lokalna proširenost bolesti i ujedno udaljene metastaze u abdomenu. Osjetljivost i specifičnost u detekciji karcinoma pankreasa iznose 75% do 89% i 90 do 99%, a točnost do 82%. Mora se uzeti u obzir da su rezultati ovisni o iskustvu ultrasoničara, prisutnosti/odsutnosti dilatacije žučnih vodova, veličini tumora, građi bolesnika (adipozitet) i pripremljenosti bolesnika za izvođenje metode (meteorizam) (78, 79).

CT je metoda izbora, za dijagnostiku tumorskih masa veličine 1–2 cm i određivanje stupnja proširenosti (*staging*) karcinoma pankreasa (80). Iako se njime može detektirati 90–95% tumora pankreasa, CT s iv. kontrastom ima visoku prediktivnu vrijednost neresektabilnosti tumora 90–100% i nisku vrijednost resektabilnosti 64–90% (81, 82). Iako su EUS i CT komplementarne metode u *stagingu* karcinoma pankreasa, EUS je točnija metoda za *T-* i *N-staging* te predikciju vaskularne invazije, dok je CT superiorniji u evaluaciji udaljenih metastaza. Iako je EUS točnija metoda u određivanju zahvaćenosti portalne vene ili vene mezenterike superior (VMS) tumorom, CT ima veću točnost u određivanju zahvaćenosti arterije mezenterike superior (AMS) (83). Iznimno je važno odrediti zahvaćenost i stupanj zahvaćenosti okolnih vaskularnih struktura. Jedna je studija naime pokazala da ako nisu bile

zahvaćene glavne vaskularne strukture resektabilnost je bila 90%, a kod djelomične zahvaćenosti SMV ili SMA smanjen je broj resektabilnih bolesnika na 10–50%, ovisno o zahvaćenosti vaskularnih struktura (84, 81).

MR se ne razlikuje u dijagnostici i *stagingu* karcinoma pankreasa u odnosu na MSCT, stoga izbor metode ovisi o tehničkoj raspoloživosti sama centra i iskustvu radiologa.

MRCP je jednako osjetljiv kao ERCP u detekciji raka gušterače, a s obzirom da nema potrebe za administracijom kontrasta izravno u pankreato-bilijarne vodove, smanjen je morbiditet te je to metoda koja se preferira. Adamek i sur. (85) pokazali su da osjetljivost MRCP-a u dijagnostici karcinoma pankreasa iznosi 84%, a specifičnost 97% u odnosu na ERCP (osjetljivost 70%, specifičnost 94%). Ograničenje je MRCP-a i MR-a nemogućnost izvođenja iglenih punkcija, iako se danas sve više primjenjuje.

PET-CT 18-fluoroksideoksiglikozom (FDG) temelji se na diferencijaciji karcinomskih stanica od benignih na temelju nakupljanja FDG-a u metabolički aktivnim proliferativnim lezijama kao što je karcinom. Problem se javlja u diferencijaciji karcinoma od kroničnoga pankreatitisa jer kod tih bolesnika također dolazi do nakupljanja FDG-a. U usporedbi s MSCT-om (76%) i MR-om (79%), PET CT (89%) osjetljiviji je u detekciji primarnoga tumora i metastaza, posebice okultnih, dok je u detekciji metastatskih limfnih čvorova, koji su bitni u određivanju resektabilnosti nedovoljna (osjetljivost 30%) (86, 87). U metaanalizi 17 studija uspoređivani su FDG/PET s CT-om. Osjetljivost i specifičnost CT-a su bili 81% (72–88%) i 66% (53–77%), dok su osjetljivost i specifičnost PET-a varirali ovisno o rezultatima CT-a. Osjetljivost i specifičnost nakon pozitivnoga CT-a bila je 92% (87–95%) i 68% (51–81%), a nakon negativnoga CT-a 73% (50–88%) i 86 (75–93%). Nakon dvojbenoga CT-a, osjetljivost PET CT-a bila je 100%, a specifičnost samo 86%. Budući da je jedan od simptoma karcinoma pankreasa šećerna bolest, evaluiran je efekt hiperglikemije na osjetljivost i specifičnost PET-a; hiperglikemija povećava broj lažno negativnih PET-a. S obzirom na dosadašnje rezultate studija, PET nije metoda izbora u dijagnostici karcinoma pankreasa, no metoda ima budućnost u bolesnika s visokosuspektnim karcinomom pankreasa, a negativnim ili dvojbenim nalazom CT-a.

ERCP je visokoosjetljiva metoda u detekciji pankreasnih i bilijarnih duktalnih abnormalnosti, no često je teško razlikovati da li su promjene uzrokovane karcinomom pankreasa ili kroničnim pankreatitisom. Također se tom metodom može previdjeti tumor lokaliziran u repu, akcesornom vodu i uncinatusu. Znakovi koji mogu ukazivati na postojanje maligniteta su strikture duže od 10 mm neravnih rubova, opstrukcija i striktura glavnoga pankreasnog voda te kompresija glavnoga žučnog voda izvana. Iako je ERCP nekad bio zlatni standard, danas je zbog invazivnosti metode i 5–10%-tnog rizika od komplikacija, u dijagnostici je zamijenjen EUS-om. Ipak, još se primjenjuje kao terapijska mjera u rješavanju bilijarne opstrukcije ili za dijagnozu rijetkih tumora kao što je intraduktalna pankreasna mucinozna neoplazma (IPMN). Budući da danas postoje druge endoskopske metode koje su specifičnije, primjerice EUS, ERCP je izgubio primat u dijagnostici raka gušterače, posebice onih koji ne dovode do bilijarne kompresije/opstrukcije. Također, metoda pod kontrolom ERCP-a za citopatološku dijagnostiku suspektne pankreasne mase, *brush*-citologija (osjetljivost 35–70%, spec. 90% i točnost 60–72%) i forceps-biopsija (osjetljivost 43–88% i specifičnost 90%) zamijenjene su sigurnijom i točnijom metodom, EUS-FNA (88, 89). Iako istodobno izvođenje obje metoda ne povećava osjetljivost, kod kompletnih duktalnih opstrukcija, striktura intrapupularno i kad je prvi nalaz citologije bio negativan te je potrebno ponavljanje obje metode izvode se tijekom iste pretrage. Iako se ERCP-om ne može odrediti stupanj proširenosti bolesti, prednost metode leži u terapijskom modalitetu. Potrebno je napomenuti da se danas EUS sve više primjenjuje i u terapijskom dijelu.

EUS je metoda koja je danas zlatni standard u dijagnostici raka gušterače s osjetljivošću 80–95% i specifičnošću 100%, čiji negativan nalaz gotovo 100% isključuje postojanje karcinoma (90). Osjetljivost i specifičnost procedure karcinoma pankreasa ovisi o veličini tumora i iskustvu operatera. U verifikaciji etiologije opstruktivne žutice EUS je točan kao i ERCP i MRCP. EUS je jednako vrijedan u ocjenjivanju resektabilnosti tumora. Superiorniji je u odnosu na CT kod određivanja T-stadija (točnost 63–94%), posebice u određivanju zahvaćenosti portalne vene, te manjom točnošću u određivanju N-stadija (44–82%). Metaanaliza 29 studija pokazala je visoku specifičnost (90%) i manju osjetljivost (75%) u detekciji vaskularne invazije, posebice u tumorima koji su

manji od 3 cm (91). Indikacija su za EUS-FNA male lezije koje se ne mogu jasno okarakterizirati CT-om i MR-om, lezije okružene vaskularnim strukturama koje onemogućuju punkciju transabdominalnim putem, punkcija metastatskih limfnih čvorova, metastaze u jetri i dokazivanje karcinomatoza punkcijom ascitesa. Kod neresektabilnih bolesnika EUS-FNA primjenjuje se radi potvrde dijagnoze i planiranja daljega palijativnog liječenja, dok se kod resektabilnih EUS-FNA obično ne izvodi.

Perkutana biopsija može biti provedena pod nadzorom ultrazvuka ili CT-a; osjetljivost varira od 80% do 90%, a specifičnost od 98% do 100%. Pokazano je da su EUS-FNA i transabdominalna punkcija jednako točni kod dijagnostike lezije pankreasa većih od 3 cm te čak pokazuju veću točnost u odnosu na male lezije koje se nisu mogle okarakterizirati UZV-om ili CT-om. Teoretska zabrinutost da perkutana FNA-biopsija pankreasa može proširiti tumorske stanice intraperitonealno ili duž puta igle u bolesnika koji su mogući kandidati za kurativnu resekciju postoji, no rizik je jako nizak ili ga gotovo nema. U jednoj studiji na 41 bolesniku operiranu zbog primarnog adenokarcinoma pankreasa, 21 je podvrgnut punkciji pod kontrolom CT-a ili transabdominalnoj pod nadzorom UZV-a. Nije bilo povećanja u broju pozitivnih peritonealnih ispiraka, peritonealne stope zatajenja niti medijana preživljenja bolesnika. Zabrinutost ipak postoji, stoga se u praksi pokušava izbjeći perkutana FNA kod operabilnih tumora (92).

U izvođenju transduodenalne ili transgastrične EUS-FNA tih briga nema. EUS-FNA najbolji je modalitet za dobivanje tkiva za dijagnostiku iako je tumor recimo prethodno slabije vizualiziran drugim tehnikama. Tom je metodom manje moguć intraperitonealan rasap jer se biopsija izvodi kroz zid crijeva. Dodatak molekularne genetske analize (npr; K-ras ili p53 genske mutacije PCR-om ili restrikcija duljine polimorfizma, promotor metilacije tumor supresor gena različita ekspresija proteina ili citološki pregled mogu poboljšati osjetljivost, posebice u pacijenata s malim primarnim tumorima. No molekularne analize ne bi smjele biti rutinska komponenta u dijagnostičkoj evaluaciji pankreasnih masa, već u onih nejasnih. Javlja se uvijek pitanje da li je potrebna preoperativna biopsija (93–97).

Dijagnostička biopsija sumnjivih pankreasnih promjena indicirana je za stvaranje plana liječenja kod sistemske bolesti, kod lokalno uznapredovalih

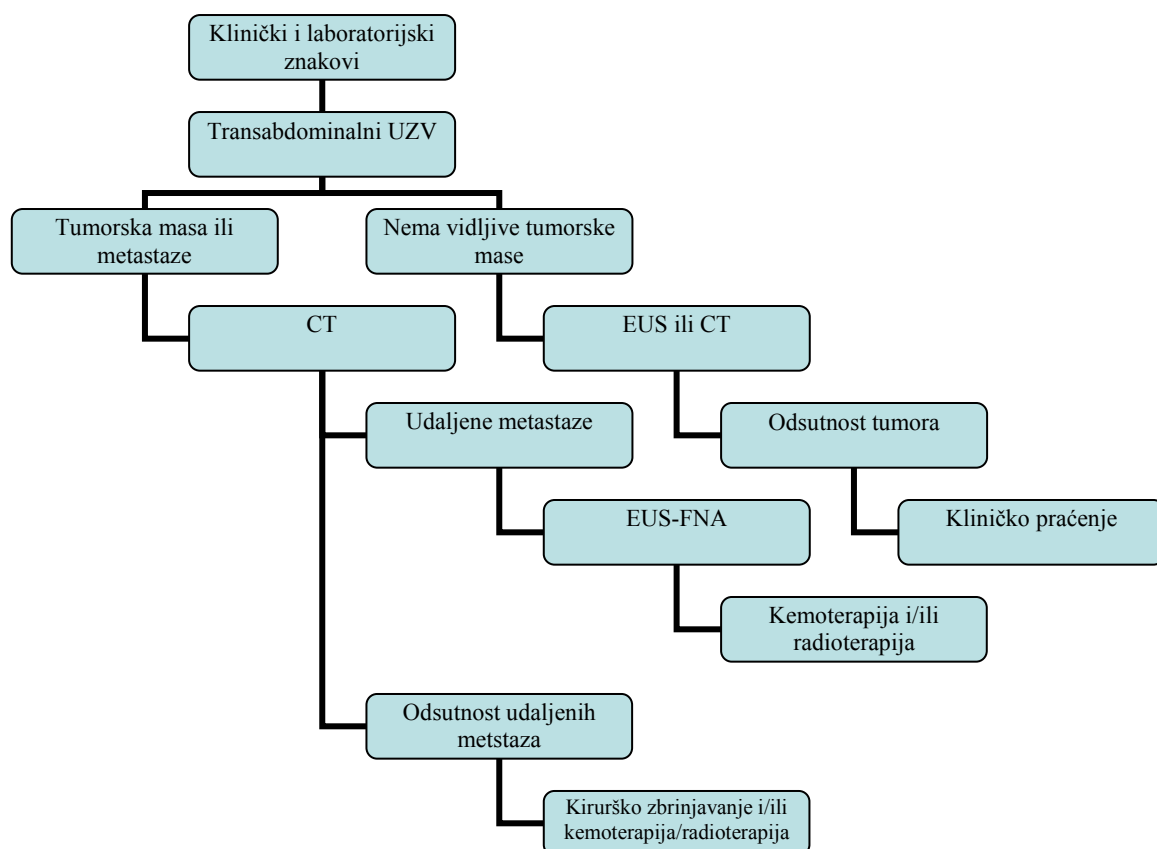
tumora radi dokaza neresektabilnosti, kada bolesnik ne može podnijeti operativni zahvat ili ako se razmatra neoadjuvantna terapija. Kontroverzna su stajališta da li je potrebna preoperativna dijagnostička biopsija u osoba koje mogu podnijeti operativni zahvat i koji imaju potencijalno resektabilnu bolest. Dok pozitivan nalaz biopsije potvrđuje suspektu dijagnozu, benigni uzorak ne mora isključiti malignitet. U jednom sistematskom preglednom članku od 53 studija koje su se bavile tim pitanjem negativna prediktivna vrijednost perkutane ili tankoiglene punkcije EUS bila je samo 60–70% (98). Mnogi kirurzi indiciraju odmah operativni zahvat kod operabilnih pacijenata, iako postoje iznimke. Primjerice, dodatne slikovne pretrage i biopsija mogu biti indicirane ako na temelju anamneze sumnjamo na autoimuni ili kronični pankreatitis.

Točno laparoskopsko određivanje proširenosti bolesti omogućuje planiranje i primjereno liječenje bolesnika te, ovisno o nalazu, probir bolesnika za operativni zahvat, no kao što je poznato, većina bolesnika u trenutku dijagnoze ima neresektabilan tumor pa se postavljanja pitanje izbjegavanja dijagnostičke laparoskopije, koja može biti pogubna za bolesnika. Današnje metode karakterizira velika točnost u predikciji neresektabilnosti, ali nisu toliko točne u predikciji resektabilnih slučajeva uglavnom zbog limitirane osjetljivosti za male metastatske tumore. Radiografski okultne metastaze (<1 cm u promjeru) na površini jetre ili peritoneuma koje su rijetko vidljive CT-om, MR-om ili transabdominalnim ultrazvukom mogu se vizualizirati laparoskopski. Studije su pokazale da se za trećinu bolesnika koji su na temelju slikovnih metoda bili smatrani resektabilnima laparoskopski pokazalo da su neresektabilni. S druge strane duljina hospitalizacije, troškovi i morbiditet bitno su smanjeni kada se izbjegne nepotrebna laparotomija u neresektabilnih ili bolesnika s metastatskom bolešću. Drugi pak podupiru selektivni pristup dijagnostičkoj laparoskopiji da bi maksimalizirali dobit, ograničujući postupak na one koji imaju najveću mogućnost okultnih metastaza. To uključuje bolesnike s tumorom u vratu i repu pankreasa koji se čine da su potencijalno resektabilni drugim slikovnim metodama, bolesnici s velikim (>3 cm) primarnim tumorima, svaki bolesnik kojem je radiološkom metodom postavljena sumnja na okultnu metastatsku bolest i oni s inicijalnim visokim razinama CA 19-9 (>1000 IU/ml) (99, 100).

Tijekom laparoskopije za određivanje proširenosti bolesti dobiva se peritonealni ispirak. Iako većina bolesnika koja ima pozitivnu peritonealnu

citologiju ima i druge pokazatelje uznapredovale bolesti i neeresektibilnosti, ako oni nedostaju, većina kirurga ne pouzdaje se u rezultate peritonealnog ispirka dobivena za vrijeme laparoskopije u odlučivanju o resektibilnosti. AJCC staging sistem smatra pozitivni peritonealni ispirak stadijem M1 (101).

Na slici 1 prikazana je shema dijagnostičkog i terapijskog pristupa bolesnicima s rakom gušterače.



Slika 1. Shema dijagnostičkog i terapijskog pristupa bolesnicima s rakom gušterače.

1. 7. Liječenje

Pristup liječenju bolesnika s karcinomom gušterače u najvećoj mjeri ovisi o stupnju proširenosti bolesti koji se temelji na TNM-klasifikaciji (6). Resektabilnost tumora ovisi o preoperativnom radiološkom određivanju stadija bolesti. Općenito, može se reći da su prema TNM-klasifikaciji tumori u stadiju I–IIB resektabilni, iako naravno postoje još dodatni čimbenici koji to mogu promijeniti. Ukoliko je riječ o lokaliziranom karcinomu gušterače, radiološki resektabilnom, metoda je izbora radikalno kirurško liječenje; Whippleova operacija, distalna i totalna pankreatektomija; uz moguću adjuvantnu kemoterapiju i/ili radioterapiju. Ako je riječ o lokalno uznapredovaloj ili metastatskoj bolesti, provodi se palijativna terapija, u obliku kemoterapije ili radioterapije ili njihova kombinacija te palijativni postupci radi uklanjanja simptoma koji negativno utječu na kvalitetu života bolesnika.

1. 7. 1. Kirurški pristup

Pankreatikoduodenektomija, odnosno operacija po Whippleu, izvodi se u bolesnika s tumorom pankreasa lokaliziranim u glavi pankreasa i uncinatusu, kod duktalnih karcinoma, kolangiokarcinoma i kod postojanja duodenalnih masa. Strukture koje se odstranjuju prilikom operativnog zahvata imaju zajedničku vaskularnu opskrbu. Smrtnost procedure iznosi 6,6%, petogodišnje preživljenje je oko 20% do 30% uz medijan preživljenja 10 do 20 mjeseci i postojanje mnogobrojnih komplikacija (103). U 25% bolesnika javlja se kasno gastrično pražnjenje, u 5% do 10% bolesnika dolazi do curenja crijevnoga sadržaja u trbušnu šupljinu na razini anastomoze, postoperativnog apscesa i drugih rjeđih komplikacija (104). Perzistiranje opstruktivne žutice može posljedično dovesti do koagulopatije, malapsorpcije i malnutricije. Postoji više studija koje su pokazale da preoperativna bilijarna drenaža predisponira pojavu većega broja postoperativnih komplikacija u odnosu na rani operativni zahvat bez preoperativne bilijarne dekompresije (105). Ipak, te studije nisu uzele u obzir veličinu stenta, naime, uspoređujući stentove od 10F s ranim operativnim zahvatom bez rješavanja opstruktivnog ikterusa učestalost je komplikacija gotovo jednaka (47% naprema 37%) (106). Preoperativno smanjena bubrežna

funkcija, dugotrajna opstruktivna žutica te znatan volumen intraoperativnog gubitka krvi povećavaju perioperativni morbiditet i mortalitet. Iako se mislilo da varijanta Whippleove operacije s očuvanjem pilorusa smanjuje učestalost pojave kasnoga gastričnog pražnjenja, studije su pokazale da nema razlike. Ishemijske komplikacije koje mogu dovesti do dehiscijencije anastomoze, zatajenja jetre i nekroze crijeva najvjerojatnije su posljedica preegzistirajuće stenoze arterija ili intraoperativne traume vaskularnih struktura (107).

House i sur. (108) pokazali su da je najvažniji prediktor preživljenja nakon Whippleove operacije broj pozitivnih čvorova, štoviše važniji od pozitiviteta rubova resekcije. U prilog tomu govore podaci o petogodišnjem preživljenju bolesnika, koje je u onih s pozitivnim limfnim čvorovima 10%, a s negativnim 25-30% (109). Ostali su prediktori povoljnog ishoda: iskustvo operatera, veličina tumora manja od 3 cm, negativni resekcijski rubovi, lokalizacija tumora u glavi gušterače, visok stupanj diferenciranosti te intraoperativni gubitak krvi manji od 750 ml (110, 111). Proširena limfadenektomija podrazumijeva Whippleovu operaciju i regionalnu limfadenektomiju. Vodeći se mišlju o čestim okultnim metastazama u regionalnim limfnim čvorovima, ipak se ne izvodi jer nema dokaza o boljem preživljenju. Distalna pankreatektomija ima za 3,5% manji mortalitet od Whippleove operacije, ali je kurativna resekcija limitirana te se primjenjuje uglavnom kod karcinoma repa pankreasa (112). Komplikacije koje se javljaju su: curenje sadržaja crijeva u trbušnu šupljinu iz bataljka, krvarenje i endokrina insuficijencija.

Totalna pankreatektomija je metoda koja se najrjeđe izvodi i karakterizirana je mortalitetom od 8,3%. Ideja totalne pankreatektomije bila je izbjeći potrebu stvaranja pankreatikojejunalne anastomoze te postići negativne margine, posebice u tumora glave gušterače koji se šire u tijelo, što se Whippleovom operacijom ne bi moglo postići. No metaboličke posljedice u obliku egzokrine i endokrine insuficijencije te manje preživljenje (7,9 mjeseci u odnosu na 17,2 mjeseca kod Whippleove operacije) nisu uvrstile totalnu pankreatektomiju u rutinsku praksu. Ukoliko se Whippleovom operacijom može postići potpuno uklanjanje tumorskoga procesa, totalna pankreatektomija se ne izvodi jer nema većega benefita, a posljedice i komplikacije su veće. Preživljenje će se možda poboljšati s povećanjem broja bolesnika operiranih u

visokospecijaliziranim ustanovama (one koji rade dvije operacije godišnje, 2 do 4 operacije i više od 4; stope mortaliteta bile su 14,7%, 8,5% i 4,6%), niži perioperativni mortalitet, bolji izbor bolesnika i bolja adjuvantna terapija (103). Postoje još i modifikacije totalne pankreatektomije.

Regionalna pankreatektomija obuhvaća totalnu pankreatektomiju s rekonstrukcijom portalne vene i resekcijom regionalnih limfnih čvorova. Komplikacije, kao i preživljenje, slični su onima totalne pankreatektomije te se taj zahvat primjenjuje samo kod pojedinačnih slučajeva.

Ultraradikalna pankreatektomija koja uz pankreatektomiju i resekciju portalne vene uključuje još i resekciju retroperitonealnih limfnih čvorova također nije zaživjela u praksi zbog nepostojanja benefita u preživljenju (103).

1. 7. 2. Kemoterapeutici

Kemoterapeutici se rabe samostalno, u kombinaciji s radioterapijom kao adjuvantna terapija nakon operativnog zahvata ili neadjuvatno, prije operativnog zahvata, da bi se smanjila tumorska masa.

Prvotno se smatralo da negativni resekcijski rubovi određuju kompletnost resekcije, no danas je dokazano da je prisutnost pozitivnoga retroperitonealnog operacijskog ruba povezana s jako lošom prognozom. Opravdanost adjuvantne terapije leži u činjenici da polovina bolesnika koji primarno nisu imali dokaza regionalnih ni udaljenih metastaza razvije lokalni recidiv bolesti (114). Postoji nekoliko velikih studija (GITSG, ESPAC i CONKO) na kojima se zasnivaju teze o uporabi kemoterapeutika u liječenju karcinoma. Upravo su one sugerirale da kemoterapija samostalno ili u kombinaciji s radioterapijom može poboljšati preživljenje bolesnika nakon resekcije operabilne bolesti (115-117).

The Gastrointestinal Tumor Study Group (GITSG) pokazala je da je dvogodišnje preživljenje bolje (20% prema 10%), a medijan preživljenja dulji (20 prema 11 mjeseci) ako se primijeni kemoradioterapija adjuvantno u usporedbi samo s radioterapijom u bolesnika s lokalno uznapredovalom neresektabilnom bolesti (118, 119).

European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) studija je kojom je suprotno od studije GITSG pokazano da postoperativna

kemoterapija nije značajno povećala dvogodišnje preživljenje u odnosu na bolesnike koji su samo klinički praćeni (26 naprema 34%) (120, 121).

Studija ESPAC1 uspoređivala je adjuvantnu kemoterapiju, kemoradioterapiju i kemoradioterapiju nakon koje je uslijedila kemoterapija. Pokazala je da ne postoji razlika u preživljenju onih koji su dobivali adjuvantnu kemoradioterapiju u odnosu na kontrolnu skupinu (preživljenje 15,5 prema 16,1 mjeseci). No u skupini bolesnika koji su dobivali adjuvantnu kemoterapiju u odnosu na kontrolnu skupinu medijan preživljena bio je 19,7 prema 14 mjeseci. Sve te studije nisu bile dovoljne da se ijedan modalitet adjuvantne terapije prihvati kao standardan (121, 122).

Yang i sur. (123) u velikoj su prospektivnoj studiji na 2877 operiranih bolesnika uspoređivali bolesnike koji nisu dobili adjuvantnu terapiju, već su samo bili praćeni (50%), one koji su dobili postoperativnu kemoradioterapiju (25%) i one koji su dobili samo kemoterapiju (10%). Pokazano je da postoperativna kemoradioterapija pridonosi značajnom benefitu preživljenja nakon radikalne resekcije bolesnika s karcinomom pankreasa te da postoji dodatni benefit izvođenja operativnog zahvata u visokospecijaliziranim ustanovama, što je bio nezavisni faktor u odnosu na adjuvantnu terapiju.

Multicentrična randomizirana studija na 368 bolesnika uspoređivala je bolesnike na adjuvantnoj terapiji gemcitabinom u odnosu na kontrolnu skupinu. Pokazano je da ne postoji razlika u preživljenju između kontrolne skupine (medijan 20,2 mjeseca, 20,5% nakon 3 godine i 11,5% nakon 5 godina) i one u kojoj je primijenjen gemcitabin (medijan 22,1 mjesec, 34% nakon 3 godine i 22,5% nakon 5 mjeseci). Ipak, značajno je odgođen recidiv bolesti u bolesnika koji su dobili gemcitabin (13,4 mjeseci u odnosu na kontrolnu skupinu, 6,9 mjeseci). Bolest nije dokazana u većega broja bolesnika na terapiji gemcitabinom nakon 3 i 5 godina u odnosu na kontrolnu skupinu; 23,5% i 16,5% u gemcitabinskoj skupini te 7,5% i 5,5% u kontrolnoj skupini (117). Monoterapija gemcitabinom danas je najprihvaćenija standardna adjuvantna terapija za operabilne bolesnike (124).

Butturini i sur. (125) su metaanalizom 4 studije koja je uključila 875 bolesnika zaključili da adjuvantna kemoterapija treba biti standardna adjuvantna terapija te da ima veći benefit u bolesnika s negativnim resekcijskim rubovima nego u onih s pozitivnim resekcijskim rubovima. Gemcitabin je shvaćen kao

radiosenzibilizirajući kemoterapeutik. Regime i sur. uspoređivali su gemcitabin u odnosu na 5-FU ukoliko se doda adjuvantnoj kemoradioterapiji zasnovanoj na 5-FU. Dobiveno je bolje preživljenje u reseciranih bolesnika s tumorom glave pankreasa koji su u terapiji dobili gemcitabin; medijan preživljenja bio je 20,5 mjeseci, a trogodišnje preživljenje 31% u gemcitabinskoj skupini, prema 16,9 mjeseci i trogodišnje preživljenje 22% u 5-FU skupini, no statistički nesignifikantno ($p=0,09$) (126).

U studiji s 1092 bolesnika pokazani su bolji rezultati ukoliko se primijenila kemoradioterapija zasnovana na 5-FU u odnosu na kontrolnu skupinu (bolesnici koji su nakon Whippleove operacije samo klinički praćeni). Medijan preživljenja iznosio je 21,2 mjeseci za grupu s kemoterapijom 5-FU naprema 15,5 mjeseci u kontrolnoj skupini, dvogodišnje preživljenje iznosilo je 45% prema 31% te petogodišnje preživljenje 25% prema 12% u kontrolnoj skupini (127). S obzirom na dvosmislene rezultate studija pokušane su i kombinacije raznih kemoterapeutika: 5-FU, interferona alfa (INF alfa) i cisplatina s radioterapijom u studiji na 43 bolesnika. Jednogodišnje, dvo- i petogodišnje preživljenje iznosilo je slijedom 95%, 64% i 55%. Unatoč zadovoljavajućim rezultatima, toksičnost kombinacije tih kemoterapeutika i radioterapije bila je izrazita, 70% bolesnika imalo je srednje do izrazito toksične učinke (ponajviše gastroenterološke), a čak 42% zahtijevalo je hospitalizaciju (128). Budući da je spomenutom kombinacijom postignuto bolje preživljenje, ali zapažena velika toksičnost, provedena je studija s modifikacijom doze 5-FU i INF alfa, no i ta je studija nažalost prekinuta prije predviđenoga vremena praćenja zbog toksičnosti. Preživljenje bolesnika nakon 18 mjeseci bilo je 67% (129).

U multicentričnoj randomiziranoj studiji ESPAC3 s 1088 bolesnika uspoređivan je učinak gemcitabina i fluorouracila u bolesnika s reseciranim karcinomom pankreasa. Medijan preživljenja bio je u gemcitabinskoj skupini 23,6, a u skupini 5-FU 23 mjeseca. Potrebno je napomenuti da je skupina 5-FU imala veći broj bolesnika sa stupnjem toksičnosti 3 ili 4. S obzirom na gotovo jednako preživljenje, a manju toksičnost gemcitabina, upravo je taj lijek prihvaćen kao poželjniji terapeutik (130).

Dosad nije bilo studija koje su pokazale da adjuvantna radioterapija ima veći benefit od adjuvantne kemoterapije te zasad ne postoji konsenzus za adjuvantnu terapiju.

U Europi se pristup najviše zasniva na studiji ESPAC-1, kojom je pokazano da kemoterapija produljuje medijan preživljenja, a kemoradioterapija ga može pogoršati, što je i potvrđeno studijom CONKO (117, 122)

Američki pristup temelji se na NCCN-smjernicama, koje podrazumijevaju kemoradioterapiju 5-FU sa sistemskim gemcitabinom ili kemoterapiju samu (5-FU ili gemcitabin), s obzirom na ESPAC-3 u kojoj se preferira gemcitabin. Posljednja se posebice odnosi na tumore glave pankreasa. U kojim dozama, koliko često treba primjenjivati kemoterapeutike i provoditi radioterapiju nije još u potpunosti potvrđeno i prihvaćeno.

Većinom se koristi protokolima iz studije RTOG ili njezinih modifikacija. Najčešće se primjenjuje 5-FU u dozi od 225 mg/kg 5 dana u tjednu s kemoradioterapijom te nakon 3-5 tjedana gemcitabin 1000 mg/m² 1x tjedno 3 mjeseca te svaka tri tjedna stanka od tjedan dana (131).

Neoadjuvantna uporaba kemoterapeutika i/ili radioterapije kontroverzna je. Argument za uporabu temelji se na činjenici da je karcinom pankreasa sistemna bolest i trebala bi biti od početka liječena sistemski, što bi podrazumijevalo da bi bolesnici bolje podnijeli toksični učinak kemoterapije prije operativnog zahvata nego nakon njega te da će smanjenje volumena tumora učiniti resekciju manjom, čime bi se poboljšalo preživljenje. Nekoliko studija pokazalo je da je srednje preživljenje nakon neoadjuvantne terapije 25 mjeseci. Iako preoperativna radioterapija s 5-FU nije povećala perioperativni morbiditet i mortalitet, nije bilo ni evidentnoga poboljšanja preživljenja. Radioterapija, 5-FU i mitocin primijenjeni zajedno nisu značajno poboljšali preživljenje (10–16 mjeseci), no smatra se da je tom relativnom neuspjehu pridonio izbor bolesnika u studiji s uznapređovalom bolešću. Preoperativna radioterapija s kemoterapijom i intraoperativnom radioterapijom pokazala je medijan preživljenja 25 mjeseci (132). 5-FU, cisplatina i preoperativna radioterapija doveli su čak u tri bolesnika do potpunog patološkog odgovora; medijan 11,7 mjeseci. No kod povećanja doze zračenja i kemoterapeutika medijan je bio lošiji; 9,4 mjeseci (133).

Od bolesnika koji su dobili gemcitabin i radioterapiju, polovina je trebala hospitalizaciju zbog nuspojava, zabilježen je histološki odgovor, a medijan preživljenja bio je 22,7 mjeseca; 34 mjeseca nakon Whippleove operacije i 7,1 mjeseci u bolesnika koji nisu bili resecirani.

Gemcitabin i cisplatina prije kemoradioterapije nisu znatno poboljšali preživljenje; točnije ono je bilo 17,4 mjeseci; 31 mjesec nakon Whippleove operacije i 10,5 mjeseci u bolesnika koji nisu bili resecirani.

Prema rezultatima dosadašnjih studija nijedna forma neoadjuvantne terapije nije zasad opravdala uporabu, no još postoji veliki prostor za nove kliničke studije. Da li je adjuvantna bolja od neoadjuvantne te da li je možda potrebna kombinacija lijekova nije još određeno, jer nema studija.

Dva najčešće upotrebljavana lijeka kod lokalno uznapredovale i metastatske bolesti karcinoma pankreasa su 5-FU i gemcitabin. Gemcitabin je fluorirani analog deoksicitidina, koji kada se inkorporira u DNK inhibira sintezu DNK, inhibira njezin popravak i dovodi do apoptoze. Već 1997. pokazano je da gemcitabin u odnosu na 5-FU pospješuje sveukupno preživljenje i reducira simptome. Ipak, tek neznatno djeluje na kvalitetu života, što upućuje na razvoj kombinacija. Gemcitabin u kombinaciji s 5-FU, cisplatinom, irinotekanom, oksaplatinom i pemetreksom nije pokazao statistički signifikantno poboljšanje u kliničkom ishodu.

Capecitabin je oralni fluoropiramid koji se nakon apsorpcije u crijevu konvertira u 5-FU, koji u bolesnika s metastatskom bolešću vodi signifikantnom povećanju jednogodišnjeg preživljenja u odnosu na gemcitabin sam (134, 135). To je dovelo do toga da je FDA odobrila primjenu erlotiniba u kombinaciji s gemcitabinom samo u lokalno uznapredovanoj neresektabilnoj bolesti. Poboljšanje u postotku odgovora na terapiju nije toliko veliko, a zabilježena toksičnost bila je značajna (133).

1. 7. 3. Palijativno liječenje

Palijativni tretman dizajniran je da kontrolira simptome neresektabilnog ili rekurentnog karcinoma pankreasa te može omogućiti povlačenje opstruktivne žutice, opstrukcije prolaska želučanog sadržaja, boli i egzokrine pankreasne insuficijencije.

Najčešći su palijativni postupci koji se primjenjuju u slučaju boli rezistentne na opioidne analgetike neuroliza celijačnoga plexusa, bilijarni stentovi koji se postavljaju u slučaju opstruktivne žutice tijekom ERCP-a ili

uspostavljanje anastomoze tijekom operativnoga zahvata između bilijarnog i gastrointestinalnog trakta.

Kirurška opcija za razrješenje bilijarne opstrukcije uključuje anastomozu između žučnog mjehura i jejunuma (kolecistojejunostomija) ili između koledokusa i jejunuma (koledokojejunostomija). Kolecistojejunostomija može biti uzeta u obzir ukoliko duktus cystikus ulazi u duktus koledokus distalno od mjesta tumora. Koledokojejunostomija bi trebala biti poduzeta samo ako je duktus koledokus veći od 1 cm u promjeru. Drenaža je uspješna u 90% bolesnika u vraćanju bilirubina na normalne vrijednosti, no ne smije se zaboraviti da hiperbilirubinemija može biti i posljedica smanjene jetrene funkcije. Jedna je od prednosti kirurških premosnica mogućnost izvođenja profilaktičke ili terapijske gastrojejunostomije da bi se izbjegla gastroduodenalna opstrukcija te se ujedno može blokirati celijačni plexus radi regulacije boli. Mora se napomenuti da takvi bolesnici već sami po sebi imaju visok operativni rizik. U jednoj studiji perioperativni mortalitet i morbiditet bili su 3,1% i 22%, a preživljenje 6,5 mjeseci (136).

Endoskopski postavljeni stentovi omogućuju minimalno invazivan efekt palijacije žutice. Randomizirane studije nisu pokazale razliku između preživljenja u bolesnika kojima je postavljen stent i onih s kirurškim premosnicama kod maligne opstruktivne žutice, no kod bolesnika sa stentom češća je pojava rekurentne žutice i kolangitisa, ali imaju manji morbiditet povezan s postupkom. Postotak normalizacije bilirubina ovisi o njegovoj koncentraciji prije postavljanja stenta. U bolesnika u kojih se ne normaliziraju vrijednosti bilirubina u roku od 3–6 mjeseci smatra se da metoda nije uspjela te ju je potrebno ponoviti. Metalni stentovi bolji su od plastičnih jer postoji manja mogućnost da budu začepljeni nekrotičnim tkivom ili da ih preraste tumor. Metalni stentovi mogu se postaviti perkutano. Kada uspoređujemo perkutano postavljene stentove i one postavljene endoskopski, endoskopski imaju bolji uspjeh u rješavanju žutice, manji morbiditet i mortalitet (nakon 30 dana manji mortalitet 15% prema 33%). Druge studije pokazale su pak suprotno, odnosno više terapijskog uspjeha i smanjen postotak ranoga kolangitisa kod perkutanoga postavljanja stenta. Komplikacije kod perkutanoga pristupa drenaži (bilijarni *leakage* ili krvarenje) mogu biti potencijalno povišenje morbiditeta i mortaliteta. Perkutani stentovi češće su ostavljeni otvoreni u sklopu vanjske

drenaže, barem na početku, i to je često neugodno za bolesnika. Obloženi u usporedbi s čisto metalnim stentovima mogu imati više problema s prerastanjem tumora, dok neki smatraju da obloženi uzrokuju više kolangitisa. Obložene je lakše ukloniti (137-141).

Otprilike 15–20% bolesnika razvit će duodenalnu opstrukciju, koja dovodi do nemogućnosti prolaska želučanog sadržaja. Da bi izbjegli tu komplikaciju, mnogi kirurzi pri eksplorativnoj laparotomiji naprave profilaktičnu gastrojejunostomiju. Korisnost te metode pokazana je u metaanalizi tri prospektivne studije koje su uspoređivale profilaktičnu gastroenterostomiju u kombinaciji s biliodigestivnom anastomozom u odnosu na premosnice ili biliodigestivne premosnice. U bolesnika s profilaktičnom gastrojejunostomijom rizik od usporenja prolaska želučanoga sadržaja bio je signifikantno niži (OR 0,06, 95% CI 0,02–0,21), dok postoperativni morbiditet i mortalitet nisu bili povišeni. Trajanje hospitalizacije bilo je tri dana duže u skupini s profilaktičnom gastroenterostomijom. Zakašnjelo želučano pražnjenje događa se u otprilike 50% bolesnika, a znatan broj bolesnika umire u roku od 30 dana nakon provedena postupka (142, 143).

Samoeksandirajući metalni stentovi ponajbolja su opcija za rješavanje simptomatske opstrukcije prolaska želučanog sadržaja. Studije su pokazale da je preživljenje jednako kao u gastrojejunostomiji, između ostalog i da periproceduranih komplikacija nema te da samo malen broj bolesnika ima prerastanje tumorom, a hospitalizacija i troškovi postavljanja stenta bili su mnogo manji (144-146).

Usporen prolazak želučanoga sadržaja postoji u 60% bolesnika s karcinomom pankreasa bez dokaza invazije gastroduodenuma tumorom. Jedno od objašnjenja te pojave jest tumorska infiltracija živčanoga pleksusa. Trećina navodi mučninu i povraćanje kao simptome koji su posljednica želučane ili duodenalne opstrukcije. Gastrojejunostoma je neučinkovita metoda kod tih bolesnika (147).

Bol je često znak uznapredovaloga karcinoma gušterače. Često za otklanjanje boli mogu biti dovoljni opioidni analgetici, a kombinacija narkotika s antiemetcima i antidepresivima potencira i analgetski učinak. Kod onih kod kojih je medikamentozna terapija nedovoljna mogu se primijeniti i druge metode. Jedna je od metoda neuroliza celijačnoga pleksusa ili kemijska

splanhikektomija celijačnoga plexusa, lokalnom injekcijom alkohola (kojom se prekidaju dolazna živčana vlakna koja prenose bol iz visceralnih organa). Neuroliza se prije izvodila perkutano ili pod kontrolom CT-a, a danas se preferira pod kontrolom EUS-a. Radioterapija s kemoterapijom smanjujući veličinu tumora uzrokuje ublažavanje boli u 35–65% bolesnika i često popravlja kaheksiju i opstruktivne simptome, no ne utječe na preživljenje. Bol također može biti uzrokovana bilijarnom opstrukcijom (148).

Kao i kod svake tumorske bolesti malapsorpcija i gubitak na težini mogu biti posljedični čimbenik, no ovdje još postoji i aditivni čimbenik, a to je egzokrina insuficijencija koja vodi k malapsorpciji masti. Malapsorpcija masti najčešće se događa u bolesnika s opstrukcijom glavnoga žučnog voda, tj. tek kada je sekrecija lipaza manja od 10% normalne vrijednosti. Oni u kojih postoji sumnja na malapsorpciju masti trebaju u terapiji uzimati nadomjestak pankreasnih enzima, što će dovesti do dobivanja na tjelesnoj težini te smanjenja malapsorpcije proteina i masti (149).

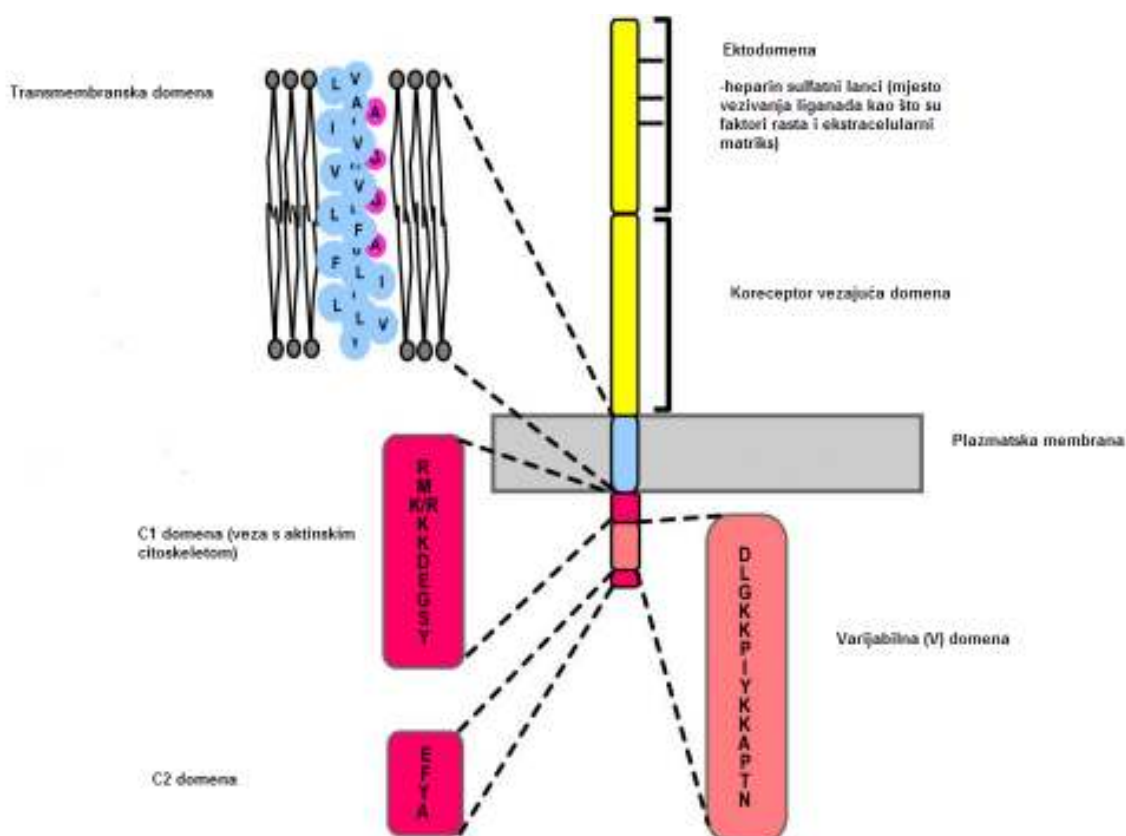
U tablici 14 prikazane su moguće opcije liječenja karcinoma gušterače s obzirom na proširenost (stadij) bolesti.

Tablica 14. Moguće opcije liječenja karcinoma pankreasa s obzirom na proširenost (stadij) bolesti. Preuzeto iz <http://www.cancer.gov>

	Postojeća terapija	U fazi kliničkog ispitivanja
Stadij I i II	Radikalna pankreasna resekcija: – Whippleova operacija (pankreatikoduodenektomija) – totalna pankreatektomija s obveznim adekvatnim rubovima – distalna pankreatektomija tumora	Za bolesnike s reseciranim tumorima, postoperativna radioterapija s drugim kemoterapeutcima
	Radikalna resekcija pankreasa sa ili bez postoperativne 5-FU ili gemcitabinske kemoterapije i radioterapije	Za bolesnike s reseciranim tumorima postoperativna kemoterapija sama. RULN-NCRI-ESPAC-3V2 studija evaluirala je postoperativnu kemoterapiju s 5-FU/leikovorin ili gemcitabinom u odnosu na samo kliničko praćenje. Rezultati još nisu konačni.
Stadij III	Palijativna kirurška bilijarna drenaža, želučano premoštenje, perkutano postavljanje stenta ili endoskopsko.	Novi terapeutici u kombinaciji s gemcitabinom ili kemoradioterapijom (npr. RTOG-PA-0020)
	Kemoterapija gemcitabinom	Intraoperativna radioterapija i/ili implantacija radioaktivnih izvora
Stadij IV	Kemoterapija gemcitabinom ili gemcitabinom i erlotinibom	Novi terapeutici
	Palijativne metode	
Rekurentni karcinom pankreasa	Kemoterapija 5-FU ili gemcitabinom	Kliničke studije evaluacije modulacije fluoriranih pirimidina ili biološka terapija (faza I i II).
	Palijativne metode	

1. 8. Sindekani

Sindekani su transmembranski heparin sulfat proteoglikani koji su izraženi na raznim adhezivnim i neadhezivnim stanicama, a sudjeluju u kontroli stanične proliferacije, diferencijacije, adhezije i migracije (150). Porodicu sindekana sačinjavaju četiri člana koji su podijeljeni u dvije podskupine, 1 i 3 te 2 i 4. Svi članovi obitelji sindekan imaju 5 eksona, a razlikuju se u dužini eksona 3, koja je determinirana brojem aminokiselina (sindekan 1, 2, 3 i 4: broj aminokiselina 310, 201, 346 i 198). Svi sindekani građeni su od tri domene: ekstracelularne (ektodomena, N-terminalni signalni peptid), hidrofobne transmembranske i intracelularne (C-terminalni signalni peptid) (sl. 2) (151).



Slika 2. Struktura sindekana (Preuzeto iz: Beauvais DM, Rapraeger AC. Syndecans in tumor cell adhesion and signaling. Reprod Biol Endocrinol 2004;2:3.) (151)

Usidreni su u staničnu membranu hidrofobnom transmembranskom domenom koja se sastoji od 24-25 aminokiselina. Ekstracelularnu domenu čine vezujući dio građen od aminokiselina i glikozaminoglikani (tri do pet heparin ili hondroitin sulfatnih lanaca) koji se primarno sintetiziraju u Golgijevu aparatu, a potom modificiraju sulfatazama i heparinazama. Upravo ekstracelularna domena omogućuje interakciju sindekana s ekstracelularnim komponentama i solubilnim faktorima rasta kao što su faktor rasta fibroblasta (FGF), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), transformirajući faktor rasta beta (TGF- β), fibronektin i antitrombin-1 funkcionirajući kao koreceptor. Ektodomena i varijabilna regija intracelularne domene variraju između različitih tipova sindekana, dok su transmembranska i intracelularne C1 i C2 domene jednake u svih sindekana. Intracelularna domena sastavljena je od dviju stalnih C1 i C2 regija i jedne varijabilne (V), koja je jedinstvena za svaki sindekan (152-154). Cijepanjem heparinazama heparin sulfatnih (HS) lanaca postiže se njihova aktivnost i ujedno omogućuje stanična signalizacija potaknuta interakcijom s različitim ekstracelularnim ligandima. Ovisno o staničnoj lokalizaciji sindekana, glikozaminoglikani imaju različitu strukturu radi prilagodbe funkcijskim potrebama određene regije. Sindekani mogu postići svoju funkciju na četiri različita načina. Prva je aktivacija receptora faktora rasta u funkciji koreceptora, kao što su FGF, HGF, EGF, VEGF i drugi. Zatim sindekani omogućuju adheziju ekstracelularnoga matriksa i stanica. Primjerice, pokazano je da se sindekani vežu za strukturalni ekstracelularni matriks kao što su kolagen I, III, V, fibronektin, trombospondin i tenascin. Treća je funkcija stanično-stanična adhezija te četvrta, i ujedno najistraživanija, tumorska supresija i progresija. Važnost uloge sindekana-1 pokazana je u tumorogenezi, angiogenezi, metastaziranju i utjecaju na ukupno preživljenje kod malignih tumora i karcinoma različitih sijela kao što su mijelom, karcinom dojke, mokraćnog mjehura, jajnika, prostate i debelog crijeva (155-160). Primjerice kod bolesnika s multiplim mijelomom smanjena izraženost sindekana-1 pospješuje apoptozu mijelomskih stanica i smanjuje stanični rast tumora te inhibitorno djeluje na razinu vaskularnog endotelnog čimbenika rasta-A i time ujedno angiogenezu (155). Nasuprot tomu, u bolesnica s karcinomom endometrija nađena je njegova, dvostruko pojačana izraženost (161).

Za razliku od sindekana-1, čija je važnost izraženosti i distribucije dokazana u brojnim tipovima karcinoma, sindekan-2 je u dosadašnjim studijama istraživana u melanomima, karcinomu debelog crijeva i karcinomu prostate. Pojačana izraženost sindekana-2 nađena je u 90% bolesnika s karcinomom prostate i dokazana je njegova povezanost s rastom tog tumora (162,163). Za razliku od ostalih sindekana koji djeluju kao tumorski promotori, sindekan-4 najvjerojatnije djeluje kao tumorski supresor. On potiče staničnu adheziju, ali i smanjenu staničnu migraciju, koja reducira karcinomsku staničnu aktivnost (164).

Sve to ukazuje da sindekani imaju važnu ulogu kao stanični receptori u karcinomskim stanicama. Cijepanje ekstracelularne domene (HS-lanaca) sindekana i ujedno njezino otpuštanje posljedica je djelovanja ekstracelularnih proteaza kao što su matriks metaloproteinaze i o cinku ovisne endopeptidaze koje inače imaju važnu ulogu u progresiji karcinoma. Međutim, cijepanje je regulirano faktorima rasta. Primjerice, metaloproteinaza-9 cijepa sindekan-1 i sindekan-4 u karcinomskim stanicama grlića maternice putem stromalnog čimbenika-1 (SDF-1), a Subramanian i sur. (165) pokazali su da isti učinak ima i epidermalni faktor rasta. U karcinomskim stanicama pankreasa pokazana je također povećana izraženost faktora rasta fibroblasta, koji inducira ekspresiju metaloproteinaze 7 i ujedno cijepanje sindekana-1. Faktori rasta koji sudjeluju u cijepanju sindekana su EGF, FGF-2 i VEGF, no postoje i drugi faktori kao što su proinflamatorni citokini, bakterijski toksini, oksidativni stres i još neki.

Cijepanje sindekana uzrokuje stvaranje solubilne forme sindekana koji su odgovorni za povećanu aktivnost karcinomskih stanica. Iako još u potpunosti nije razjašnjeno na koji način pocijepane solubilne forme sindekana utječu na tumorogenezu, postoje četiri uvriježene teorije. Prva, cijepanje uzrokuje otpuštanje sindekan-vezujućih signalnih proteina koji stvaraju novi signal ili modificiraju postojeći vezujući se na faktore rasta ili druge proteine. Ukoliko se vežu za inhibitorne faktore rasta, reducirat će proliferaciju stanica i obrnuto. Druga, pocijepan sindekan ne mora samo otpuštati signalne proteine, već može u takvu obliku pojačati aktivnost faktora rasta (166). Treća, pocijepani sindekani mogu eliminirati inhibitorne solubilne faktore i četvrta je da pocijepani sindekani funkcioniraju kao potpuno novi ligandi (167). Stoga, cijepanje sindekana

pridonosi karcinogenezi na više načina stvarajući paradigmu sindekana u karcinogenezi.

Angiogeneza u sklopu tumorskoga rasta ovisna je o interakciji endotelnih stanica i ekstracelularnog matriksa. Zbog aktivacije proangiogenih faktora endotelne stanice razgrađuju bazalnu membranu i invadiraju subendotelijalni ekstracelularni matriks stvarajući zajednički lumen. Takve novostvorene krvne žile rekonstruiraju vlastitu bazalnu membranu i regrutiraju pericite i glatke mišićne stanice. Za rast tumorskih stanica potrebna je krvna opskrba u krugu od 200 μm , inače ne postoji mogućnost rasta tumora i metastaziranja. Nouger i sur. (168) pokazali su da humane endotelne stanice mikrovaskulature pokazuju pojačanu ekspresiju sindekana-2 i sindekana-1 te u manjoj mjeri sindekana-4 i da je inhibicija sindekana-2 poželjan terapijski cilj u sprečavanju angiogeneze (168).

Integrini su grupa staničnih receptora koji sudjeluju u migraciji i invaziji različitih tumorskih stanica. Pokazano je da integrini potiču također staničnu adheziju, migraciju i metastaziranje u stanicama karcinoma debelog crijeva zajedno sa sindekanima 1 i 2. Osim što je pokazana različita (kontraregulatorna) uloga sindekana u tomorogenezi brojnih tumora, njihova uloga ovisi o tipu i stadiju sama tumora. Primjerice smanjena ekspresija sindekana-1 povezana je s lošijom prognozom u bolesnika s karcinomima pločastih stanica glave i vrata, mezoteliomima, slabo diferenciranim karcinomima malih stanica pluća i u bolesnika s hepatocelularnim karcinomom visokoga metastatskog potencijala, a u bolesnika s karcinomom želuca i infiltrirajućim karcinomom dojke smanjena ekspresija stromalnog sindekana-1 povezana je s lošijim kliničkim ishodom. U suprotnome, u adenokarcinomu gušterače pokazana je pojačana izraženost sindekana-1 u odnosu na normalnu gušteraču. U invazivnom tumoru dojke, karcinomu pluća i debelog crijeva izraženost sindekana-1 nađena je u stromalnim stanicama. Smanjena izraženost sindekana-1 u epitelnim stanicama i povećana izraženost u stanicama vezivnog tkiva koje okružuje karcinome ima dvije posljedice. Jedna je promjena fenotipa epitelnih tumorskih stanica u mezenhimalne, a druga je mobilizacija faktora rasta s površine epitelnih tumorskih stanica i ekstracelularnog matriksa (169).

Članovi obitelji sindekana izraženi su na različitim stanicama i tkivima. Sindekan-1 nalazi se na fibroblastima i epitelnim stanicama, a posebice je izražen u keratinocitima, dok je njegova niska izraženost vidljiva u endotelnim i neuralnim stanicama (170). To se odnosi na stanice kože, jetre, bubrega i pluća. Povećana izraženost sindekana-2 vidljiva je u endotelnim i neuralnim stanicama te fibroblastima, a niža izraženost u epitelnim stanicama. Sindekan-3 jako je izražen u neuralnim stanicama i gotovo se ne može naći u epitelnim. Visoko je izražen u mozgu, a nije prisutan u jetri, bubregu, plućima i tankom crijevu. Visoka izraženost sindekana-4 može se naći u epitelnim stanicama i fibroblastima, a niska u neuralnim i endotelnim stanicama. Najjače je izražen u jetri i plućima (171).

1. 8. 1. Sindekan-1

Sindekan-1 transmembranski je proteoglikan koji sadrži lance heparin sulfata i rjeđe hondroitin sulfata. Od stanica hematopoetskog sustava nađen je u kasnim stadijima diferencijacije B-limfocita, uz tipično povećanu izraženost u normalnim i maligno promijenjenim plazma i limfoplazmacitoidnim stanicama. U zreлом tkivu pojačano je izražen u stratificiranom epitelu, fibroblastima, keratinocitima i endotelnim stanicama (172). Sindekan-1 ima ulogu u proliferaciji, programiranoj staničnoj smrti, stanično-staničnoj adheziji i adheziji stanica i ekstracelularnog matriksa. Sindekan-1 sudjeluje u adheziji mijelomskih stanica i kolagena tip I (173). Budući da je njegova izraženost smanjena tijekom maligne transformacije više vrsta epitelnih stanica, a antigen se rapidno gubi tijekom apoptoze mijelomskih stanica može se slobodno zaključiti da je sindekan-1 biljeg vijabilnih plazma stanica. Sindekan-1 veže stanice s kolagenom I, III i IV, fibronektinom, trombospondinom i tenascinom preko heparin-sulfat lanaca. Također veže brojne faktore rasta, uključujući EGF i FGF. Njegova je izraženost smanjena tijekom maligne transformacije različitih karcinoma, uključujući hepatocelularni karcinom, karcinome glave i vrata, karcinom debelog crijeva, mezoteliom i karcinom pluća malih stanica. Smanjena izraženost sindekana-1 povezana je s histološkim stupnjem diferencijacije tumora pločastih stanica, a

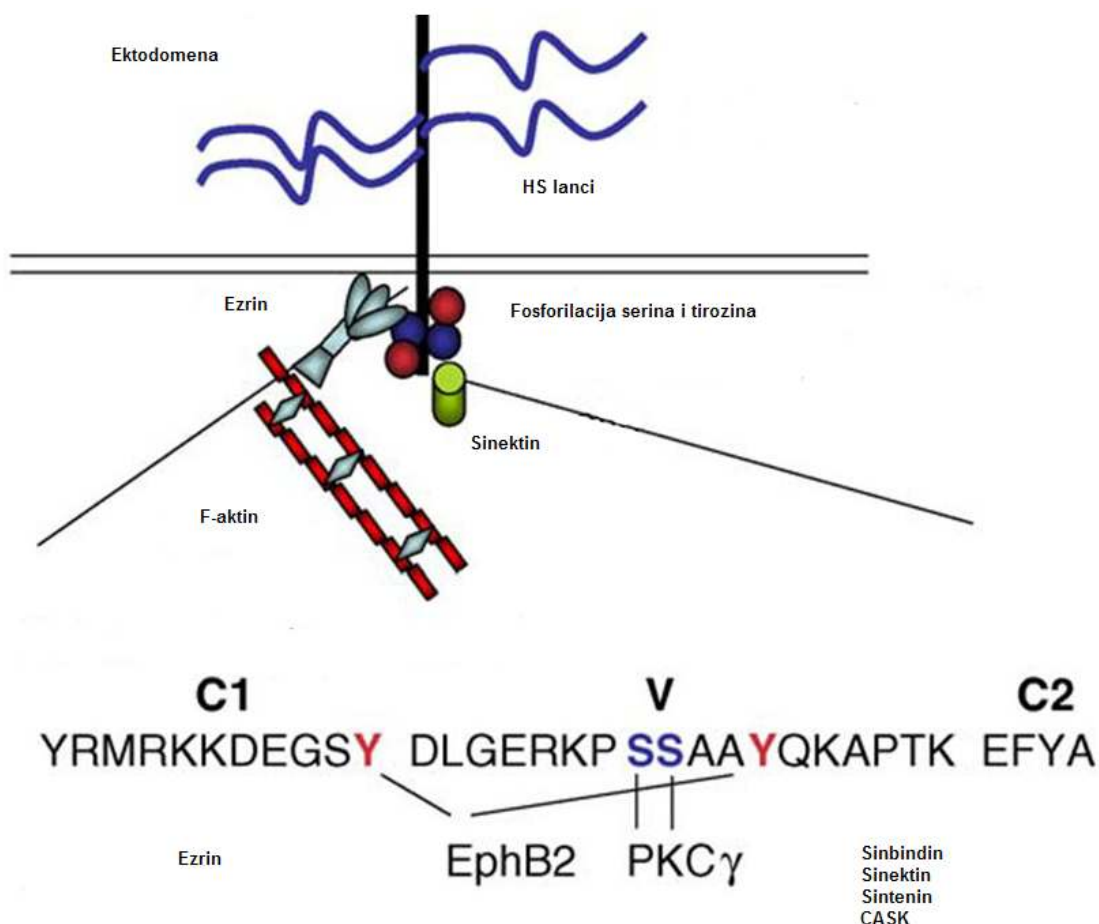
najniža je izraženost u slabo diferenciranim tumorima. Ako postoji povećana izraženost sindekana-1, ona je povezana s boljom prognozom u spomenutim tumorima. Pri usporedbi karcinoma i adenoma debelog crijeva zapažena je smanjena izraženost sindekana-1 *in vivo* u karcinomskim stanicama. U bolesnika s hepatocelularnim karcinomom bez metastaza imunohistokemijsko bojenje sindekana-1 jače je u odnosu na bolesnike s intra- i ekstrahepatalnim metastazama sugerirajući da smanjena izraženost sindekana-1 promiče invazivnost i metastaziranje tumorskih stanica (174). Conejo i sur. (175) pokazali su da je sindekan-1 prisutan u malim količinama u normalnoj gušterači, dok je u tkivu karcinoma gušterače njegova izraženost visoka (175). U protivnome, u drugim gastrointestinalnim tumorima (jednjak, želudac, debelo crijevo i jetra) nema povišene izraženosti sindekana-1. U normalnom tkivu pankreasa nađene su niske vrijednosti mRNA sindekana-1 u duktalnim stanicama, kao i u kroničnom pankreatitisu u metaplastičnim stanicama. U suprotnome, jaka izraženost sindekana-1 nađena je u karcinomskom tkivu primarnih tumora i metastatskim lezijama, ponajprije u duktalnim stanicama karcinoma. Upravo izraženost sindekana-1 u karcinomskim i metaplastičnim stanicama govori u prilog njegove važne uloge u ranim stadijima karcinogeneze (175). FGF-2 inducira povećanu izraženost sindekana-1 u fibroblastima, EGF u keratinocitima, a oba faktora rasta povećana su u karcinomu pankreasa i u manjoj mjeri u kroničnom pankreatitisu sugerirajući parakrini efekt faktora rasta u ekspresiji sindekana-1. Vezanje tih faktora rasta na sindekan-1 može povećati lokalnu koncentraciju i/ili aktivaciju tih faktora rasta stimulirajući njihovu mitogenu aktivnost. U slabo i srednje displastičnim adenomima uzorak ekspresije sindekana-1 sličan je ne-neoplastičnom epitelu, a signifikantno smanjena ekspresija sindekana-1 nađena je u izrazito displastičnim adenomima i invazivnim karcinoma debelog crijeva (176). Izraženost sindekana-1 smanjena je u karcinomu prostate u usporedbi s normalnim i benignim bazalnim stanicama prostate, dok stromalne stanice karcinoma prostate nisu pokazale izraženost sindekana-1. Unatoč nižoj izraženosti sindekana-1 u karcinomskim stanicama u odnosu na normalne, unutar karcinomskih stanica izraženost sindekana-1 povezana je s invazivnijim vrstama karcinoma prostate, s višim preoperativnim PSA, višim Gleasonovim zbrojem, pozitivnim kirurškim marginama i metastazama u limfnim čvorovima (159, 177, 178).

1. 8. 2. Sindekan-2

Sindekan-2, također zvan fibroglikan, prvi put je opisan 1989. kao jedan od glavnih površinskih proteina koji sadrže heparin sulfatne lance i to u plućnim fibroblastima (179).

Raniji radovi fokusirali su se na ulogu sindekana-2 u staničnoj adheziji i signalizaciji, no nedavno je potvrđena njegova uloga u progresiji karcinoma). *In vitro* sindekan-2 utječe na embrionalnu angiogenezu. Angiogeneza je potrebna za tumorski rast i igra ulogu u invaziji ekstracelularnog matriksa, proliferaciji i staničnoj migraciji. Zajedno te studije sugeriraju da je sindekan-2 sposoban funkcionirati na nekoliko razina tumorogeneze i u procesu metastaziranja posredujući u staničnoj signalizaciji, adheziji, migraciji i angiogenezi (180). Sindekan-2 je kao i obitelj sindekan strukturiran od triju regija: N-terminalne ektodomene, transmembranske domene i citoplazmatskoga kraja. Sindekan-2 ektodomena sadrži amino-terminalnu signalnu sekvencu za translaciju, translokaciju i mjesto vezivanja. Aktivnost sindekana-2 regulirana je vezanjem specifičnih HS-lanaca u Golgijevu aparatu. Takvi postranični HS-lanci primarno su sastavljeni od ponavljajućih N-acetilglukozamina i disaharida glukuronske kiseline koji se mogu modificirati sulfoniranjem i epimerizacijom glukuronske kiseline u iduronsku kiselinu. Različiti su uzorci sulfonizacije produkti 2-O,3-O i 6-O sulfotransferaze i generiraju velik broj različitih mjesta vezivanja za faktore staničnoga signaliziranja, njihove receptore, proteaze i molekule ekstracelularnog matriksa. Kratki i visokoočuvani citoplazmatski dio sindekana-2 sadrži dva područja koji su konstanta; C1 i C2. Ta su područja razdvojena različitim varijabilnim regijama (V). Sindekan-2 fosforiliran je na dva serina u V regiji kao odgovor na aktivaciju protein kinaze C gama (PCKy). Fosforilacija PCKy-om vodi modulaciji odgovora na Vg1, članu transformirajućeg faktora rasta beta (TGFB), koji se veže na sindekan-2 (181). Izraženost sindekana-2 pokazala se povećanom u karcinomu pluća, karcinomu debelog crijeva i mezoteliomu u odnosu na normalno tkivo. Proteini sindekana-2 funkcioniraju kao multimerički kompleksi na staničnoj površini koji stvaraju specijalizirana membranska područja i koordiniraju staničnu signalizaciju. Jezgrin protein sindekana-2 ima mogućnost dimerizacije sama sebe koja je posredovana dijelom transmembranskom domenom. Oligomerizacija sindekana-2 također je

zapažena nakon aktivacije EphB2 tirozin kinaza receptora tijekom maturacije dendritičke kralješnice, visoko specijalizirane postsinaptičke membranske strukture. EphB2 signalizacija vodi fosforilaciji dviju tirozinskih rezidua u citoplazmatskoj domeni sindekana-2 i upravo je ta fosforilacija potrebna za spajanje sindekana-2 i formaciju normalne kralješnice. Stoga, multimerizacija je funkcija najmanje dvaju različitih segmenata proteina sindekana-2, transmembranskog dijela i fosforilacija citoplazmatskog dijela (182). Sindekani reguliraju i posreduju staničnu adheziju djelomično izravno vežući se za molekule ekstracelularnog matriksa kao što je fibronektin. Kratki citoplazmatski rep sindekana-2 komunicira s multiplim proteinima koji su posrednici u komunikaciji s ekstracelularnim matriksom i staničnim odgovorom. Četiri aminokiseline u području C2 vežu PDZ proteine tipa II (sinbindin, sinektin, CASK/LIN-1 i sintenin), koji igraju ulogu u mnogim biološkim odgovorima u staničnom transportu, sinaptičkoj transmisiji, aksonalnoj migraciji i metastaziranju karcinoma. Domena C1 citoplazmatskoga kraja sindekana-2 komunicira s proteinima (ezrin, radiksin i moezin) koji su uključeni u organizaciju kortikalnog aktinskog citoskeleta i aktivaciji lokalne adhezije kinaza (sl. 3) (183).



Slika 3. Funkcije sindekana-2 (Preuzeto iz: Essner JJ, Chen E, Ekker SC. Syndecan-2. Int J Biochem Cell Biol 2006;38:152-6.) (183)

Ta komunikacija omogućava sindekanu-2 da stvori vezu između aktinskoga citoskeleta i ekstracelularnog matriksa u migracijskim i visokodiferenciranim stanicama. Povišena razina sindekana-2 u stanicama karcinoma pluća i debeloga crijeva vodi ka stvaranju manje adhezivna fenotipa i gubitku kontaktne inhibicije, time implicirajući ulogu sindekana-2 u modulaciji tumorskog i invazivnog ponašanja karcinomskih stanica (162). Sindekan-2 također je potrebna komponenta u formaciji dendritičkih trnova tijekom diferencijacije hipokampusnih neurona te koordinira staničnu adheziju s kortikalnom citoplazmatskom organizacijom. Mogućnost sindekana-2 da funkcionira u tim različitim ulogama izravno je povezana s vezujućim karakteristikama i sulfonizacijskim uzorkom HS-lanaca, razinom sindekan-2 oligomerizacije inducirane tirozin kinaza signalizacijom, i/ili formacijom

lokaliziranoga membranskog okruženja uvjetovana interakcijom s različitim citoplazmatskim proteinima (184). Sindekan-2 fizički je ili genetski u vezi sa stanično-staničnom signalizacijom molekula kao što su bazični fibroblastni faktor rasta (FGF-2), ektodermalni faktor rasta (EGF), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) i TGF β . Interakcija je između HS-proteoglikana i signalizacije faktora rasta potvrđena. Primjerice, sindekan-2 može se neposredno vezati s faktorima rasta i prezentirati faktor rasta njegovu receptoru. Sindekan-2 može također funkcionirati kao koreceptor i formirati kompleks s faktorom rasta i njegovim receptorom izravno potičući staničnu signalizaciju. Dodatno, poveznica sindekana-2 i aktinskoga citoskeleta može izravno modulirati odgovor na faktore rasta u obliku stanične migracije (185). Sindekan-2 sudjeluje u razvoju lijevo-desne asimetrije tijekom embriogeneze. Izražen je u ektodermu i prezentira Vg1, članu TGF obitelji, migracijskom mezodermu na unilateralan način. Razina fosforilacije citoplazmatskoga dijela sindekana-2 najvjerojatnije utječe na pojačanu Vg1 aktivnost na desnoj u odnosu na lijevu stranu embrija. PKC γ fosforilira sindekan-2 na desnoj strani, ali ne i na lijevoj strani embrija, a ta aktivnost potrebna je i u desnim ektodermalnim stanicama. Uzimajući u obzir ove studije, pokazano je da sindekan-2 posreduje u unutarjno-vanjskoj signalizaciji koja prenosi lijevo-desno signalizaciju iz ektoderma u mezoderm (185).

Zasnovano na različitim ulogama povezivanja stanične signalizacije i stanično-ekstracelularne interakcije s citoskeletom, sindekan-2 ima jak potencijal za razvoj kao terapijski cilj za liječenje karcinoma ili drugih bolesti koje su vezane za angiogenezu. Sindekan-2 na dva načina djeluje u stanicama karcinoma pluća i debelog crijeva. Prvi, povišena izraženost sindekana-2, može se izravno povezati s gubitkom stanica/supstrat interakcije i kontaktne inhibicije, što oboje pridonosi tumorskom i metastatskom potencijalu karcinomskih stanica. Drugo, sindekan-2 potreban je za tumorsku angiogenezu koja pospješuje tumorski rast i metastaziranje. Sindekan-2 postiže zadnju navedenu funkciju djelujući kao koreceptor za signalizaciju molekula važnih za angiogenezu, kao što su VEGF, EphV2 ili FGF-2. Zajedno su te uloge sindekana-2 u karcinomskoj progresiji jedinstven pristup modulaciji nekog proteina u razvoju karcinomskog terapeutika.

Sindekan-2 je visokoizražen u područjima s visokom morfogenezom kao što su epitelijalno-mezenhimalna sučelja, prehondrogenske i preosteogenske mezenhimalne stanice. U normalnim epitelnim stanicama ekspresija sindekana-2 niža je od sindekana-4. Ta činjenica upućuje da tijekom transformacije u karcinomske stanice dolazi do promjene izraženosti sindekana, reducirani su antitumorski (sindekan-1 i 4) u odnosu na tumorske (sindekan-2 i 3) sindekane.

U novijim istraživanjima na području tumorogeneze karcinoma gušterače evidentirana je izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u tumorskim stanicama. Ipak, postoji tek malen broj istraživanja o izraženosti i prognostičkoj vrijednosti sindekana-1 u karcinomu gušterače, dok istraživanja o prognostičkoj vrijednosti sindekana-2 nisu dosad objavljena (175, 186, 187).

2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Hipoteza je ovog istraživanja da su sindekan-1 i sindekan-2 izraženi u epitelnoj i stromalnoj komponenti adenokarcinoma gušterače te da postoji povezanost između pojačane izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače s boljom prognozom bolesti.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Na temelju postavljene hipoteze ciljevi su ovog istraživanja:

1. Imunohistokemijski odrediti izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače, i to u epitelnoj i stromalnoj komponenti.
2. Usporediti imunohistokemijsku izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače s priznatim prognostičkim čimbenicima (stupanj diferenciranosti tumora i TNM-stadij) te s vremenom preživljenja.
3. Odrediti da li postoji povezanost između izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače.
4. Odrediti koji od dva ispitivana biljega ima veću prognostičku vrijednost u bolesnika s adenokarcinomom gušterače.

4. BOLESNICI I METODE ISTRAŽIVANJA

4. 1. Bolesnici

U istraživanju je iskorištena arhivska građa 53 bolesnika koji su operirani zbog adenokarcinoma gušterače u Klinici za kirurgiju Kliničke bolnice Sestre milosrdnice i Kliničke bolnice Dubrava u razdoblju od 1. siječnja 2001. do 31. prosinca 2010. U studiju su uključeni samo oni bolesnici koji zadovoljavaju ove uvjete:

1. da za bolesnika postoje svi potrebni klinički podaci i adekvatni patohistološki nalaz te praćenje;
2. da bolesnik preoperativno nije dobio dodatnu kemoterapiju;
3. da uz karcinom gušterače bolesnik nema drugi maligni visceralni tumor.

Klinički podaci o bolesnicima, podaci o patohistološkom nalazu i podaci o praćenju bolesnika dobiveni su iz osobnih kartona bolesnika i baze podataka Klinike za kirurgiju i Kliničkog zavoda za patologiju Kliničke bolnice Sestre milosrdnice i Zavoda za kliničku i eksperimentalnu patologiju Kliničke bolnice Dubrava. Svaki bolesnik dobio je jedinstveni broj s kojim je uključen u istraživanje, a radi zaštite osobnih podataka bolesnika.

U istraživanje je uključeno 28 (52,8%) bolesnika ženskog i 25 (47,2%) bolesnika muškog spola. Prosječna životna dob bolesnika u vrijeme postavljanja dijagnoze bila je 62,5 (raspon 32–81, interkvartilni raspon 56,3–67,8) godina.

Cjelokupno praćenje bolesnika kretalo se između 1 i 96 (medijan 14, interkvartilni raspon 10–28) mjeseci.

Dvadeset devet (54,7%) bolesnika umrlo je od karcinoma gušterače, a medijan vremena smrti bolesnika bio je 12 (raspon 1–64, interkvartilni raspon 5–19) mjeseci od trenutka postavljanja dijagnoze.

Klinički stadij bolesnika određen je u skladu s kriterijima određenim od strane Međunarodnog udruženja za borbu protiv raka (International Union Against Cancer) (188). Šest (11,3%) bolesnika bilo je u stadiju T1, 9 (16,9%) u stadiju T2, 37 (69,9%) u stadiju T3 i 1 (1,9%) u stadiju T4 bolesti. Dvadeset tri (43,4%) bolesnika imalo je metastaze u regionalnim limfnim čvorovima, 24

(45,3%) nije imalo metastaza u regionalnim limfnim čvorovima, a u 6 (11,3%) bolesnika prisutnost metastaza u regionalnim limfnim čvorovima nije bilo moguće procijeniti. Samo tri (5,7%) bolesnika imalo je metastaze u udaljenim organima (tabl. 15).

Srednja veličina tumora bila je 3,5 (raspon 2–10, interkvartilni raspon 2,75–5,75) centimetara. Deset (18,9%) bolesnika imalo je dobro diferencirane tumore, 29 (54,7%) umjereno diferencirane, a 14 (26,4%) slabo diferencirane tumore.

Tablica 15. TNM-stadij bolesti u 53 bolesnika s karcinomom gušterače

	Broj bolesnika	%
T1N0Mx	3	5,7
T1N1Mx	1	1,9
T1NxMx	2	3,8
T2N0Mx	2	3,8
T2N1Mx	6	11,3
T2NxMx	1	1,9
T3N0Mx	18	34,0
T3N1M1	2	3,8
T3N1Mx	14	26,4
T3NxMx	2	3,8
T3NxNx	1	1,9
T4N0M1	1	1,9
UKUPNO	53	100,0

4. 2. Metode istraživanja

matereijal je obrađen standardnom histološkom metodom koja uključuje fiksaciju tkiva u 10%-tnom puferiranom formalinu i uklapanje u parafinske blokove rezane na debljinu 5 μ m, deparafiniziranje i bojenje standardnom metodom hemalaun eozin (HE).

Uzorci gušterače s karcinomom za imunohistokemijsku analizu na sindekan-1 i sindekan-2 odabrani su tako da uz karcinom sadrže i tkivo gušterače koje nije zahvaćeno tumorom, a koje je također analizirano na prisutnost sindekana-1 i sindekana-2. U svim slučajevima histološki je potvrđena dijagnoza adenokarcinoma.

U istraživanju je primijenjeno primarno protutijelo na sindekan-1 (CD138, klon MI15, razrjeđenje 1:100, DAKO, Danska) i primarno protutijelo na sindekan-2 (/1F10/B8/: sc-73516, razrjeđenje 1:100, Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA, SAD).

Imunohistokemijska analiza izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 provedena je LSAB-metodom kao vizualizacijskim sustavom na Dako TechMate TM (DAKO, Danska), automatiziranom stroju za imunohistokemijsko bojenje uz uporabu streptavidin imunoperoksidaza MSIP-protokola.

Kao pozitivna kontrola za sindekan-1 koristila se koža, a za sindekan-2 tkivo karcinoma debelog crijeva. U negativnoj kontroli primarno protutijelo zamijenjeno je izotipskim imunoglobulinom.

Rezultati imunohistokemijske analize za istraživane biljege prikazani su semikvantitativno određujući postotak imunoreaktivnih stanica. Postotak imunoreaktivnih stanica u epitelnoj i stromalnoj komponenti tumora određivao se na cijeloj površini tumora u odabranom prerezu, a označavao se kao: 0 – bez pozitivnih epitelnih i stromalnih stanica; 1 – za reakciju do 10%; 2 – za reakciju u više od 10% do 30% i 3 – za reakciju u više od 30% epitelnih i stromalnih stanica.

4. 3. Statistička analiza dobivenih rezultata

Dobiveni rezultati prikazani su tablično i grafički. Napravljena je deskriptivna statistika i analiza normaliteta distribucije Smirnov–Kolmogorovljevim testom. U skladu s rezultatima, u daljoj analizi primijenjeni su adekvatni parametrijski ili neparametrijski testovi. Pri analizi razlika kvantitativnih vrijednosti između dviju skupina upotrijebljen je nezavisni t-test ili neparametrijski Mann–Whitney U-test. Pri međusobnoj usporedbi tri skupine upotrijebljena je jednosmjerna analiza varijance ili neparametrijski Kruskal–Wallis-test. Razlike u učestalosti kvalitativnih varijabli analizirane su χ^2 testom. Izračunati su Spearmanovi koeficijenti korelacije međuodnosa pojedinih kvantitativnih varijabli. Napravljena je Coxova regresijska analiza (Cox proportional hazards regression) kako bi se ustanovila prediktivna vrijednost ekspresije sindekana-1 i sindekana-2 na preživljenje.

Sve p-vrijednosti ispod 0,05 smatrane su značajnima.

Pri analizi primijenjen je statistički softver MedCalc for Windows, verzija 10.04 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija).

5. REZULTATI

Sindekan-1 bio je izražen u epitelu 48 (90,6%), a sindekan-2 u epitelu 23 (43,4%) karcinoma (tabl. 16 i 17), (sl. 4A i B). Šesnaest karcinoma (30,2%) imalo je slabo izraženu, 15 (28,3%) umjereno, a 17 (32,1%) jako izraženu reakciju sindekana-1 u epitelnim stanicama. Sindekan-2 bio je slabo izražen u epitelu 16 (30,2%), umjereno izražen u epitelu 4 (7,5%) i jako izražen u epitelu 3 (5,7%) karcinoma gušterače. U normalnom epitelnom tkivu pankreasa sindekan-1 bio je izražen u duktalnim stanicama te u manjim nakupinama i pojedinačnim acinarnim stanicama, dok je umjerena do jaka izraženost sindekana-2 nađena u pojedinačnim ili manjim nakupinama acinarnih stanica, a duktalne stanice bile su negativne (sl. 5A i B). Imunohistokemijska reakcija obaju sindekana u epitelu karcinoma i normalnom tkivu pankreasa bila je smještena u citoplazmi i imala je sitno zrnata obilježja.

Izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u stromi karcinoma nađena je u 30 (56,6%) uzoraka (tabl. 16 i 17) (sl. 6A i B). Sindekan-1 bio je slabo izražen u stromi 13 (24,5%), umjereno izražen u stromi 12 (22,6%) i jako izražen u stromi 5 (9,4%) karcinoma. Sindekan-2 bio je slabo izražen u stromi 22 (41,5%) i umjereno izražen u stromi 8 (15,1%) karcinoma, dok jaka izraženost sindekana-2 u stromi tumora nije nađena ni u jednom uzorku. Stroma normalnoga tkiva pankreasa nije pokazivala pozitivnu reakciju ni na jedan od istraživanih biljega.

Tablica 16. Izraženost sindekana-1 u epitelu i stromi karcinoma pankreasa (n=53)

Stupanj izraženosti	0*	1*	2*	3*	Ukupno
Epitel	5 (9,4%)	16 (30,2%)	15 (28,3%)	17 (32,1%)	53 (100%)
Stroma	23 (43,5%)	13 (24,5%)	12 (22,6%)	5 (9,4%)	53 (100%)

*0 – bez pozitivnih epitelnih i stromalnih stanica;

1 – reakcija u do 10%;

2 – reakcija u više od 10% do 30%;

3 – reakcija u više od 30% epitelnih i stromalnih stanica.

Tablica 17. Izraženost sindekana-2 u epitelu i stromi karcinoma pankreasa (n=53)

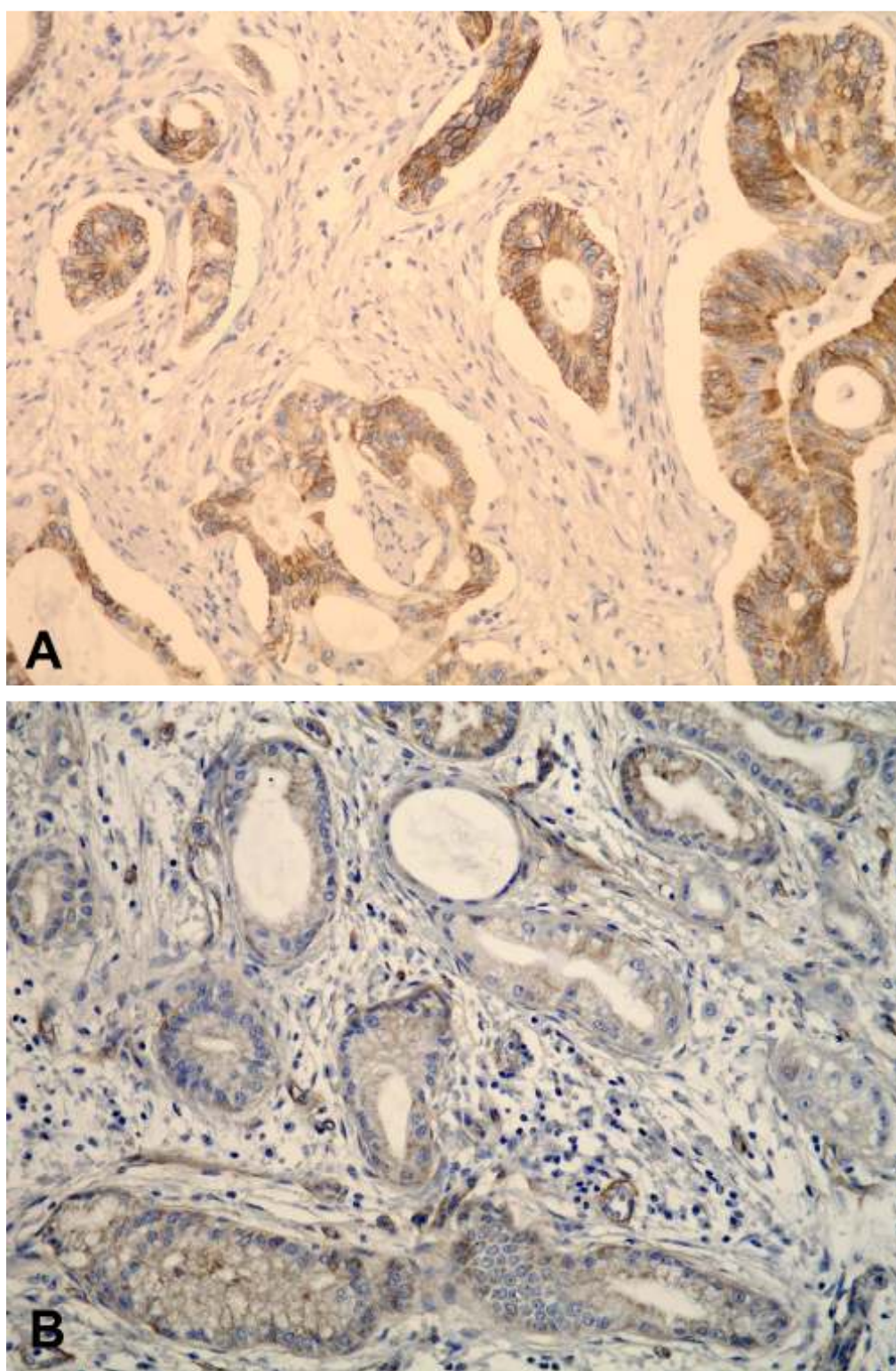
Stupanj izraženosti	0*	1*	2*	3*	Ukupno
Epitel	30 (56,6%)	16 (30,2%)	4 (7,5%)	3 (5,7%)	53 (100%)
Stroma	23 (43,4%)	22 (41,5%)	8 (15,1%)	0 (0%)	53 (100%)

*0 – bez pozitivnih epitelnih i stromalnih stanica;

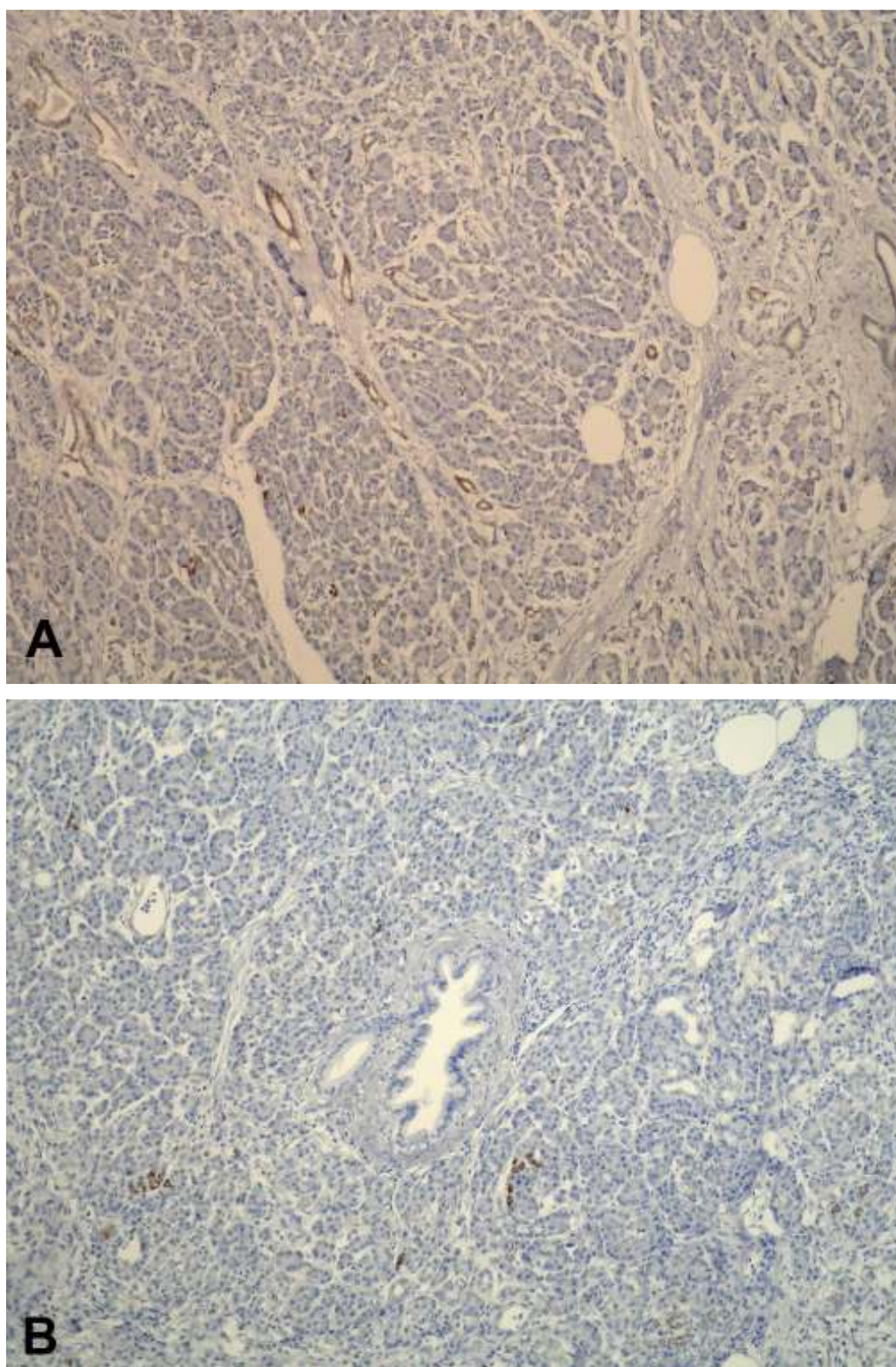
1 – reakcija u do 10%;

2 – reakcija u više od 10% do 30%;

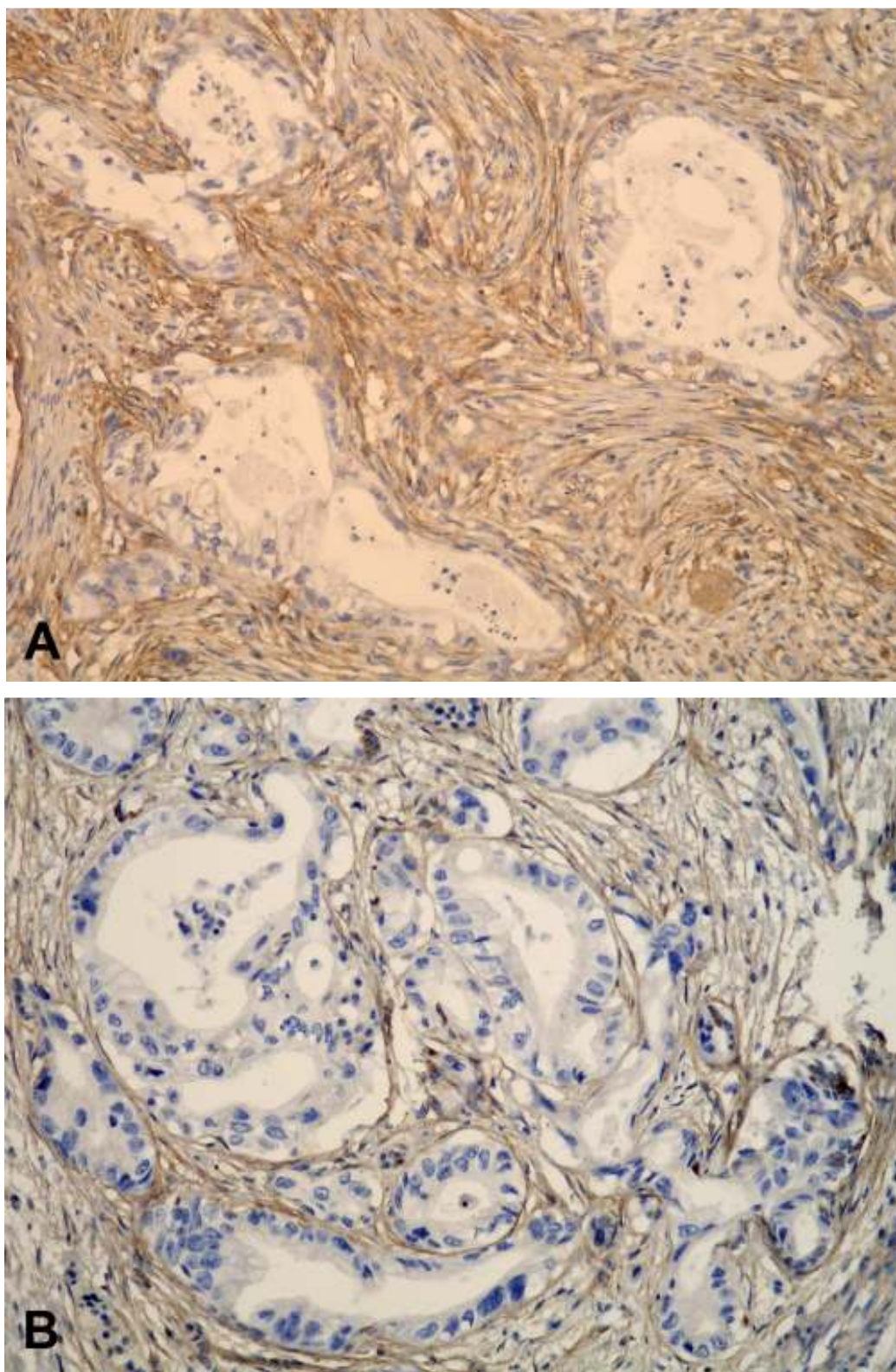
3 – reakcija u više od 30% epitelnih i stromalnih stanica.



Slika 4. Sindekan-1 (A, x200) i sindekan-2 (B, x200) su bili izraženi u epitelnim stanicama karcinoma pankreasa. Reakcija je bila smještena u citoplazmi stanica i imala je sitno zrnata obilježja.



Slika 5. U normalnom tkivu pankreasa sindekan-1 (A, x40) bio je izražen u duktalnim stanicama i manjim nakupinama te pojedinačnim acinarnim stanicama, dok je sindekan-2 (B, x40) bio izražen samo u manjim nakupinama i pojedinačnim acinarnim stanicama.



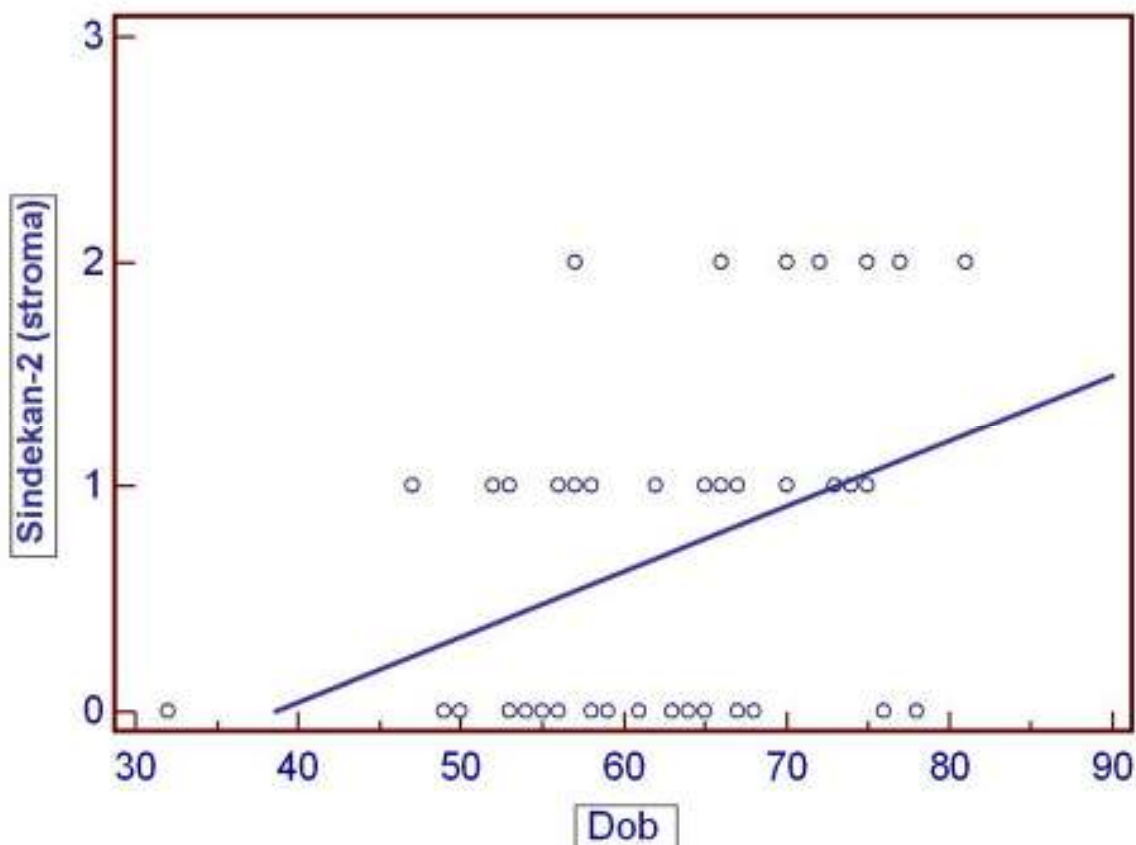
Slika 6. Sindekan-1 (A, x200) bio je pretežito umjereno, a sindekan-2 (B, x200) pretežito slabo izražen u stromi karcinoma pankreasa.

Epitelna izraženost sindekana-1 u karcinomu pankreasa nije bila statistički značajno povezana s dobi (Spearmanov test korelacije, $p=0,752$) i spolom (χ^2 test, $p=0,122$) bolesnika te stupnjem diferenciranosti tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,546$), veličinom tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,652$), T-stadijem bolesti (χ^2 test, $p=0,594$), stanjem limfnih čvorova (N-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,571$) i prisutnošću udaljenih metastaza (M-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,417$).

Izraženost sindekana-2 u epitelu karcinoma pankreasa statistički nije bila značajno povezana s dobi (Spearmanov test korelacije, $p=0,546$) i spolom (χ^2 test, $p=0,103$) bolesnika. Stupanj diferenciranosti tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,080$), veličina tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,583$), T-stadij bolesti (χ^2 test, $p=0,268$), stanje limfnih čvorova (N-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,206$) i prisutnost udaljenih metastaza (M-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,969$) također nisu bili statistički značajno povezani s epitelnom izraženošću sindekana-2 u karcinomu pankreasa.

Stromalna izraženost sindekana-1 u karcinomu gušterače nije pokazala statistički značajnu povezanost s dobi (Spearmanov test korelacije, $p=0,065$) i spolom (χ^2 test, $p=0,120$) bolesnika te stupnjem diferenciranosti tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,086$), veličinom tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,927$), T-stadijem bolesti (χ^2 test, $p=0,794$), stanjem limfnih čvorova (N-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,406$) i prisutnošću udaljenih metastaza (M-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,334$).

Za razliku od sindekana-1, izraženost sindekana-2 u stromi karcinoma bila je statistički značajno pozitivno povezana s dobi bolesnika (Spearmanov test korelacije, $p=0,014$). Bolesnici s izraženošću sindekana-2 u stromi karcinoma bili su značajno stariji od onih bez izraženošću sindekana-2 (sl. 5). Spol (χ^2 test, $p=0,228$) bolesnika, stupanj diferencijacije tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,284$), veličina tumora (Spearmanov test korelacije, $p=0,528$), T-stadij bolesti (χ^2 test, $p=0,674$), stanje limfnih čvorova (N-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,733$) i prisutnost udaljenih metastaza (M-stadij bolesti) (χ^2 test, $p=0,595$) nisu bili statistički značajno povezani sa stromalnom izraženošću sindekana-2.



Slika 7. Statistički značajna povezanost izraženosti sindekana-2 u stromi karcinoma i dobi bolesnika ($p=0,014$)

Izraženost sindekana-1 u epitelnim stanicama nije bila statistički značajno povezana s izraženosti sindekana-1 u stromi karcinoma (Spearmanov test korelacije, $p=0,858$). Epitelna izraženost sindekana-2 također nije bila statistički značajno povezana s izraženosti sindekana-2 u stromi karcinoma (Spearmanov test korelacije, $p=0,847$). Nadalje, nije nađena statistički značajna povezanost između izraženosti sindekana-1 u epitelu karcinoma s izraženosti sindekana-2 u epitelu (Spearmanov test korelacije, $p=0,158$) i stromi (Spearmanov test korelacije, $p=0,660$) karcinoma, kao ni značajna povezanost između stromalne izraženosti sindekana-1 s epitelnom (Spearmanov test korelacije, $p=0,100$) i stromalnom (Spearmanov test korelacije, $p=0,398$) izraženosti sindekana-2.

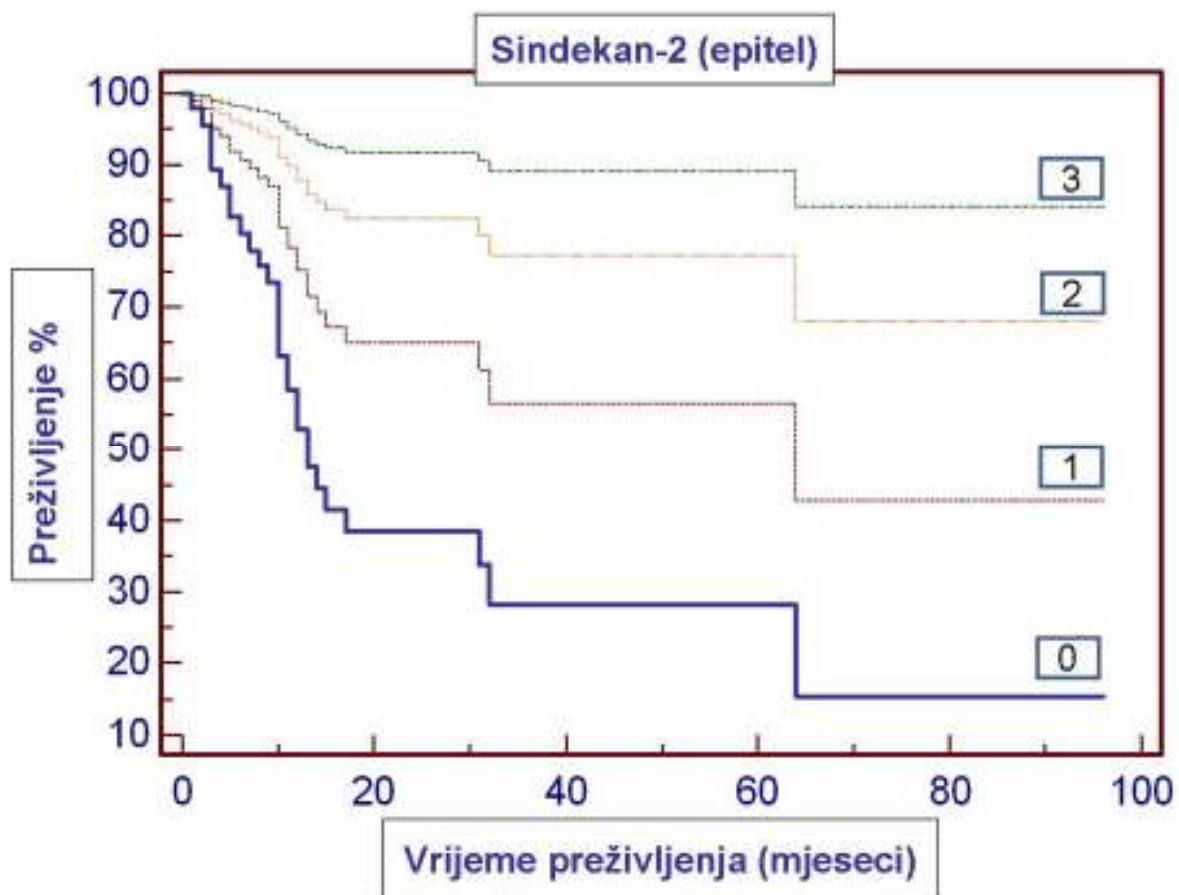
Razlike u izraženosti sindekana-1 u epitelu (Mann–Whitney U-test, $p=0,444$) i stromi karcinoma (Mann–Whitney U-test, $p=0,421$) nisu se bitno razlikovale između bolesnika koji su umrli od karcinoma i onih koji su još bili živi na kraju razdoblja praćenja. Slični rezultati dobiveni su i za sindekan-2, gdje također nije nađena statistički značajna razlika u epitelnoj (Mann–Whitney U-test, $p=0,088$) i stromalnoj (Mann–Whitney U-test, $p=0,080$) izraženosti ispitivanoga biljega između bolesnika koji su umrli od karcinoma i onih koji su još bili živi na kraju razdoblja praćenja. Ipak, vrijednosti za sindekan-2 pokazuju tendenciju približavanja statistički značajnim vrijednostima.

Kaplan–Meier-analiza nije pokazala statistički značajnu povezanost između epitelne ($p=0,251$ i $p=0,381$) i stromalne ($p=0,482$ i $p=0,328$) izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 s dužinom preživljenja.

U multivarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi, koja je uključivala dob i spol bolesnika, veličinu tumora, TNM-stadij bolesti i stupanj diferencijacije tumora, kao statistički značajni pokazatelji dužine preživljenja bolesnika pokazali su se epitelna izraženost sindekana-2 (OR=0,452, 95% CI: 0,222–0,918, $p=0,029$) i veličina tumora (OR=1,249, 95% CI: 1,038–1,501, $p=0,019$) (tabl. 18) (sl. 8). Bolesnici s većom epitelnom izraženosti sindekana-2 te bolesnici s manjim tumorima živjeli su statistički značajno duže od bolesnika s manjom epitelnom izraženošću sindekana-2 i bolesnika s većim tumorima. U bolesnika s jačom epitelnom izraženošću sindekana-2 šanse za preživljenje rastu 2,22 puta, a u bolesnika s manjim tumorima 1,24 puta.

Tablica 18. Coxova regresijska analiza za različite kliničko-patološke parametre karcinoma pankreasa i izraženost sindekana-1 i sindekana-2

Ispitivane varijable	b	SE	P	OR	95% CI od OR
Dob	0,015	0,026	0,581	1,015	0,9638 do 1,0681
Muški spol	0,703	0,453	0,121	2,021	0,8349 do 4,8901
T-stadij bolesti	-0,563	0,383	0,142	0,570	0,2702 do 1,2018
N-stadij bolesti	-0,173	0,437	0,692	0,841	0,3587 do 1,9725
M-stadij bolesti	0,503	0,851	0,554	1,654	0,3147 do 8,6900
Veličina tumora	0,222	0,095	0,019	1,249	1,0380 do 1,5016
Stupanj diferenciranosti karcinoma (gradus)	-0,180	0,326	0,582	0,836	0,4422 do 1,5792
Sindekan-1 (epitel)	0,191	0,229	0,404	1,211	0,7748 do 1,8920
Sindekan-1 (stroma)	-0,058	0,228	0,800	0,944	0,6047 do 1,4728
Sindekan-2 (epitel)	-0,795	0,364	0,029	0,452	0,2219 do 0,9184
Sindekan-2 (stroma)	-0,358	0,325	0,271	0,699	0,3705 do 1,3183



Slika 8. Coxova regresijska analiza za epitelnu izraženost sindekana-2 u karcinomima pankreasa

6. RASPRAVA

Ranije studije o ulozi sindekana-1 u malignoj transformaciji stanica pokazale su da je pojačana izraženost sindekana-1 povezana sa zadržavanjem epitelne morfologije i smanjenom sposobnosti invazije stanica (160,189,191). Sukladno tomu, novije studije pokazale su smanjenu izraženost sindekana-1 u maligno transformiranim stanicama u mnogim tumorima, uključujući hepatocelularni karcinom (174), karcinom grkljana (193), karcinom debelog crijeva (176), karcinom velikih tj. ne-malih stanica pluća (195), karcinome glave i vrata (196) i mezoteliom (197).

U karcinoma pločastih stanica glave i vrata nađena je povezanost između smanjene izraženosti sindekana-1 i stupnja diferenciranosti tumorskih stanica. Slabo diferencirani tumori imalu su značajno manju izraženost sindekana-1 u usporedbi s dobro diferenciranim tumorima, a uz to je i viša izraženost sindekana-1 bila značajno povezana s boljom prognozom kod istih bolesnika (196).

U istraživanjima provedenim *in vivo*, izraženost sindekana-1 u stanicama karcinoma debelog crijeva bila je niža u odnosu na adenome (176). U bolesnika s hepatocelularnim karcinomom koji imaju metastatsku bolest nađena je također niža izraženost sindekana-1 u usporedbi s tumorima bolesnika koji imaju samo lokalno proširenu bolest (174).

Iz dosada navedenog može se zaključiti da je niža izraženost sindekana-1 povezana s pojačanom tumorskom invanzivnošću i sposobnosti metastaziranja.

Kod karcinoma pankreasa za razliku od ostalih gastrointestinalnih tumora, Conejo i sur. (175) pokazali su da karcinomske stanice pokazuju povećanu izraženost mRNA i proteina sindekana-1 u odnosu na normalne stanice pankreasa, te da iste stanice otpuštaju sindekan-1 u medij tijekom kultivacije. In situ hibridizacijom i imunohistokemijski isti autori pronašli su u normalnom tkivu pankreasa slabu izraženost sindekana-1 u normalnim duktalnim stanicama dok je izraženost u metaplastičnim stanicama kod bolesnika s kroničnim pankreatitisom bila srednja. Većina karcinomskih stanica

u primarnom tumoru kao i u metastatskim lezijama pokazivala je izrazitu izraženost sindekana-1 (175).

Obzirom da je povećana izraženost sindekana-1 nađena u kroničnom pankreatitisu i svim stadijima karcinoma pankreasa autori su zaključiti da bi pojačana izraženost sindekana-1 mogao biti rani događaj u razvoju karcinoma pankreasa (175).

U našem istraživanju dobiveni su slični rezultati o izraženosti sindekana-1 u epitelnim stanicama tumora kao i u studiji koju su objavili Conejo i sur. (175). Sindekan-1 je u našem istraživanju bio izražen u epitelnim stanicama 48 (90,6%) karcinoma, od toga je 16 karcinoma (30,2%) imalo slabo izraženu, 15 (28,3%) umjereno, a 17 (32,1%) jako izraženu reakciju sindekana-1. U normalnom epitelnom tkivu pankreasa u okolini tumora sindekan-1 je bio slabo izražen u duktalnim stanicama te u manjim nakupinama i pojedinačnim acinarnim stanicama. Takvi rezultati izraženosti sindekana-1 u epitelnim stanicama karcinoma i normalnog tkiva pankreasa u skladu su s predloženom hipotezom koja pojačanu izraženost sindekana-1 u epitelnim stanicama smatra ranim događajem u razvoju karcinoma pankreasa.

Imunohistokemijskim analizama karcinoma dojke, mokraćnog mjehura, debelog crijeva i pluća pronađena je pojačana izraženost sindekana-1 u epitelnim, ali i u stromalnim stanicama ovih tipova tumora. U navedenim istraživanjima isključena je mogućnost lažno pozitivnog rezultata bojenja odcjepljenih molekula sindekana-1 s površine tumorskih stanica vezanih za fibroblaste. Premještaj izraženosti sindekana-1 s tumorskih stanica na stromalne koje okružuju tumorsko tkivo pridonosi smanjenju izraženosti sindekana-1 na epitelnim tumorskim stanicama. Upravo ovo premještanje izraženosti sindekana-1 s epitelnih malignih stanica na stromalne stanice ima za posljedicu dvije bitne promjene. Jedna je promjena fenotipa epitelnih tumorskih stanica u manje diferencirane s karakteristikama mezenhimalnih stanica, koje imaju sposobnost invazije tj. metastaziranja, a druga je mobilizacija faktora rasta s površine epitelnih tumorskih stanica. Međutim, samo je u nekim tumorima dokazana pojačana stromalna izraženost sindekana-1 stoga se može pretpostaviti da biološki efekt sindekana-1 ovisi o vrsti stanica u kojima je izražen (199).

Juuti i sur. (187) su u svojoj studiji na 144 bolesnika s adenokarcinomom pankreasa pokazali da oni bolesnici koji u trenutku postavljanja dijagnoze imaju resektabilni tumor i nisku izraženost sindekana-1 u epitelnim karcinomskim stanicama imaju lošiju prognozu u odnosu na one s visokom izraženosti sindekana-1, no ovo opažanje nije potvrđeno multivarijantnom analizom. U suprotnome, bolesnici bez stromalne izraženosti sindekana-1 imali su bolju prognozu u odnosu na one u kojim je nađena stromalna izraženost sindekana-1. Uz to stromalna izraženost sindekana-1 bila je nezavisni prognostički faktor. Temeljem ovih rezultata Juuti i sur. (187) sugerirali su da sindekan-1 najvjerojatnije ima drugačiju funkciju u karcinomu pankreasa u odnosu na ostale gastrointestinalne tumore i da njegova funkcija u karcinomu pankreasa ovisi u mjestu izraženosti (epitelna ili stromalna izraženost).

U našem istraživanju također je nađena izraženost sindekana-1 u stromi karcinoma. Sindekan-1 bio je izražen u stromi 30 (56,6%) tumora, od toga je 13 (24,5%) pokazivalo slabu, 12 (22,6%) umjerenu i 5 (9,4%) jaku izraženost sindekana-1 u stromi karcinoma. U stromi normalnog tkiva pankreasa nije nađena izraženost sindekana-1.

U karcinomu pankreasa dokazano je da epitelni sindekan-1 nastaje u epitelnim stanicama karcinoma, međutim mjesto stvaranja stromalnog sindekana-1 još nije definirano. Jedna od hipoteza koja je pobijena navodi da epitelne stanice mogle otpuštati ekstracelularni dio transmembranske molekule sindekana-1 u stromu tumora. Međutim poznato je da mezenhimalne stanice imaju mogućnost stvaranja sindekana-1, te da je molekula sindekana-1 stvorena od strane stromalnih stanica drugačija od one stvorene u epitelnim stanicama (195).

Na temelju dobivenih rezultata u našem istraživanju podrijetlo stromalnog sindekana-1 u ispitivanim uzorcima tumora nismo u mogućnosti utvrditi, ali s obzirom da nismo našli statistički značajnu povezanost između stupnja izraženosti sindekana-1 u epitelnim i stromalnim stanicama karcinoma pretpostavljamo da je sindekan-1 u stromalnim stanicama nastao neovisno od onog u epitelnim stanicama te da stromalne stanice karcinoma pankreasa imaju sposobnost sinteze sindekana-1 što je u skladu s ranije objavljenim rezultatima (195).

Epitelna i stromalna izraženost sindekana-1 u karcinomu pankreasa u našem istraživanju nije bila statistički značajno povezana s dobi i spolom bolesnika te stupnjem diferenciranosti tumora, veličinom tumora, T stadijem bolesti, stanjem limfnih čvorova i prisutnošću udaljenih metastaza (M stadij bolesti). Također nismo utvrdili značajne razlike u izraženosti sindekana-1 u epitelu i stromi karcinoma između bolesnika koji su umrli od karcinoma i onih koji su doživjeli planirani period praćenja. Kaplan-Meier analiza nije pokazala statistički značajnu povezanost između epitelne i stromalne izraženosti sindekana-1 s dužinom preživljenja. S obzirom na navedene rezultate naše istraživanje nije potvrdilo povezanost između izraženosti sindekana-1 u karcinomima pankreasa i prognoze bolesti te se naši rezultati o ulozi sindekana-1 u prognozi bolesti razlikuju od rezultata Juuti i sur. (187).

Razlike u rezultatima između našeg istraživanja i istraživanja Juuti i sur. (187) mogle bi biti posljedica razlika u broju bolesnika uključenih u studiju, dužini praćenja bolesnika te u upotrebi protutijela za sindekan-1 različitih proizvođača koje je korišteno u ova dva istraživanju.

Sindekan-2 je važan medijator u nastanku i razvoju karcinoma debelog crijeva. Normalne epitelne stanice debelog crijeva ne pokazuju izraženost sindekana-2 dok karcinomske stanice pokazuju pojačanu izraženost sindekana-2 (162, 196, 197).

Park i sur. (202) su dokazali da je sindekan-2 neophodan za progresiju staničnog ciklusa i interakciju stanica i izvanstaničnog matriksa u karcinomskim stanicama karcinoma debelog crijeva. Štoviše, povišena razina izraženosti sindekana-2 vodi ka manje adhezivnom fenotipu i gubitku kontaktne inhibicije te na taj način omogućava lokalno širenje i metastaziranje malignih stanica. Navedeni rezultati upućuju na dva zaključka; prvi, normalne epitelne stanice debelog crijeva tijekom karcinogeneze dobivaju sposobnost sinteze i izraženosti sindekana-2 i drugi, izraženost sindekana-2 u tim stanicama nužna je za njihovo maligno ponašanje (162,198).

Na taj način sindekan-2 bi u stanicama karcinoma debelog crijeva mogao svoju ulogu ostvarivati preko najmanje dva različita mehanizma. Prvi mehanizam mogao bi uključivati gubitak interakcije između stanica i izvanstaničnog matriksa te gubitak kontaktne inhibicije, a u drugom mehanizmu sindekan-2 bi mogao biti nužan za tumorsku angiogenezu djelujući kao

koreceptor za signalne molekule važane u vaskularnoj proliferaciji kao što su VEGF, EphB2 i FGF-2. Obadva navedena mehanizma mogu doprinijeti rastu tumora i metastatskom potencijalu tumorskih stanica (196-199)

Sličnu ulogu kao u karcinomu debelog crijeva sindekan-2 bi mogao imati i u karcinomu prostate. Popović i sur. (163) pokazali su da normalne epitelne stanice prostate ne pokazuju izraženost sindekana-2 dok je sindekan-2 bio izražen u stanicama prostatične intraepitelne neoplazije (PIN) i stanicama karcinoma prostate što bi moglo ukazivati na njegovu ulogu tijekom karcinogeneze. Uz to prekomjerna izraženost sindekana-2 u karcinomu prostate bila je značajno povezana s pokazateljima koji indiciraju lošiju prognozu bolesti kao što su viši preoperativni PSA, viši Gleason zbroj, pozitivni kirurški rubovi i širenje bolesti izvan prostate. Povećana izraženost sindekana-2 također je bila povezana s kraćim vremenom preživljenja bez povrata bolesti u univarijantnoj analizi međutim ta povezanost nije potvrđena multivarijantnom analizom (163).

U nama dostupnoj literaturi postoji još samo jedno istraživanje o prognostičkoj vrijednosti sindekana-2. Huang i sur. (200) su u svom istraživanju na karcinomu pločastih stanica jednjaka pokazali da je promijenjena izraženost sindekana-2 u tumoru bila značajno povezana s metastazama u limfne čvorove, TNM stadijem bolesti i dužinom preživljenja bolesnika te je predstavljala neovisni prognostički faktor za dužinu preživljenja.

Prema našim spoznajama ne postoje objavljene studije o ulozi sindekana-2 u karcinomu pankreasa.

U našoj studiji u koju su bila uključena 53 bolesnika s adenokarcinomom pankreasa istraživana je epitelna i stromalna izraženost sindekana-2 te njegova povezanost s bitnim prognostičkim pokazateljima. Izraženost sindekana-2 je nađena u epitelnim stanicama 23 (43,4%) karcinoma. Sindekan-2 je bio slabo izražen u epitelu 16 (30,2%), umjereno izražen u epitelu 4 (7,5%) i jako izražen u epitelu 3 (5,7%) karcinoma pankreasa. U normalnom epitelnom tkivu pankreasa umjerena do jaka izraženost sindekana-2 nađena je u pojedinačnim ili manjim nakupinama acinarnih stanica dok su duktalne stanice bile negativne. Sindekan-2 bio je slabo izražen u stromi 22 (41,5%) i umjereno izražen u stromi 8 (15,1%) karcinoma dok jaka izraženost sindekana-2 u stromi tumora nije nađena ni u jednom uzorku. Stroma normalnog tkiva pankreasa nije pokazivala pozitivnu reakciju na sindekan-2.

S obzirom na dobivene rezultate možemo zaključiti da bi izraženost sindekan-2 u epitelu i stromi karcinoma pankreasa mogla imati određenu ulogu u njegovom nastanku i razvoju jer kao što je navedeno duktalne epitelne stanice kao i stroma normalnog pankreasa nisu pokazivale izraženost ispitivanog biljega te se izraženost sindekan-2 pojavljivala samo u maligno promijenjenom tkivu.

Kao i u slučaju sindekana-1, nismo našli statistički značajnu povezanost između izraženosti sindekana-2 u epitelnim stanicama i u stromi karcinoma te bi se moglo zaključiti da i sindekan-2 kao i sindekan-1 u stromalnim stanicama nastaje neovisno od onog u epitelnim stanicama te da stromalne stanice karcinoma pankreasa imaju sposobnost sinteze sindekana-2.

U našem istraživanju epitelna i stromalna izraženost sindekana-2 u karcinomu pankreasa nije bila statistički značajno povezana sa spolom bolesnika te stupnjem diferenciranosti tumora, veličinom tumora, T stadijem bolesti, stanjem limfnih čvorova i prisutnošću udaljenih metastaza (M stadij bolesti). Međutim izraženost sindekana-2 u stromi karcinoma bila je statistički značajno pozitivno povezana s dobi bolesnika. Bolesnici koji su imali izražen sindekan-2 u stromi karcinoma bili su značajno stariji od onih bez izraženosti sindekana-2 u stromi karcinoma.

Da li i kakvu ulogu bi mogla imati dob bolesnika u izraženosti sindekana-2 u stromi karcinoma pankreasa ne možemo zaključiti na temelju dobivenih rezultata jer u literaturi ne postoje podaci koji bi povezivali bilo epitelnu bilo stromalnu izraženost sindekana-2 s dobi bolesnika. Za utvrđivanje stvarne vrijednosti i relevantnosti ovog rezultata bilo bi potrebno provesti dodatna istraživanja na većem broju bolesnika.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da bolesnici s epitelnom izraženošću sindekana-2 žive statistički značajno duže u usporedbi s bolesnicima bez epitelne izraženosti sindekana-2. Kod bolesnika s epitelnom izraženošću sindekana-2 šanse za preživljenje su narasle 2,22 puta. Također se u preživljenju kao bitan faktor pokazao i intenzitet epitelne izraženosti sindekana-2 koji je u multivarijantnoj analizi bio pozitivno povezan s preživljenjem te su bolesnici s visokom epitelnom izraženošću sindekana-2 imali statistički značajno dulje preživljenje u usporedbi s bolesnicima koji su

imali nisku epitelnu izraženosti ili uopće nisu imali epitelnu izraženost sindekana-2.

Navedeni rezultati ukazuju da izraženost sindekana-2 u epitelu karcinoma pankreasa tijekom karcinogeneze direktno utječe na bolju prognozu. Takvi rezultati oprečni su s objavljenim rezultatima o prognostičkoj vrijednosti sindekan-2 u karcinomima debelog crijeva, jednjaka i prostate (163,197,200).

Međutim uloga sindekana-2 bi u karcinomima pankreasa mogla biti različita od one koju ima u drugim tumorima gastrointestinalnog trakta, slično kao što su Juuti i sur. (187) naveli za sindekan-1, čija se uloga u karcinomu pankreasa razlikuje od uloge u drugim tumorima gastrointestinalnog trakta. Uz to epitelni i stromalni sindekan-2, kao i epitelni i stromalni sindekan-1, bi mogli imati različitu funkciju ovisno o mjestu izraženosti odnosno o tipu stanica koje su odgovorne za njegovu sintezu (epitelne ili stromalne stanice).

U zaključku možemo navesti da su rezultati našeg istraživanja potvrdili da u karcinomu pankreasa postoji epitelna i stromalna izraženost sindekana-1 i sindekana-2. Epitelna izraženost sindekana-1 nađena je i u benignim duktusima pankreasa te bi on mogao imati ulogu u progresiji karcinoma pankreasa dok je epitelna izraženost sindekana-2 nađena samo u karcinomu pankreasa što bi moglo upućivati na zaključak da je sindekan-2 važan u nastanku karcinoma pankreasa. Stromalna izraženost obaju istraživanih biljega bila je ograničena samo na karcinom i nije nađena u benignom tkivu pankreasa te se može zaključiti da bi i stromalna izraženost ispitivanih biljega mogla imati značajnu ulogu u stvaranju mikrookoliša koji pogoduje rastu i lokalnom širenju karcinoma pankreasa.

Za razliku od sindekana-1, epitelna izraženost sindekana-2 pokazala je i prognostičku vrijednost te bi se sindekan-2 mogao koristiti kao jeftin i lako dostupan dodatni biljeg koji bi mogao pomoći u stratifikaciji bolesnika s obzirom na očekivano preživljenje.

7. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti:

1. Sindekan-1 i sindekan-2 izraženi su u karcinomu pankreasa. Sindekan-1 bio je izražen u epitelu 48 (90,6%), a sindekan-2 u epitelu 23 (43,4%) karcinoma. Sindekan-1 bio je jako izražen u epitelu 17 (32,1%) tumora, dok je sindekan-2 bio jako izražen u epitelu samo 3 (5,7%) tumora. Izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u stromi karcinoma nađena je u 30 (56,6%) uzoraka. Izraženost obaju ispitivanih biljega u stromi tumora bila je pretežito slaba te je sindekan-1 bio jako izražen u stromi samo 5 (9,4%) karcinoma, a jaka izraženost sindekana-2 u stromi tumora nije nađena ni u jednom uzorku. U normalnom epitelnom tkivu pankreasa sindekan-1 bio je izražen u duktalnim stanicama te u manjim nakupinama i pojedinačnim acinarnim stanicama, dok je umjerena do jaka izraženost sindekana-2 nađena u pojedinačnim ili manjim nakupinama acinarnih stanica. Stroma normalnoga tkiva pankreasa nije pokazivala pozitivnu reakciju ni na jedan od istraživanih biljega.
2. Dob bolesnika bila je statistički značajno povezana sa stromalnom izraženošću sindekana-2 ($p=0,014$), dok takva povezanost između dobi i epitelne izraženosti sindekana-2 nije nađena ($p=0,546$). Bolesnici koji su imali izraženost sindekana-2 u stromi karcinoma bili su znatno stariji od onih bez izraženosti sindekana-2. Epitelna i stromalna izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u karcinomu pankreasa nije bila statistički značajno povezana s preostalim kliničko-patološkim karakteristikama tumora ($p>0,05$).
3. Razlike u izraženošću sindekana-1 i -2 u epitelu ($p=0,088$) i stromi karcinoma ($p=0,080$) nisu se bitno razlikovale između bolesnika koji su umrli od karcinoma i onih koji su još bili živi na kraju razdoblja praćenja, ali su vrijednosti za sindekan-2 pokazivale tendenciju približavanja statistički značajnim vrijednostima.
4. Izraženost sindekana-1 i -2 u epitelnim stanicama nije bila statistički značajno povezana s izraženošću sindekana-1 i -2 u stromi karcinoma ($p=0,847$). S obzirom da nije nađena statistički značajna povezanost

između stupnja izraženosti sindekana-1 i -2 u epitelnim i stromalnim stanicama karcinoma, može se zaključiti da oba istraživana sindekana u stromalnim stanicama nastaju neovisno o onom u epitelnim stanicama te da stromalne stanice karcinoma pankreasa imaju sposobnost sinteze sindekana-1 i -2.

5. U univarijatnoj Kaplan-Meierovoj analizi nije nađena statistički značajna povezanost između epitelne ($p=0,251$ i $p=0,381$) i stromalne ($p=0,482$ i $p=0,328$) izraženosti sindekana-1 i -2 s dužinom preživljenja. Međutim u multivarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi kao statistički značajan pokazatelj dužine preživljenja bolesnika pokazala se epitelna izraženost sindekana-2 (OR=0,452, 95% CI: 0,222–0,918, $p=0,029$). Bolesnici s većom epitelnom izraženošću sindekana-2 živjeli su statistički značajno dulje od bolesnika s manjom epitelnom izraženošću sindekana-2 te se sindekan-2 pokazao kao bolji i nezavisni prognostički čimbenik u usporedbi sa sindekanom-1.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da bi sindekan-1, koji je izražen i u benignom tkivu pankreatičnih vodova, mogao imati ulogu u progresiji karcinoma pankreasa, dok bi sindekan-2, koji nije izražen u benignom tkivu pankreatičnih vodova i pojavljuje se tek u karcinomu, mogao imati ulogu u nastanku karcinoma pankreasa. Stromalna izraženost obaju istraživanih biljega, koja je nađena samo u karcinomu, također bi mogla imati važnu ulogu u stvaranju uvjeta koji pogoduju rastu i lokalnom širenju tumora. S obzirom na navedenu moguću ulogu u nastanku i razvoju karcinoma pankreasa oba ispitivana biljega kandidati su za razvoj i primjenu specifične molekularne terapije koja bi mogla olakšati i unaprijediti liječenje karcinoma pankreasa.

Intenzitet izraženost sindekan-2 u epitelnim stanicama karcinoma pankreasa pokazao se i kao bitan pokazatelj dužine preživljenja te bi se uz već poznate i priznate prognostičke faktore mogao primijeniti kao dodatni pokazatelj agresivnosti bolesti. Primjenom sindekana-2 u prognostičke svrhe mogli bi se na relativno jednostavan i jeftin način izdvojiti bolesnici s niskom epitelnom izraženošću sindekana-2, kojima bi nakon kirurške trebalo što prije uvesti i dodatnu terapiju koja bi spriječila povrat bolesti, odnosno produljila takvim bolesnicima život, uz poboljšanje njegove kvalitete.

8. SAŽETAK

U ovom istraživanju analizirana je epitelna i stromalna izraženost i prognostička vrijednost sindekana-1 i sindekana-2 u karcinomu gušterače, a hipoteza je istraživanja da postoji povezanost između pojačane izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače s boljom prognozom bolesti.

Na temelju postavljene hipoteze određeni su ovi ciljevi istraživanja:

1. Imunohistokemijski odrediti izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače, i to u epitelnoj i stromalnoj komponenti.
2. Usporediti imunohistokemijsku izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače s priznatim prognostičkim čimbenicima (stupanj diferenciranosti tumora i TNM-stadij) te s vremenom preživljenja.
3. Odrediti da li postoji povezanost između izraženosti sindekana-1 i sindekana-2 u adenokarcinomu gušterače.
4. Odrediti koji od dva ispitivana biljega ima veću prognostičku vrijednost u bolesnika s adenokarcinomom gušterače.

U istraživanje je uključeno 53 bolesnika koji su operirani zbog adenokarcinoma gušterače u Klinici za kirurgiju Kliničke bolnice Sestre milosrdnice i Kliničke bolnice Dubrava u razdoblju od 1. siječnja 2001. do 31. prosinca 2010. Materijal je obrađen standardnom histološkom metodom, a dodatni rezovi tkiva koji su uz karcinom gušterače sadržavali i tkivo gušterače bez tumora analizirani su imunohistokemijski monoklonalnim protutijelima na sindekan-1 i sindekan-2.

Rezultati imunohistokemijske analize za istraživane biljege prikazani su semikvantitativno, određujući postotak imunoreaktivnih stanica. Postotak imunoreaktivnih stanica u epitelnoj i stromalnoj komponenti tumora određivao se na cijeloj površini tumora u odabranom prerezu, a označavao se kao: 0 – bez pozitivnih epitelnih i stromalnih stanica; 1 – za reakciju do 10%; 2 – za reakciju u više od 10% do 30% i 3 – za reakciju u više od 30% epitelnih i stromalnih stanica.

Sindekan-1 bio je izražen u epitelu 48 (90,6%), a sindekan-2 u epitelu 23 (43,4%) karcinoma. Izraženost sindekana-1 i sindekana-2 u stromi karcinoma nađena je u 30 (56,6%) uzoraka. Od analiziranih kliničko-patoloških parametara (dob, spol, stupanj diferenciranosti tumora, veličina tumora, TNM-stadij bolesti) samo je dob bolesnika bila statistički značajno povezana sa stromalnom izraženosti sindekana-2 ($p=0,014$). Bolesnici koji su imali izraženost sindekana-2 u stromi karcinoma bili su znatno stariji od onih bez izraženosti sindekana-2. Razlike u izraženosti sindekana-1 i -2 u epitelu ($p=0,444$, $p=0,088$) i stromi karcinoma ($p=0,421$, $p=0,080$) nisu se bitno razlikovale između bolesnika koji su umrli od karcinoma i onih koji su još bili živi na kraju razdoblja praćenja. Nije nađena statistički značajna povezanost između izraženosti sindekana-1 i -2 u epitelnim i stromalnim stanicama karcinoma ($p=0,858$, $p=0,847$). U multivarijantnoj Coxovoj regresijskoj analizi kao statistički značajan pokazatelj dužine preživljenja bolesnika pokazala se epitelna izraženost sindekana-2 ($p=0,029$). Bolesnici s većom epitelnom izraženosti sindekana-2 živjeli su statistički značajno dulje od bolesnika s manjom epitelnom izraženosti sindekana-2.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da bi epitelna i stromalna izraženost sindekana-1 i -2 u karcinomu pankreasa mogla imati ulogu u nastanku i progresiji karcinoma te su oba ispitivana biljega kandidati za razvoj i primjenu specifične molekularne terapije koja bi mogla olakšati i unaprijediti liječenje karcinoma pankreasa. Epitelna izraženost sindekana-2 u karcinomu pankreasa pokazala se kao bitan prognostički faktor i mogla bi se primijeniti kao dodatni pokazatelj agresivnosti bolesti.

5. SUMMARY

Prognostic value of syndecan-1 and -2 expression in pancreatic adenocarcinoma

Hypothesis of this investigation states that there is a significant correlation between expression of syndecan-1 and syndecan-2 in pancreatic adenocarcinoma and disease prognosis and final outcome.

All together 53 patient with pancreatic adenocarcinoma were enrolled in this study. Syndecan-1 was expressed in the epithelia of 48 and syndecan-2 in epithelia of 23 pancreatic adenocarcinomas. The expression of syndecan-1 and syndecan-2 in the stroma of adenocarcinoma was found in 30 samples. From all the analyzed clinical and pathological parameters only age of the patient was significantly statistically correlated with the stromal expression of syndecan-2 ($p=0,014$). Patients who had a stromal expression of syndecan-2 in the carcinoma tissue were significantly older than those without syndecan-2 stromal expression. The differences between carcinomal epithelial ($p=0,444$, $p=0,088$) and stromal ($p=0,421$, $p=0,080$) syndecan-1 and -2 expression did not differ in patients who died from adenocarcinoma and those who were still alive at the end point of follow-up period. No statistically significant correlation was found among syndecan-1 and syndecan-2 epithelial and stromal carcinoma expression ($p=0,858$, $p=0,847$). According to Cox regression analysis, as a statistically significant factor of survival rate arose the epithelial expression of syndecan-2 ($p=0,029$). Patient with over expression of syndecan-2 lived statistically longer that those with a lesser expression.

On the basis of generated data and final results, it was concluded that epithelial and stromal expression of syndecan-1 and -2 in pancreatic adenocarcinoma could have influence in the carcinogenesis and disease progression. Therefore both analyzed markers could be candidates for the development and implementation of specific molecular therapy. The epithelial expression of syndecan-1 in pancreatic carcinoma revealed it's self as a significant prognostic factor and could have a role as an additional indicator of disease aggressiveness.

10. LITERATURA

1. Anderson KE, Mack T, Silverman D. Cancer of the pancreas. U: Schottenfeld D, Fraumeni JF Jr. Cancer Epidemiology and Prevention. 3 izd., New York: Oxford University Press; 2006.
2. Flanders TY, Foulkes WD. Pancreatic adenocarcinoma: epidemiology and genetics. J Med Genet 1996;33:889-98.
3. Jemal A, Siegel R, Ward E i sur. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin 2008;58:71-96.
4. Ries LA, Eisner MP, Kosary CL i sur. SEER Cancer Statistics Review, 1973-1996. National Cancer Institute, Bethesda, MD 2000.
5. Howlader N, Noone AM, Krapcho M i sur. *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008*, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/, based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2011.
6. Bilimoria KY, Bentrem DJ, Ko CY i sur. Validation of the 6th edition AJCC Pancreatic Cancer Staging System: report from the National Cancer Database. Cancer 2007;110:738-44.
7. Longnecker DS, Karagas MR, Tosteson TD, Mott LA. Racial differences in pancreatic cancer: comparison of survival and histologic types of pancreatic carcinoma in Asians, Blacks and Whites in the United States. Pancreas 2000;21:338-43.
8. Cascinu S, Falconi M, Valentini V, Jelic S. Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2010; 21:55-8.
9. Hrvatski zavod za javno zdravstvo: registar za rak, bilten br. 33, Incidencija raka u Hrvatskoj 2008, Zagreb: Medicinska naklada, 2008.
10. Ghadirian P, Boyle P, Simard A i sur. Reported family aggregation of pancreatic cancer within a population-based case-control study in the Francophone community in Montreal, Canada. Int J Pancreatol 1991;10:183-96.

11. Ghadirian P, Liu G, Gallinger S i sur. Risk of pancreatic cancer among individuals with a family history of cancer of the pancreas. *Int J Cancer* 2002;97:807-10.
12. Brune KA, Lau B, Palmisano E i sur. Importance of age of onset in pancreatic cancer kindreds. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:119-26.
13. Schenk M, Schwartz AG, O'Neal E i sur. Familial risk of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:640-4.
14. Cowgill SM, Muscarella P. The genetics of pancreatic cancer. *Am J Surg* 2003;186:279-86.
15. Rebours V, Boutron-Ruault MC, Schnee M i sur. Risk of pancreatic adenocarcinoma in patients with hereditary pancreatitis: a national exhaustive series. *Am J Gastroenterol* 2008;103:111-9.
16. Pandya A, Blanton SH, Landa, B i sur. Linkage studies in a large kindred with hereditary pancreatitis confirms mapping of the gene to a 16-cM region on 7q. *Genomics* 1996;38:227-30.
17. Rebours V, Boutron-Ruault MC, Jooste V i sur. Mortality rate and risk factors in patients with hereditary pancreatitis: uni- and multi. dimensional analyses. *Am J Gastroenterol* 2009;104:2312-7.
18. Klein AP, Hruban RH, Brune KA i sur. Familial pancreatic cancer. *Cancer J* 2001;7:266-73.
19. Greer JB, Whitcomb DC, Brand RE. Genetic predisposition to pancreatic cancer: a brief review. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2564-9.
20. Amundadottir L, Kraft P, Stolzenberg-Solomon RZ i sur. Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer. *Nat Genet* 2009;41:986-90.
21. Risch HA, Yu H, Lu L, Kidd MS. ABO blood group, *Helicobacter pylori* seropositivity, and risk of pancreatic cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:502-5.
22. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G i sur. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993;328:1433-7.
23. Silverman DT, Dunn JA, Hoover RN i sur. Cigarette smoking and pancreas cancer: A case-control study based on direct interviews. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1510-6.

24. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A i sur. Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. *Br J Cancer* 2005;92:2076-83.
25. Stevens RJ, Roddam AW, Beral V. Pancreatic cancer in type 1 and young-onset diabetes: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer* 2007;96:507-9.
26. Pannala R, Leirness JB, Bamlet WR i sur. Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. *Gastroenterology* 2008;134:981-7.
27. Gapstur SM, Gann PH, Lowe W i sur. Abnormal glucose metabolism and pancreatic cancer mortality. *JAMA* 2000;283:2552-8.
28. Permert J, Larsson J, Westermark GT i sur. Islet amyloid polypeptide in patients with pancreatic cancer and diabetes. *N Engl J Med* 1994;330:313-8.
29. Pelaez-Luna M, Takahashi N, Fletcher JG, Chari ST. Resectability of presymptomatic pancreatic cancer and its relationship to onset of diabetes: a retrospective review of CT scans and fasting glucose values prior to diagnosis. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2157-63.
30. Li D, Morris JS, Liu J i sur. Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *JAMA* 2009;301:2553-62.
31. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Body mass index and pancreatic cancer risk: A meta-analysis of prospective studies. *Int J Cancer* 2007;120:1993-8.
32. Stolzenberg-Solomon RZ, Adams K, Leitzmann M i sur. Adiposity, physical activity, and pancreatic cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Cohort. *Am J Epidemiol* 2008;167:586-97.
33. Luo J, Margolis KL, Adami HO i sur. Obesity and risk of pancreatic cancer among postmenopausal women: the Women's Health Initiative (United States). *Br J Cancer* 2008;99:527-31.
34. Gold EB, Goldin SB. Epidemiology of and risk factors for pancreatic cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 1998;7:67-91.
35. Gordis L. Consumption of methylxanthine-containing beverages and risk of pancreatic cancer. *Cancer Lett* 1990;52:1-12.
36. Caldas C, Hahn SA, Hruban RH i sur. Detection of K-ras mutations in the stool of patients with pancreatic adenocarcinoma and pancreatic ductal hyperplasia. *Cancer Res* 1994;54:3568-73.

37. Z'graggen K, Warshaw AL, Werner J i sur. Promoting effect of a high-fat/high-protein diet in DMBA-induced ductal pancreatic cancer in rats. *Ann Surg* 2001;233:688-95.
38. Hassan MM, Li D, El-Deeb AS i sur. Association between hepatitis B virus and pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:4557-62.
39. Offerhaus GJ, Tersmette AC, Tersmette KW, Tytgat GN, Hoedemaeker PJ, Vandenbroucke JP. Gastric, pancreatic, and colorectal carcinogenesis following remote peptic ulcer surgery. Review of the literature with the emphasis on risk assessment and underlying mechanism. *Mod Pathol* 1988;1:352-6.
40. Chow WH, Johansen C, Gridley G, Møller M, Olsen JH, Fraumeni JF Jr. Gallstones, cholecystectomy and risk of cancers of the liver, biliary tract and pancreas. *Br J Cancer* 1999;79:640-4.
41. Schernhammer ES, Michaud DS, Leitzmann MF, Giovannucci E, Colditz GA, Fuchs CS. Gallstones, cholecystectomy, and the risk for developing pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2002;86:1081-4.
42. Friedman GD. Cholecystectomy not confirmed as a risk factor for pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1995 29;6:745-6.
43. Smith JP, Solomon TE, Bagheri S, Kramer S. Cholecystokinin stimulates growth of human pancreatic adenocarcinoma SW-1990. *Dig Dis Sci* 1990;35:1377-84.
44. Kloppel G, Hruban RH, Longnecker DS i sur. Tumors of the exocrine pancreas. U: World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics, Tumors of the Digestive System, Hamilton, S, Aaltonen, LA (ur.), IARC Press, Lyon 2000. str. 219
45. Zamboni G, Klöppel G, Hruban RH i sur. Mucinous cystic neoplasms of the pancreas. U: Hamilton SR, Aaltonen LA (ur.). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. Lyon: IARC Press, 2000, str. 234–6.
46. Solcia E, Capella C, Klöppel G. Tumors of the Pancreas. *Atlas of Tumor Pathology*. Vol. Fascicle 20, 3. izd., Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1997.
47. Japanese Pancreas Society. Classification of Pancreatic Carcinoma, 2. izd., Tokyo: Kanehara & Co., Ltd., 2003.

48. Hruban RH, Klimstra DS, Pitman MB. Tumors of the Pancreas. Atlas of Tumor Pathology, 4. izd., Armed Forces Institute of Pathology: Washington, DC, 2006.
49. Klöppel G, Lिंगenthal G, von Bulow M i sur. Histological and fine structural features of pancreatic ductal adenocarcinomas in relation to growth and prognosis: studies in xenografted tumors and clinico-histopathological correlation in a series of 75 cases. *Histopathology* 1985;9:841–56.
50. American Joint Committee on Cancer, Cancer Staging Manual, 7 izd, Edge, SB, Byrd, DR, Compton, CC i sur. (ur.), Springer, New York 2010. str. 241
51. Jones S, Zhang X, Parsons DW, i sur. Core Signaling Pathways in Human Pancreatic Cancers Revealed by Global Genomic Analyses. *Science* 2008;321:1801-6.
52. Lal G, Liu G, Schmocker B i sur. Inherited predisposition to pancreatic adenocarcinoma: role of family history and germ-line p16, BRCA1, and BRCA2 mutations. *Cancer Res* 2000;60:409-16.
53. Hruban RH, van Mansfield AD, Offerhaus GJ i sur. K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human pancreas. A study of 82 carcinomas using a combination of mutant-enriched polymerase chain reaction analysis and allele-specific oligonucleotide hybridization. *Am J Pathol* 1993;143:545-54.
54. Moskaluk CA, Hruban RH, Kern SE. p16 and K-ras gene mutations in the intraductal precursors of human pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 1997;57:2140-3.
55. Subhi AL, Tang B, Balsara BR i sur. Loss of methylthioadenosine phosphorylase and elevated ornithine decarboxylase is common in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:7290-6.
56. Baumgart M, Werther M, Bockholt A i sur. Genomic instability at both the base pair level and the chromosomal level is detectable in earliest PanIN lesions in tissues of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2010;39:1093-103.
57. Karamitopoulou E, Zlobec I, Tornillo L i sur. Differential cell cycle and proliferation marker expression in ductal pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN). *Pathology* 2010; 42:229-34.

58. Goggins M, Shekher M, Turnacioglu K i sur. Genetic alterations of the transforming growth factor beta receptor genes in pancreatic and biliary adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998;58:5329-32.
59. Van der Heijden MS, Brody JR, Dezentje DA i sur. In vivo therapeutic responses contingent on Fanconi anemia/BRCA2 status of the tumor. *Clin Cancer Res* 2005;11:7508-15.
60. Wilentz RE, Goggins M, Redston M i sur. Genetic, immunohistochemical, and clinical features of medullary carcinoma of the pancreas: a newly described and characterized entity. *Am J Pathol* 2000;156:1641-51.
61. Hruban RH, Canto MI, Griffin C i sur. Treatment of familial pancreatic cancer and its precursors. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2005;8:365-75.
62. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J i sur. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol* 2001;25:579-86.
63. Shi C, Daniels JA, Hruban RH. Molecular characterization of pancreatic neoplasms. *Adv Anat Pathol* 2008;15:185-95.
64. Danovi SA, Wong HH, Lemoine NR. Targeted therapies for pancreatic cancer. *Br Med Bull* 2008;87:97–130.
65. Kalser MH, Barkin J, MacIntyre JM. Pancreatic cancer. Assessment of prognosis by clinical presentation. *Cancer* 1985; 56:397-402.
66. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Ransom J, de Andrade M, Petersen GM. Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study. *Gastroenterology* 2005;129:504-11.
67. Holly EA, Chaliha I, Bracci PM, Gautam M. Signs and symptoms of pancreatic cancer: A population-based case-control study in the San Francisco Bay area. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:510-7.
68. Van den Bosch RP, van Eijck CH, Mulder PG, Jeekel J. Serum CA19-9 determination in the management of pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 1996;43:710-3.
69. Pleskow DK, Berger HJ, Gyves J, Allen E, McLean A, Podolsky DK. Evaluation of a serologic marker, CA19-9, in the diagnosis of pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 1989;110:704-9.
70. Steinberg W. The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. *Am J Gastroenterol* 1990;85:350-5.

71. Lamerz M. Role of tumour markers, cytogenetics. *Ann Oncol* 1999;10:145-9.
72. Locker GY, Hamilton S, Harris J i sur. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24:5313-27.
73. Fujioka S, Misawa T, Okamoto T i sur. Preoperative serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels for the evaluation of curability and resectability in patients with pancreatic adenocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007;14:539-44.
74. Kang CM, Kim JY, Choi GH, Kim KS, Choi JS, Lee WJ. The use of adjusted preoperative CA 19-9 to predict the recurrence of resectable pancreatic cancer. *J Surg Res* 2007;140:31-5.
75. Czito BG, Willett CG, Clark JW, Fernandez Del Castillo C. Current perspectives on locally advanced pancreatic cancer. *Oncology* 2000;14:1535-45.
76. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines. Available at: www.nccn.org (Accessed on October 13, 2011)
77. Callery MP, Chang KJ, Fishman EK, Talamonti MS, William Traverso L, Linehan DC. Pretreatment assessment of resectable and borderline resectable pancreatic cancer: expert consensus statement. *nn Surg Oncol*. 2009;16:1727-33.
78. Hua YP, Liang LJ, Peng BG, Li SQ, Huang JF. Pancreatic head carcinoma: clinical analysis of 189 cases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009;8:79-84.
79. Maringhini A, Ciambra M, Raimondo M i sur. Clinical presentation and ultrasonography in the diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas* 1993;8:146-50.
80. Phoa SS, Tillemann EH, van Delden OM, Bossuyt PM, Gouma DJ, Laméris JS. Value of CT criteria in predicting survival in patients with potentially resectable pancreatic head carcinoma. *J Surg Oncol* 2005;91:33-40.
81. O'Malley ME, Boland GW, Wood BJ, Fernandez-del Castillo C, Warshaw AL, Mueller PR. Adenocarcinoma of the head of the pancreas: determination of surgical unresectability with thin-section pancreatic-phase helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 1999;173:1513-8.

82. Lu DS, Reber HA, Krasny RM, Kadell BM, Sayre J. Local staging of pancreatic cancer: criteria for unresectability of major vessels as revealed by pancreatic-phase, thin-section helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 1997;168:1439-43.
83. Horton KM, Fishman EK. Multidetector CT angiography of pancreatic carcinoma: part I, evaluation of arterial involvement. *AJR Am J Roentgenol* 2002;178:827-31.
84. Coley, SC, Strickland, NH, Walker, JD, Williamson, RC. Spiral CT and the pre-operative assessment of pancreatic adenocarcinoma. *Clin Radiol* 1997;52: 24-30.
85. Adamek HE, Albert J, Breer H, Weitz M, Schilling D, Riemann JF. Pancreatic cancer detection with magnetic resonance cholangiopancreatography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a prospective controlled study. *Lancet* 2000;356:190-3.
86. Kauhanen SP, Komar G, Seppänen MP i sur. A prospective diagnostic accuracy study of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography, multidetector row computed tomography, and magnetic resonance imaging in primary diagnosis and staging of pancreatic cancer. *Ann Surg* 2009;250:957-63.
87. Farma JM, Santillan AA, Melis M i sur. PET/CT fusion scan enhances CT staging in patients with pancreatic neoplasms. *Ann Surg Oncol* 2008;15:2465-71.
88. Vandervoort J, Soetikno RM, Montes H i sur. Accuracy and complication rate of brush cytology from bile duct versus pancreatic duct. *Gastrointest Endosc* 1999;49:322-7.
89. Ferrari Júnior AP, Lichtenstein DR, Slivka A, Chang C, Carr-Locke DL. Brush cytology during ERCP for the diagnosis of biliary and pancreatic malignancies. *Gastrointest Endosc* 1994;40:140-5.
90. Saftoiu, A, Vilman, P. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis and staging of pancreatic cancer. *J Clin Ultrasound* 2009;37:1-17.
91. Puli SR, Singh S, Hagedorn CH, Reddy J, Olyae M. Diagnostic accuracy of EUS for vascular invasion in pancreatic and periampullary cancers: a meta-analysis and systematic review. *Gastrointest Endosc* 2007;65:788-97.

92. Johnson DE, Pendurthi TK, Balshem AM i sur. Implications of fine-needle aspiration in patients with resectable pancreatic cancer. *Am Surg* 1997;63:675-9.
93. Urban T, Ricci S, Grange JD i sur. Detection of c-Ki-ras mutation by PCR/RFLP analysis and diagnosis of pancreatic adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:2008-12.
94. Matsubayashi H, Canto M, Sato N i sur. DNA methylation alterations in the pancreatic juice of patients with suspected pancreatic disease. *Cancer Res* 2006;66:1208-17.
95. Teich N, Mossner J. Molecular analysis of pancreatic juice: a helpful tool to differentiate benign and malignant pancreatic tumors? *Dig Dis* 2004;22:235-8.
96. Trümper L, Menges M, Daus H i sur. Low sensitivity of the ki-ras polymerase chain reaction for diagnosing pancreatic cancer from pancreatic juice and bile: a multicenter prospective trial. *J Clin Oncol* 2002;20:4331-7.
97. Tada M, Komatsu Y, Kawabe T i sur. Quantitative analysis of K-ras gene mutation in pancreatic tissue obtained by endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration: clinical utility for diagnosis of pancreatic tumor. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2263-70.
98. Hartwig W, Schneider L, Diener MK, Bergmann F, Büchler MW, Werner J. Preoperative tissue diagnosis for tumours of the pancreas. *Br J Surg* 2009;96:5-20.
99. Fernández-del Castillo C, Warshaw AL. Laparoscopy for staging in pancreatic carcinoma. *Surg Oncol* 1993; 2:25-9.
100. Karachristos A, Scarneas N, Hoffman JP. CA 19-9 levels predict results of staging laparoscopy in pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2005;9:1286-92.
101. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual, 7. Izd., Edge SB, Byrd DR, Compton CC i sur. (Ur.), Springer, New York Vol 2010, str. 241.
102. Maringhini A, Ciambra M, Raimondo M i sur. Clinical presentation and ultrasonography in the diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas* 1993;8:146-50.

103. McPhee JT, Hill JS, Whalen GF, Zayaruzny M, Litwin DE, Sullivan ME. Perioperative mortality for pancreatectomy: a national perspective. *Ann Surg* 2007;246:246-53.
104. Wente MN, Bassi C, Dervenis C i sur. Delayed gastric emptying (DGE) after pancreatic surgery: a suggested definition by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). *Surgery* 2007;142:761-8.
105. van der Gaag NA, Rauws EA, van Eijck CH i sur. Preoperative biliary drainage for cancer of the head of the pancreas. *N Engl J Med* 2010;362:129-137.
106. Limongelli P, Pai M, Bansi D, Thiallinagam A, Tait P, Jackson J. Correlation between preoperative biliary drainage, bile duct contamination, and postoperative outcomes for pancreatic surgery. *Surgery* 2007;142:313-8.
107. Gaujoux S, Sauvanet A, Vullierme MP i sur. Ischemic complications after pancreaticoduodenectomy: incidence, prevention, and management. *Ann Surg* 2009;249:111-7.
108. House MG, Gonen M, Jarnagin WR, DAngelica M, DeMatteo RP, Fong Y. Prognostic significance of pathologic nodal status in patients with resected pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2007;11:1549-55.
109. Trede M, Schwall G, Saeger HD. Survival after pancreatoduodenectomy. 118 consecutive resections without an operative mortality. *Ann Surg* 1990;211:447-58.
110. Yeo CJ, Cameron JL, Sohn TA i sur. Six hundred fifty consecutive pancreaticoduodenectomies in the 1990s: pathology, complications, and outcomes. *Ann Surg* 1997;226:248-57.
111. Geer RJ, Brennan MF. Prognostic indicators for survival after resection of pancreatic adenocarcinoma. *Am J Surg* 1993;165:68-72.
112. Cameron JL, Riall TS, Coleman J, Belcher KA. One thousand consecutive pancreaticoduodenectomies. *Ann Surg* 2006; 244:10-15.
113. Lu DS, Reber HA, Krasny RM, Kadell BM, Sayre J. Local staging of pancreatic cancer: criteria for unresectability of major vessels as revealed by pancreatic-phase, thin-section helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 1997;168:1439-43.
114. Birkmeyer JD, Siewers AE, Finlayson EV i sur. Hospital volume and surgical mortality in the United States. *N Engl J Med* 2002;346:1128-37.

115. Willett CG, Lewandrowski K, Warshaw AL, Efird J, Compton CC. Resection margins in carcinoma of the head of the pancreas. Implications for radiation therapy. *Ann Surg* 1993;217:144-8.
116. Kalser MH, Ellenberg SS. Pancreatic cancer. Adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection. *Arch Surg* Aug 1985;120:899-903.
117. Oettle H, Post S, Neuhaus P i sur. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2007;297:267-77.
118. Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, Bassi C, Dunn JA, Hickey H. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2004;350:1200-10.
119. Moertel CG, Frytak S, Hahn RG i sur. Therapy of locally unresectable pancreatic carcinoma: a randomized comparison of high dose (6000 rads) radiation alone, moderate dose (radiation (4000 rads + 5-fluorouracil) and high dose radiation + 5-fluorouracil. The Gastrointestinal Tumor Study Group. *Cancer* 1981;48:1705-810.
120. Moertel CG, Childs DS, Reitemeier RJ i sur. Combined 5-fluorouracil and supervoltage radiation therapy of locally unresectable gastrointestinal cancer. *Lancet* 1969;2:865-7.
121. Klinkenbijn JH, Jeekel J, Sahmoud T i sur. 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* 1999;230:776-4.
122. Neoptolemos JP, Dunn JA, Stocken DD i sur. Adjuvant chemoradiotherapy and chemotherapy in resectable pancreatic cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001;358:1576-85.
123. Yang R, Cheung MC, Byrne MM i sur. Survival effects of adjuvant chemoradiotherapy after resection for pancreatic carcinoma. *Arch Surg* 2010;145:49-56.
124. Neuhaus P, Riess H, Post S. CONKO-001: Final results of the randomized, prospective multicenter phase III trial of adjuvant chemotherapy with gemcitabine versus observation in patients with resected pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:2s-4s.

125. Butturini G, Stocken DD, Wente MN i sur. Influence of resection margins and treatment on survival in patients with pancreatic cancer: meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Surg* 2008;143:75-83.
126. Regine WF, Winter KA, Abrams RA i sur. Fluorouracil vs gemcitabine chemotherapy before and after fluorouracil-based chemoradiation following resection of pancreatic adenocarcinoma: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008;299:1019-26.
127. Hsu CC, Herman JM, Corsini MM i sur. Adjuvant chemoradiation for pancreatic adenocarcinoma: the Johns Hopkins Hospital-Mayo Clinic collaborative study. *Ann Surg Oncol* 2010;17:981-90.
128. Picozzi VJ, Kozarek RA, Traverso LW. Interferon-based adjuvant chemoradiation therapy after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Am J Surg* 2003;185:476-80.
129. Picozzi V, Abrams RA, Decker PA i sur. ACOSOG Z05031: Initial report of a multicenter, phase II trial of a novel chemoradiation protocol using cisplatin, 5-FU, and alpha-interferon as adjuvant therapy for resected pancreatic cancer (abstract). Data presented at the 2008 ASCO Gastrointestinal Cancer Symposium, January 25, 2008, Orlando, Florida.
130. Neoptolemos JP, Stocken DD, Bassi C, i sur. European Study Group for Pancreatic Cancer Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010;304:1073-81.
131. Regine WF, Winter KA, Abrams R i sur. Fluorouracil-based chemoradiation with either gemcitabine or fluorouracil chemotherapy after resection of pancreatic adenocarcinoma: 5-year analysis of the U.S. Intergroup/RTOG 9704 phase III trial. *Ann Surg Oncol* 2011;18:1319-26.
132. Pisters PW, Abbruzzese JL, Janjan NA i sur. Rapid-fractionation preoperative chemoradiation, pancreaticoduodenectomy, and intraoperative radiation therapy for resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 1998;16:3843-50.
133. Moutardier V, Magnin V, Turrini O i sur. Assessment of pathologic response after preoperative chemoradiotherapy and surgery in pancreatic adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;60:437-43.

134. Kulke MH, Blaszkowsky LS, Ryan DP i sur. Capecitabine plus erlotinib in gemcitabine-refractory advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:4787-92.
135. Vervenne W, Bennouna J, Humblett Y. A randomized double-blind, placebo (P) controlled, multicenter phase III trial to evaluate the efficacy and safety of adding bevacizumab (B) to erlotinib (E) and gemcitabine (G) in patients (pts) with metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:214s (abstract 4507).
136. Sohn TA, Lillemoe KD, Cameron JL i sur. Surgical palliation of unresectable periampullary adenocarcinoma in the 1990s. *J Am Coll Surg* 1999;188:658-66.
137. Moss AC, Morris E, Leyden J, MacMathuna P. Malignant distal biliary obstruction: a systematic review and meta-analysis of endoscopic and surgical bypass results. *Cancer Treat Rev* 2007;33:213-21.
138. Levy MJ, Baron TH, Gostout CJ i sur. Palliation of malignant extrahepatic biliary obstruction with plastic versus expandable metal stents: An evidence-based approach. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:273-85.
139. Chen VK, Arguedas MR, Baron TH. Expandable metal biliary stents before pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer: a Monte-Carlo decision analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:1229-37.
140. Kahaleh M, Brock A, Conaway MR, i sur. Covered self-expandable metal stents in pancreatic malignancy regardless of resectability: a new concept validated by a decision analysis. *Endoscopy* 2007;39:319-24.
141. Shin HP, Kim MH, Jung SW i sur. Endoscopic removal of biliary self-expandable metallic stents: a prospective study. *Endoscopy* 2006;38:1250-5.
142. Hüser N, Michalski CW, Schuster T i sur. Systematic review and meta-analysis of prophylactic gastroenterostomy for unresectable advanced pancreatic cancer. *Br J Surg* 2009;96:711-9.
143. Weaver DW, Wiencek RG, Bouwman DL, Walt AJ. Gastrojejunostomy: is it helpful for patients with pancreatic cancer? *Surgery* 1987;102:608-13.
144. Venu RP, Pastika BJ, Kini M i sur. Self-expandable metal stents for malignant gastric outlet obstruction: a modified technique. *Endoscopy* 1998;30:553-8.

145. Adler DG, Baron TH. Endoscopic palliation of malignant gastric outlet obstruction using self-expanding metal stents: experience in 36 patients. *Am J Gastroenterol* 2002;97:72-8.
146. Yim HB, Jacobson BC, Saltzman JR i sur. Clinical outcome of the use of enteral stents for palliation of patients with malignant upper GI obstruction. *Gastrointest Endosc* 2001;53:329-32.
147. Barkin JS, Goldberg RI, Sfakianakis GN, Levi J. Pancreatic carcinoma is associated with delayed gastric emptying. *Dig Dis Sci* 1986;31:265-7.
148. Arcidiacono PG, Calori G, Carrara S i sur. Celiac plexus block for pancreatic cancer pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;CD007519.
149. Bruno MJ, Haverkort EB, Tijssen GP i sur. Placebo controlled trial of enteric coated pancreatin microsphere treatment in patients with unresectable cancer of the pancreatic head region. *Gut* 1998;42:92-6.
150. Rapraeger AC, Ott VL. Molecular interactions of the syndecan core proteins. *Curr Opin Cell Biol* 1998;10:620–8.
151. Beauvais DM, Rapraeger AC. Syndecans in tumor cell adhesion and signaling. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:3.
152. Rapraeger AC. Syndecan-regulated receptor signaling. *J Cell Biol* 2000;149:995–8.
153. Zimmermann P, David G. The syndecans, tuners of transmembrane signaling. *FASEB J* 1999;13:91–100.
154. Carey DJ. Syndecans: multifunctional cell-surface co-receptors. *Biochem J* 1997;327:1–16.
155. Khotskaya YB, Dai Y, Ritchie JP i sur. Syndecan- 1 is required for robust growth, vascularization, and metastasis of myeloma tumors *in vivo*. *J Biol Chem* 2009;284:26085-95.
156. Maeda T, Desouky J, Friedl A. Syndecan-1 expression by stromal fibroblasts promotes breast carcinoma growth *in vivo* and stimulates tumor angiogenesis. *Oncogene* 2006; 25:1408-12.
157. Shimada K, Nakamura M, De Velasco M i sur. Role of syndecan-1 (CD138) in cell survival of human urothelial carcinoma. *Cancer Sci* 2010;101:155-60.

158. Davies EJ, Blackhall FH, Shanks JH i sur. Distribution and clinical significance of heparan sulfate proteoglycans in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:5178-86.
159. Chen D, Adenekan B, Chen L i sur. Syndecan-1 expression in locally invasive and metastatic prostate cancer. *Urology* 2004;63:402-7.
160. Levy P, Munier A, Baron-Delage S i sur. Syndecan-1 alterations during the tumorigenic progression of human colonic Caco-2 cells induced by human Ha-ras or polyoma middle T oncogenes. *Br J Cancer* 1996;74:423-31.
161. Oh JH, Kim JH, Ahn H i sur. Syndecan-1 enhances the endometrial cancer invasion by modulating matrix metalloproteinase-9 expression through nuclear factor kappaB. *Gynecol Oncol* 2009;114:509-15.
162. Park H, Kim Y, Lim Y, Han I, Oh ES. Syndecan-2 mediates adhesion and proliferation of colon carcinoma cells. *J Biol Chem* 2002;277:29730-6.
163. Popović A, Demirović A, Spajić B, Stimac G, Kruslin B, Tomas D. Expression and prognostic role of syndecan-2 in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2010;13:78-82.
164. Woods A, Couchman JR. Syndecan-4 and focal adhesion function. *Curr Opin Cell Biol* 2001;13:578-83.
165. Subramanian SV, Fitzgerald ML, Bernfield M. Regulated shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains by thrombin and growth factor receptor activation. *J Biol Chem* 1997;272:14713-20.
166. Sanderson RD, Yang Y, Kelly T, MacLeod V, Dai Y, Theus A. Enzymatic remodeling of heparin sulfate proteoglycans within the tumor microenvironment: growth regulation and the prospect of new cancer therapies. *J Cell Biochem* 2005;96:897-905.
167. Hayashida K, Parks WC, Park PW. Syndecan-1 shedding facilitates the resolution of neutrophilic inflammation by removing sequestered CXC chemokines. *Blood* 2009;114:3033-43.
168. Noguer O, Villena J, Lorita J, Vilaró S, Reina M. Syndecan-2 downregulation impairs angiogenesis in human microvascular endothelial cells. *Exp Cell Res* 2009;315:795-808..
169. Mennerich D, Vogel A, Klamann I i sur. Shift of syndecan-1 expression from epithelial to stromal cells during progression of solid tumours. *Eur J Cancer* 2004;40:1373-82.

170. Hayashi K, Hayashi M, Jalkanen M, Firestone JH, Trelstad RL, Bernfield M. Immunocytochemistry of cell surface heparan sulfate proteoglycan in mouse tissues. A light and electron microscopic study. *J Histochem Cytochem* 1987;35:1079-88.
171. Kim CW, Goldberger OA, Gallo RL, Bernfield M. Members of the syndecan family of heparan sulfate proteoglycans are expressed in distinct cell-, tissue-, and development-specific patterns. *Mol Biol Cell* 1994;5:797-805.
172. Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG i sur., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. str. 249-52.
173. Jourdan M, Ferlin M, Legouffe E i sur. The myeloma cell antigen syndecan-1 is lost by apoptotic myeloma cells. *Br J Haematol* 1998;100:637-46.
174. Matsumoto A, Ono M, Fujimoto Y, Gallo RL, Bernfield M, Kohgo Y. Reduced expression of syndecan-1 in human hepatocellular carcinoma with high metastatic potential. *Int J Cancer* 1997;74:482-91.
175. Conejo JR, Kleeff J, Koliopanos A i sur. Syndecan-1 expression is up-regulated in pancreatic but not in other gastrointestinal cancers. *Int J Cancer* 2000;88:12-20.
176. Day RM, Hao X, Ilyas M, Daszak P, Talbot IC, Forbes A. Changes in the expression of syndecan-1 in the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Virchows Arch* 1999;434:121-5.
177. Zellweger T, Ninck C, Mirlacher M i sur. Tissue microarray analysis reveals prognostic significance of syndecan-1 expression in prostate cancer. *Prostate* 2003;55:20-9.
178. Shariat SF, Svatek RS, Kabbani W i sur. Prognostic value of syndecan-1 expression in patients treated with radical prostatectomy. *BJU Int* 2008;101:232-7.
179. Marynen P, Zhang J, Cassiman JJ, Van den Berghe H, David G. Partial primary structure of the 48- and 90-kilodalton core proteins of cell surface-associated heparan sulfate proteoglycans of lung fibroblasts. Prediction of an

- integral membrane domain and evidence for multiple distinct core proteins at the cell surface of human lung fibroblasts. *J Biol Chem* 1989;264:7017-24.
180. Chen E, Hermanson S, Ekker SC. Syndecan-2 is essential for angiogenic sprouting during zebrafish development. *Blood* 2004;103:1710-9.
181. Kramer KL, Barnette JE, Yost HJ. PKC γ regulates syndecan-2 inside-out signaling during xenopus left-right development. *Cell* 2002;111:981-90.
182. Ethell IM, Irie F, Kalo MS, Couchman JR, Pasquale EB, Yamaguchi Y. EphB/syndecan-2 signaling in dendritic spine morphogenesis. *Neuron* 2001;31:1001-13.
183. Essner JJ, Chen E, Ekker SC. Syndecan-2. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:152-6.
184. Ethell IM, Yamaguchi Y. Cell surface heparan sulfate proteoglycan syndecan-2 induces the maturation of dendritic spines in rat hippocampal neurons. *J Cell Biol* 1999;144:575-86.
185. Kramer KL, Yost HJ. Heparan sulfate core proteins in cell-cell signaling. *Annu Rev Genet* 2003;37:461-84.
186. Kylänpää L, Hagström J, Lepistö A i sur. Syndecan-1 and tenascin expression in cystic tumors of the pancreas. *JOP* 2009;10:378-82.
187. Juuti A, Nordling S, Lundin J, Louhimo J, Haglund C. Syndecan-1 expression--a novel prognostic marker in pancreatic cancer. *Oncology* 2005;68:97-106.
188. Sobin LH and Wittekind C (ur.). International Union Against Cancer (UICC): TNM Classification of Malignant Tumours, 5. izd. New York: Wiley Liss, 1997.
189. Dhodapkar MV, Abe E, Theus A i sur. Syndecan-1 is a multifunctional regulator of myeloma pathobiology: control of tumor cell survival, growth, and bone cell differentiation. *Blood* 1998; 91:2679–88.
190. Rapraeger A, Jalkanen M, Bernfield M. Cell surface proteoglycan associates with the cytoskeleton at the basolateral cell surface of mouse mammary epithelial cells. *J Cell Biol* 1986;103:2683–96.
191. Pulkkinen JO, Penttinen M, Jalkanen M, Klemi P, Grenman R. Syndecan-1: a new prognostic marker in laryngeal cancer. *Acta Otolaryngol* 1997;117:312–5.

192. Ackerts K, Verbeken E, Deneffe G, Vanderschuren B, Demedts M, David G. Heparan sulfate proteoglycan expression in human lung-cancer cells. *Int J Cancer* 1997;74:335–45.
193. Inki P, Joensuu H, Grenman R, Klemi P, Jalkanen M. Association between syndecan-1 expression and clinical outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Brit J Cancer* 1994;70:319–23.
194. Kumar-Singh S, Jacobs W, Dhaene K i sur. Syndecan-1 expression in malignant mesothelioma: correlation with cell differentiation, WT1 expression, and clinical outcome. *J Pathol* 1998;186:300–5.
195. Boutin EL, Sanderson RD, Bernfield M, Cunha GR. Epithelial-esenchymal interactions in uterus and vagina alter the expression of the cell surface proteoglycan, syndecan. *Dev Biol* 1991;148:63-74.
196. Kim Y, Park H, Lim Y i sur. Decreased syndecan-2 expression correlates with trichostatin-A-induced morphological changes and reduced tumorigenic activity in colon carcinoma cells. *Oncogene* 2003;22:826-30
197. Han I, Park H, Oh ES. New insights into syndecan-2 expression and tumourigenic activity in colon carcinoma cells. *J Mol Histol* 2004;35:319-26.
198. Choi S, Kim Y, Park H i sur. Syndecan-2 overexpression regulates adhesion and migration through cooperation with integrin alpha2. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 384:231-5.
199. Huang JW, Chen CL, Chuang NN. P120-GAP associated with syndecan-2 to function as an active switch signal for Src upon transformation with oncogenic ras. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;329:855–62.
200. Huang X, Xiao DW, Xu LY i sur. Prognostic significance of altered expression of SDC2 and CYR61 in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2009;21:1123–239.

11. ŽIVOTOPIS

Rođen sam u Zagrebu 04.10.1960. godine, gdje sam završio osnovnu i srednju školu. Diplomirao sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1985. godine. Nakon pripravničkog staža i položenog stručnog ispita radio sam kao liječnik opće medicine u Domu zdravlja Trnje.

Od 15.01.1990. godine. zaposlen sam u KBC „Sestre milosrdnice. Nakon položenog specijalističkog ispita iz Interne medicine 10.05.1994. godine radim u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Interne klinike u statusu specijaliste Interne medicine, a nakon položenog subspecijalističkog ispita 2003. godine kao subspecijalist gastroenterolog.

Završio sam Doktorski poslijediplomski studiji „Medicinske znanosti“ pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu od 2001-2003 godine.

Moje uže područje stručnog interesa su bolesti pankreasa i bilijarnog sustava, a u okviru toga posebno se bavim primjenom transabdominalnog ultrazvuka, endoskopskog ultrazvuka i ERCP-a u dijagnostici i terapiji spomenutih bolesti.

Već duži niz godina sudjelujem u organizaciji i provođenju tečajeva trajnog medicinskog usavršavanja liječnika te u radu kolegija znanstvenog poslijediplomskog studija iz biomedicine na Medicinskom fakultetu u Zagrebu.

Također sam sudjelovao u istraživačkom projektu Ministarstva znanosti: HBV X-protein – karcinogeneza i genska terapija.

Sudjelovao sam u radu više domaćih i međunarodnih kongresa, stručnih i znanstvenih skupova i seminara. Autor sam većeg broja stručnih i znanstvenih publikacija od kojih preko trideset u indeksiranim časopisima, devet u Current Contents (CC) te većeg broja nastavnih tekstova, edukativnih tekstova za bolesnike, te kongresnih sažetaka.

U više navrata bio sam član organizacijskih odbora hrvatskih znanstvenih kongresa i stručnih skupova te predavač na istima.

Član sam Hrvatskog liječničkog zbora, Hrvatskog gastroenterološkog društva i Hrvatskog društva za primjenu ultrazvuka u medicini i biologiji gdje sam obavljao dužnost tajnika, te Hrvatskog kluba za pankreas.

Također sam član Svjetske liječničke udruge „The world medical association“, europskog udruženja „European Pancreatic Club“ (EPC), te međunarodnog udruženja „International Association of Pancreatology“ (IAP).