

Pancreastumorok komplex kezelése

Doktori (PhD) –értekezés tézisei

Dr. Papp Róbert

Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel
Programvezető: Prof. Dr. Horváth Örs Péter
Témavezető: Dr. Kelemen Dezső



Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Klinika

Pécs

2011.

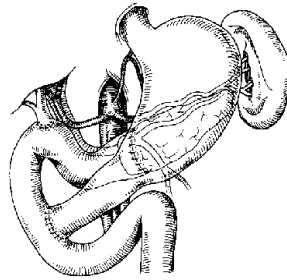
1. Bevezetés

A pancreastumorok gyakorisága növekvő tendenciát mutat. Az általuk okozott halálozás a 4.-5. helyen áll a daganatos mortalitások között. Ennek háttérében a tumor agresszív viselkedése és a szegényes klinikai kép okozta viszonylagos késői felismerés áll, emiatt a resecabilitás aránya is csupán 10 % körüli, de a radicalis műtéten átesett betegek 5 éves túlélése sem kedvező, kb. 20%. Mindazonáltal a beteg számára az egyetlen lehetőség a hosszú távú túlélésre a curativ resectio adjuváns chemoterapiával kiegészítve.

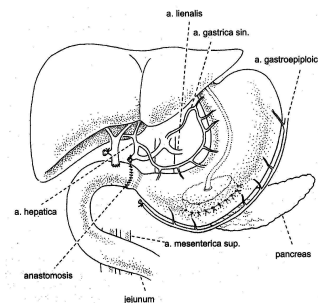
A pancreas daganatai között histológiailag leggyakoribb az exocrin állományból kiinduló ductalis adenocarcinoma, mely az esetek kb. 90 %-át jelenti. Jóval ritkábbak a cystosus tumorok, az acinaris tumor, valamint az endocrin daganatok.

Az adenocarcinoma leggyakrabban a pancreasfej területére localisálódik. A diagnostica a hasi ultrahang (UH) vizsgálattal kezdődik, a pontosabb megítélés, staging, operabilitás eldöntésében viszont a computer tomographiás (CT) vizsgálata a vezető szerep. Endoscopos retrograd cholangiopancreatographiás (ERCP) vizsgálatra és epeúti stentelésre is gyakran kerül sor, bár ennek javallata vita tárgya.

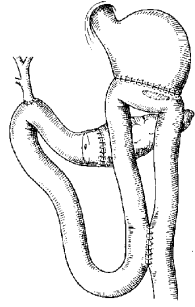
Proximalis elhelyezkedésű daganatoknál pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia (PPPD, Traverso-Longmire műtét), szükség esetén - ha a daganat a pylorust megközelíti - a gyomor antrumának eltávolításával történő hagyományos Whipple műtét a választandó módszer regionalis lymphadenectomiával (1-3. ábra).



1. ábra: Pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia pancreatojejunosztonomiával



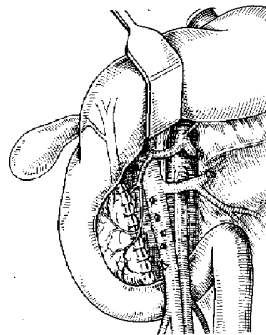
2. ábra: Pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia pancreatogasztonomiával



3. ábra: Hagyományos Whipple műtét

A pancreatodigestiv reconstructio készíthető a jejunummal vagy a gyomorral is. Egy meta-analysis szerint hasonló eredményt ad mindkét módszer és a sebész preferenciáján múlhat, hogy melyiket végzi. A biliodigestiv anastomosis (hepaticojejunostomia) minden esetben end-to-side módon jejunummal készül. A tápcsatorna folytonosságának helyreállítása (duodenojejunostomia PPPD során ill. gastrojejunostomia hagyományos Whipple-műtét esetén) számos variációban készülhet (csomós, tova futó, ill. antecolicus vagy retrocolicus gastro- illetve duodenojejunostomia).

Distalis daganatok esetében bal oldali resectio splenectomiával, lymphadenectomiával a követendő eljárás (4. ábra).



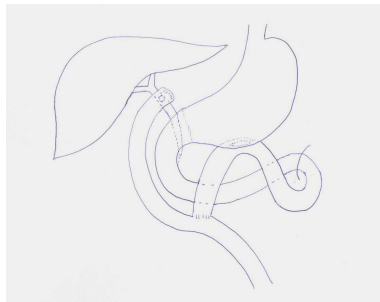
4. ábra: Distalis pancreas resectio splenectomiával

Total pancreatectomia akkor indicált, ha a tumor multicentricus. Újabban kezdi reneszánszát élni más esetekben is, mert így a pancreasfistula kockázata kiiktatható, ugyanakkor az apancreaticus állapot belgyógyászati kezelése sokat javult.

Bár az operatív mortalitás specializált centrumokban 5 % alá csökkent, a postoperatív morbiditási ráta 30-40% körüli, ami azt mutatja, hogy a pancreas resectiók számos kockázati tényezővel járhatnak. A leggyakoribb postoperatív complicatiók a meglassult gyomorürülés (19-23%), a postoperatív pancreasfistula (9-18%), az intraabdominalis tályog (9-10 %) és a gastrointestinalis vagy intraabdominalis vérzés (1-8%). Az International Study Group on Pancreatic Fistula Definition (ISGPF) 2005-ben alkotott definíciója értelmében bármely mérhető mennyiségű, a 3. postoperatív napon, vagy ezt követően a hasi drainen ürülő váladék fistulát jelez, ha annak amylase tartalma a normál serum amylase tartalom felső határának minimum háromszorosa. Az International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS) által 2007-ben megalkotott definíció értelmében elhúzódó a gyomorürülés (delayed gastric emptying, DGE), ha a nasogastricus szonda használata a műtét után 3 napnál tovább szükséges, vagy persistáló hányás miatt a szondát a

postoperatív 3. nap után ismételtelen le kell helyezni. Ugyancsak elhúzódó a gyomor ürülése, ha a beteg a szilárd táplálékfelvételt a 7. postoperatív napig nem tolerálja. Az elhúzódó gyomorürülés oka nem teljesen ismert, localis szövődményt, beidegzési vagy vérellátási zavart, következményes pylorus spasmust (pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia esetén) tételeznek fel. A funkciózavar általában spontán oldódik.

Ha a tumor localisan irresecabilis, akkor megkísérlendő az oncológiai kezelés (primer chemoradiotherapia), mely által bekövetkezhet olyan fokú regressio, hogy a daganat eltávolítható lesz. Inoperabilis a pancreastumor, ha távoli áttéteket (máj, tüdő), carcinosist okoz és/vagy ha localisan infiltrálja a visceralis arteriákat. A vena resectio ugyanakkor elterjedtté vált. Ugyancsak le kell mondani a radicalis műtétről, ha a beteg általános állapota nem engedi meg resectio végzését. Ha a várható élettartam kb. fél év, akkor maximálisan a nonoperatív módszerek kerülnek előtérbe, mint pl. icterus esetén epeúti stentelés, vagy ha ez már technikailag nem kivitelezhető, akkor percutan transhepaticus drainage (PTD). Ha a beteg jobb állapotban van, akkor sebészi kettős bypass (biliodigestiv anastomosis + GEA) ajánlott proximalis elhelyezkedésű tumoroknál (5. ábra).

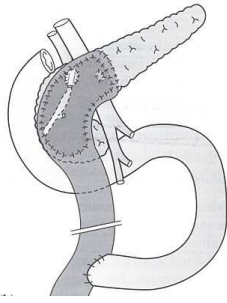


5. ábra: Palliatív kettős bypass

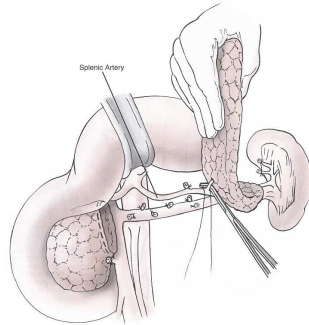
Bal oldali localisationál a daganat okozta elzáródás a duodenojejunalis átmenetnél várható, ezért GEA helyett duodenojejunostomia végzése célszerűbb.

A pancreasrák adjuváns oncológiai kezelésében jelenleg a gemcitabin (Gemzar) monoterápia az általánosan használt elsővonalbeli chemoterapiás szer, korábban 5-fluorouracilt (5-FU) alkalmaztak. Jó általános állapot esetén a két szer kombinálható, illetve kiegészíthető cisplattinnal. A localisan előrehaladott hasnyálmirigyrák oncológiai kezelésében szintén a gemcitabin monoterápia az elsővonalbeli chemoterapiás szer. A radiotherápia hasnyálmirigy-daganatok esetén a sebészi resectio utáni adjuváns kezelésben, illetve localisan előrehaladott daganatok esetében is használatos. Az adjuváns kezeléseket döntő többsége azonban ma csak chemoterapiás kezelés. Localisan előrehaladott daganat esetén a radio-chemoterápia nem biztosít hosszabb túlélést, mint az egyedüli chemoterápia, és magasabb a toxicitása.

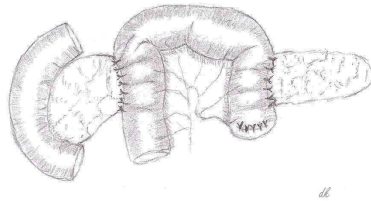
Míg a malignomáknál a radicalitás fontos (akár vena resectióval kiegészítve), addig a ritkábban előforduló benignus és alacsony malignitású folyamatoknál az ún. szervmegtartó műtétek terjedtek el (enucleatio, duodenum-megtartásos pancreasfejt resectio, lépemegtartásos distalis resectio, centralis pancreatectomia, papillectomia) (6-8. ábra).



6. ábra: Duodenum-megtartásos pancreasfej resectio



7. ábra: Lépmegtartásos distalis resectio



8. ábra: Centralis pancreatectomia

2. Célkitűzéseink

A Pécsi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján - 1998. januártól 2011. januárig - pancreas vagy periampullaris daganatok miatt végzett gyógyítómunka retrospectív elemzésével a következőkre keressük a választ:

1. Vannak-e olyan tünetek, amelyek prognosztizálhatják az operabilitást, ill. inoperabilitást?
2. Vizsgálni fogjuk az általunk kifejlesztett implantációs pancreatojejunostomiával elért eredményeket a teljes 13 éves periódusra vonatkozóan, összehasonlítva az egyéb technikákkal.
3. Vizsgálni szándékozunk az utóbbi időben a pancreatoduodenectomia során alkalmazott antecolicus duodeno- ill. gastrojejunostomia hatását a postoperatív gyomorürülésre, összehasonlítva a korábban végzett retrocolicus módszerrel.
4. A ritkább, alacsony malignitású daganatok kezelésében melyek a legcélravezetőbb műtéti technikák, vagyis a szervkímélő resectiókból profitál-e a beteg?
5. Az adjuváns kezelés mennyiben javítja a hosszú távú túlélést?

6. A neoadjuváns therapia milyen mértékben eredményezhet downstaging-et, ill. operabilissá válást?
7. Az irresecabilis esetekben mi a leginkább javasolható sebészi palliatio?
8. Egy a hasnyálmirigy-daganat korai diagnosisát lehetővé tevő, kevésbé invazív szűrőmódszer, aminek a kezelésben is szerepe lehet mindenképpen kívánatos lenne és óriási jelentőséggel bírna. A K-ras, vagy a micro-RNS-ek szolgálhatnak-e biomarkerként ?

3. Saját klinikai eredmények ismertetése

3.1. Betegek és módszerek

3.1.1. Resecabilis daganatok

1998. január és 2011. január között a Pécsi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján 251 radicalis műtét történt pancreas vagy periampullaris malignus tumor miatt. Az I. táblázat mutatja a 251 operabilis beteg praeoperativ adatait, melyek jellegzetesek.

I. Táblázat: Az operabilis esetek praeoperativ adatai

	férfi: 122	nő: 129	átlagos életkor: 60 év (9-80)
daganat kiindulási helye:			
		pancreasfej (choledochus)	175 (70%)
		test-farok	24 (10%)
		Vater papilla	44 (17%)
		duodenum	8 (3%)
klinikai tünetek:			
		icterus	158 (63%)
		fájdalom	139 (55%)
		fogyás	91 (36%)
		hányás	15 (6%)

A beavatkozások típusát a II. táblázat mutatja.

II. Táblázat: A curativ műtétek fajtái

műtéti típusok:		
	pylorus-megtartásos	
	pancreatoduodenectomia	186
	hagyományos Whipple műtét	31
	bal oldali resectio	26
	totalis pancreatectomia	8
a fentiek mellett elvégzett egyéb beavatkozások:		
	vena portae resectio	8
	metastasectomia hepatis	5
	colon resectio	2
	gyomor, ill. vékonybél resectio	1-1
	adrenalectomia	1
	nephrectomia	1

Leggyakrabban pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomiára került sor. Akkor választottuk a hagyományos Whipple műtétet, ha a pylorust megközelítette a daganat. Totalis pancreatectomiát végeztünk, ha a resectiós szélben daganat volt az ismételt excisiókat követően is. Malignus folyamatnál a regionalis lymphadenectomia is része volt a műtétnek, ill. distalis pancreas resectiónál splenectomiát is végeztünk.

Pancreatoduodenectomia során a maradék pancreast legtöbbször a jejunummal anastomosáltuk, összesen 183 esetben. Ebből 143 anastomosis egyrétegben, 40 pedig kétrétegben készült. A gyomorba ültetésre 34 betegnél került sor. 2003 óta end-to-side pancreatojejunalis anastomosist készítünk csomós, egyrétegű implantációs technikával (4/0-s polydioxanone (PDS), Ethicon, Skócia). A kétrétegű pancreatojejunostomia szintén 4/0-s PDS, míg a pancreatogastrostomia 3/0-s Ethibond (Ethicon, Skócia) felhasználásával készült csomós varrattal. A hasnyálmirigy parenchymája 43%-ban puha volt, ilyenkor a postoperatív szövödmények csökkentésére octreotidot (Sandostatin, Novartis Hungária Kft., Budapest) adtunk subcutan, 3x0,1 mg dózisban 5 napig.

A pancreatojejunostoma és a hepaticojejunostoma retrocolicusan felhúzott jejunummal készült. Ha az epeút a cholestasis miatt dilatált volt, akkor a biliodigestiv anastomosisokat egyrétegben, általában tova futó varrattal készítettük (4/0-s PDS), akárcsak a duodeno-, ill. a gastrojejunostomiát (3/0-s PDS). Az utóbbi varratokat 2008 óta nem retrocolicusan, hanem antecolicusan végezzük Braun anastomosissal kiegészítve, abból az elvi megfontolásból, hogy az afferens kacs pangásának kockázatát tovább csökkentjük. Ha az epeút nem volt dilatált, akkor a biliodigestiv anastomosis csomós varrattal készült.

Néhány esetben multivisceralis csonkolásra is sor került, így pl. öt betegnél eltávolítottuk a solitaer májajátétet. Nyolc betegnél a vena portae segmentalis vagy tangentialis resectióját is elvégeztük az ér daganatos infiltrációja miatt.

3.1.2. Centralis pancreatectomia

2002 és 2009 között a Pécsi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján 7 centralis pancreatectomia, vagy más néven középső segmentalis pancreas resectio (middle segmental pancreatic resection, MSPR) történt benignus és alacsony malignitású pancreas daganat (2 esetben insulinoma, 5 esetben gyanított cystosus, vagy endocrin tumor) miatt, mivel az a pancreasnyak-test területén helyezkedett el. A laesio átlag nagysága 30 mm (10-80) volt. Rutinszerű intraoperatív fagyasztásos szövettani vizsgálat történt a tumormentes resectiós szél igazolása céljából.

A distalis pancreas resectiós felszínnel Roux-kacs felhasználásával pancreatojejunalis anastomosis készült, melyet 2003 óta, 6 betegnél egyrétegű end-to-side implantációs technikával végeztünk (4/0 PDS). Az első operációnál még kétrétegű anastomosist varrtunk. A proximalis resectiós felszín egy esetben géppel került lezárásra. A többi 6 esetben, a Vater papilla felé szabadon szondázható Wirsung-vezeték külön zárása, majd a halszáj formára képzett metszlap széleinek kézi varrata történt (4/0 PDS). A proximalis varratsort az utolsó 4 esetben, a felhúzott Roux-kaccsal is fedtük.

3.1.3. Irresecabilis daganatok

Egy 10 éves periódus alatt, 1998. január és 2008. január között, a Pécsi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján 188 betegnél radicalis műtét nem volt végezhető, csak palliatív sebészi megoldás történt. Az incurabilitás ténye vagy a műtét alatt derült ki, vagy már a műtét előtt ismert volt (pl. távoli áttétek, localis érinvasio), de a nonoperatív biliaris drainage-t nem sikerült elvégezni, vagy a beteg viszonylag jó általános állapota miatt a palliatio sebészi módját gondoltuk célszerűbbnek.

Az irresecabilis daganatokkal kapcsolatos praeoperatív adatok a III. táblázaton láthatók. A leggyakrabban végzett palliatív beavatkozás a kettős bypass volt, az IV. táblázat mutatja a részleteket.

III. Táblázat: Az irresecabilis daganatokkal kapcsolatos praeoperatív adatok

	férfi: 109	nő:79	átlagos életkor: 63 év (28-84)
daganat kiindulási helye:			
		pancreasfej (choledochus)	138 (73,4%)
		test-farok	40 (21,3%)
		Vater papilla	8 (4,2%)
		duodenum	2 (1,1%)
klinikai tünetek:			
		icterus	113 (60%)
		fájdalom	104 (55%)
		fogyás	100 (53%)
		hányás	37 (19%)

IV. Táblázat: Palliatív beavatkozások típusai

	kettős bypass	131
	biliodigestív anastomosis	21
	duodenojejunosztomia	13
	GEA	11
	exploratio	12

Kettős bypass során biliodigestív anastomosisként hepatico (choledocho-) jejunostomiát készítettünk Roux-kacccsal és egyidejűleg retrocolicus hátsófali gastrojejunostomiát (GEA) a Treitz-szalag felőli jejunummal. Az általunk 1998 óta alkalmazott kettős bypass irodalmi közlése először 2002-ben történt Büchler és munkacsoportja által. Általában nem rendelkezünk pozitív szövettani lelettel, ezért a műtét során vettünk mintát a daganatból Travenol tüvel, lehetőség szerint transduodenalisan, hogy ne alakuljon ki pancreasfistula.

3.1.4 Oncológiai kezelés

Mind radicalis, mind palliatív műtét után sor került oncológiai konzíliumra annak eldöntésére, hogy történjen-e, ill. milyen módozatban oncológiai kezelés? Tekintettel arra, hogy az adott 13 év során változtak a lehetőségek, a daganatellenes kezelési módszerek szerteágazóak voltak, daganattípusonként is. Emellett a Baranya megyén kívül élő betegek chemoterápiája nagyrészt nem Pécsen történt, így róluk alig volt információ. Továbbá voltak betegek, akiknél elmaradt a chemoterapia vagy egy elhúzódó szövödmény miatt, vagy a beteg nem egyezett bele a kezelésbe, vagy azt az oncológus nem tartotta szükségesnek a szövettani lelet (R0 resectio) miatt, vagy nem látta kivitelezhetőnek a beteg állapota miatt. A túlélés számításakor sem

tudtunk mindenkiről adatot szerezni és ez is magyarázhatja a rendelkezésre álló kisebb betegszámot.

2000 előtt a betegek 5-fluorouracilt (5-FU) (425 mg/m² iv. 5 egymást követő napon 28 napos ciklusokban) kaptak adjuváns kezelésként, ezután pedig gemcitabint (1000 mg/m² iv. 3 vagy 5 hétig hetente, majd 1 hét szünet). Ha a beteg jó általános állapotban volt, akkor a gemcitabint kiegészítették 5-FU-val, és ha emellett recidíva lépett fel, akkor cisplattinnal. R0 resectio esetén sok esetben csak observatio történt.

Localisan előrehaladott tumoroknál, vagy palliatív céllal jelentős fájdalom, compressió tünetek mellett, ill. R1/R2 resectio esetén válogatott esetben radio-chemoterapia is szóba jött 1,8 Gy fractiókkal 45 Gy összesített dosisig. Ezalatt a beteg 500 mg/m² 5-FU-t kapott 5 hétig hetente. Metastasisok jelenlétekor palliatív chemoterapia történt.

A betegek nyomonkövetése klinikai állapotfelméréssel, rendszeres CT és laboratóriumi vizsgálattal történt.

3.2. Eredmények

3.2.1. Resecabilis daganatok sebészi és oncológiai kezelésének eredményei

A radicalis műtét alatt átlagban 2 E (0-26) vvt. massa transfusiójára volt szükség. Az intenzív osztályos ápolási napok száma átlagban 2 nap (0-29), a postoperatív ápolási napok száma pedig átlagosan 13 nap (6-55) volt.

A histológiai feldolgozás során túlnyomórészt adenocarcinoma igazolódott. A resectio R0 volt 232 esetben, 14 betegnél R1, ill. 5 esetben R2.

Radicalis műtét után 39%-ban alakult ki szövődmény, melyeket az V. táblázat ismertet a gyakorisági sorrend szerint.

V. Táblázat: Radicalis műtéteket követő szövődmények (98 eset)

pancreasfistula	22
sebfertőzés	21
lassult gyomorürülés	18
intraabdominalis abscessus	7
epefistula	6
légzési elégtelenség	5
nyirokcsorgás	4
GI vérzés, intraabdominalis vérzés	3-3
cardialis elégtelenség, veseelégtelenség,	
májtyúg, hasfali disruptio	2-2
vékonybél perforatio	1

Legtöbbször pancreasfistula fordult elő, mely szövődményt részletesebben taglaljuk a VI. táblázatban.

Táblázat: Pancreasfistula előfordulása 22 esetben (8,7%)

34 pancreatogastrostomiánál 6 fistula (17%), 3 reoperatio, 2 exit
143 egyrétegű (implantációs) pancreatojejunostomiánál 9 fistula (6,2%), conservativ th.
40 kétrétegű pancreatojejunostomiánál 5 fistula (12,5%), conservativ th
26 distalis resectiónál 2 fistula (7,7%), conservativ th.

Az eredmények kiértékelése során statisztikai számításokat végeztünk.

A Fisher-féle exact teszt alkalmazásával egyrétegű pancreatojejunostomia esetén significansan kevesebb fistula alakult ki a pancreatogastrostomiához képest ($p=0,044$). Az egyrétegű pancreatojejunostomiánál talált 6,2 %-os fistula gyakoriság és a kétrétegű pancreatojejunostomiánál talált 12,5 %-os fistula gyakoriság között significans eltérés nem volt kimutatható, de a százalékos arány figyelemfelkeltő.

Pancreasfistula esetén a conservativ kezelése – megfelelő drainage, somatostatin analóg octreotid adása - minden esetben gyógyuláshoz vezetett, reoperációra nem volt szükség. A pancreatogastrostomia elégtelensége lényegesen súlyosabb klinikai tünetekkel, olykor septicus állapottal járt. Az esetek felében reoperatio volt szükséges, a betegek harmada meghalt. Az ismételt műtétnél az anastomosis lebontása, a maradék pancreascsonk eltávolítása történt.

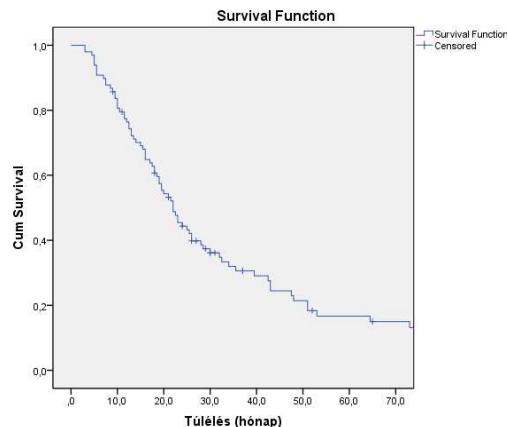
A 225 pancreatoduodenectomiát követően 18 betegnél alakult ki elhúzódo gyomorürülés, ami 8,0 %-os gyakoriságot jelent. 2008 előtt a 156 radicalis műtétet követően 16 esetben alakult ki ezen szövődmény (10,2 %), míg 2008 után a 69 radicalis resectiót követően csak két esetben jelentkezett DGE (2,9 %). Ennél a két betegnél már antecolicusan történt a duodeno-, ill. gastrojejunalis anastomosis készítése. Chi-négyzet próbával a meglassult gyomorürülés significans mértékben ritkábban fordult elő antecolicus reconstructio esetén ($p=0,079$, alfa (döntési szint)= 0,1) összehasonlítva a retrocolicus reconstructióval.

Reoperációra 5,9%-ban került sor. A 15 eset közül 3-3 betegnél a pancreatogastrostomia elégtelensége, ill. intraabdominalis vérzés miatt, 2-2 esetben hasi tályog, hasfali disruptio, májtályog, valamint biliodigestiv anastomosis elégtelenség volt az ok, míg 1 betegnél vékonybél perforatio miatt történt ismételt műtét. A korai postoperativ mortalitás 3,9% (10 eset) volt, 6 betegnél cardiopulmonalis elégtelenség, 1 betegnél veseelégtelenség, 3-nál pedig sebészi ok miatt.

A 251 radicalis műtéten átesett beteg közül 3 esetben, 1-1 totalis pancreatoduodenectomia, Whipple műtét, ill. pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia kapcsán ritka szövődmény, az arteria hepatica communis pseudoaneurysmából eredő és a hepaticojejunalis anastomosisba törő vérzés kialakulását tapasztaltuk 2-3 hónappal a resectió műtét után. Az endoscopia egy esetben sem fedte fel a vérzés forrását. Két betegnél történt angiographia, mely mindkét esetben diagnosishoz vezetett. Angiographiás interventio egy esetben volt elvégezhető, de nem hozott eredményt. Mindhárom betegnél műtét történt, mely során a pseudoaneurysma eltávolítása, valamint az arteria hepatica communis direct varrata történt 5/0-s polypropylene (Prolene, Ethicon, Skócia) segítségével. A biliodigestiv anastomosis mindhárom esetben reconstructióra szorult. Újrávérzés, ill. biliaris fistula egy esetben sem alakult ki. Egy beteg halt meg sepsishez társuló többszervi elégtelenség következtében, a másik két beteg hazabocsátható lett.

Az adjuváns oncológiai kezelésre többnyire a Pécsi Tudományegyetem Onkoterápiás Intézetében került sor. A pancreas adenocarcinoma adjuváns Gemzar-5-FU kezelésének eredményeiről 52 beteg kapcsán tudunk beszámolni. A betegségmentes túlélés átlagban 18,6 hónap, medián 17 hónap volt. Az össz túlélés (az utolsó megjelenésig vagy a halálig) ideje átlagban 26,5 hónap, median 24 hónap volt.

Az operabilis daganatok között leggyakrabban a pancreas adenocarcinoma fordult elő (176 beteg), és mint említettük, az adjuváns kezelés módoszata szerteágazó volt, sokszor a beteg lakhelye szerint más oncológiai osztályon került rá sor, illetve időnként el is maradt. A 13 év adatai alapján túlélést 98 pancreas adenocarcinoma miatt curatív műtéten átesett betegnél tudtunk számolni, ez átlagban 35,1 hónap, median 22 hónap, az 5 éves kumulatív túlélés pedig 15% volt. Ez utóbbi alakulását a Kaplan-Meier görbe mutatja az 9. ábrán.



9. ábra: Kaplan-Meier túlélési görbe

3.2.2. Centralis pancreatectomia eredményei

Centralis pancreatectomia során az intraoperatív transfúziós szükséglet átlag 1 E (0-2), a postoperatív kórházi tartózkodási idő átlag 15 nap (7-51), az intenzív osztályos kezelési idő átlagban 2 nap (0-8) volt.

A histológiai eredményeket a VII. táblázat mutatja.

VII. Táblázat: Histológiai eredmények

insulinoma	2
benignus cystadenoma	3
solid pseudopapillaris tumor	1
alacsony malignitású endocrin neoplasia	1

A 7 esetből háromnál lépett fel szövődmény (37%). Egy betegnél pneumonia, egynél centralis vena kanül behelyezése után pneumothorax, ill. egynél pancreas fistula miatt peripancreaticus tályog alakult ki. Ez utóbbi sebészi szövődmény (12 %) miatt percutan drainage történt. Reoperatio, ill. halálos kimenetel nem fordul elő. Az átlag utánkövetési idő 28 hónap (1-84) volt, mely során mind az endocrin, mind az exocrin hasnyálmirigy functio normális maradt. Minden beteg elégedett volt a postoperatív eredménnyel, tumor recidíva nem alakult ki.

3.2.3. Irresecabilis daganatok sebészi és oncológiai kezelésének eredményei

A klinikai tünetek tekintetében elmondható, hogy chi-négyzet próbával a fogyás és a hányás significansan gyakrabban fordult elő az irresecabilis betegek között ($p < 0,001$).

Az inoperabilis esetek után szövődmény 36 betegnél fordult elő, ez 19,1%. A szövődmények megoszlása azonos volt a kettős bypass és a csak epe vagy duodenum passage-t biztosító egyéb palliatív műtétek esetén.

A reoperatio aránya 1,6%, ez 3 esetet jelent, 1-1 gastrointestinalis vérzés, hasi tályog, ill. duodenum perforatio állt a háttérben. Korai postoperatív halálozás 13 betegnél történt, ami 6,9%, 11 cardiopulmonalis elégtelenség és 2 sebészi ok miatt. Az intraoperatív transfúziós igény alacsony volt, átlagban 1 E (0-8). A postoperatív ápolási napok száma átlagosan 9 nap (1-34) volt.

34 localisan előrehaladott tumoros beteg chemoterapiája mono-Gemzar vagy Gemzar-5FU séma szerint történt, szimultán radiotherapiával kiegészítve. A kezelési eredmények a következők: a progressióig eltelt átlag idő 8 hónap, median 7 hónap volt, míg az össz túlélés átlagban 12 hónapnak, median 10 hónapnak bizonyult. Resecabilissá egyik daganat sem vált, kivéve az alábbi esetet. Ekkor egy localisan inoperabilis pancreasfeji laphámrák miatt systemás chemoterapia (mitomycin, epirubicin, carboplatin), illetve ugyanezen szerekkel selectiv chemoterapia történt a truncus coeliacuson keresztül. Ezután radiotherapia kezdődött 40 Gy összesített dosisig 1,6 Gy frakciókban, majd gemcitabin monoterapiát kezdtek. A neoadjuváns kezelést követő hasi CT alapján regressio volt valószínűsíthető, ezért 14 hónappal a diagnosis felállítása után a Pécsi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján reexploratio és pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomia történt. A postoperatív szak eseménytelenül zajlott. A szövettani feldolgozás teljes tumor regressiót, chronicus pancreatitist, reaktív nyirokcsomókat véleményezett.

3.3. Következtetés

3.3.1. Resecabilis daganatok sebészi és oncológiai kezelésének következtetései

Saját anyagunkban leggyakrabban a pancreasfejben foglalt helyet a tumor icterust és fájdalmat okozva, histológiailag pedig adenocarcinoma volt és főként pylorus-megtartásos pancreatoduodenectomiát végeztünk.

Anyagunkban a radicalis beavatkozás utáni korai postoperatív mortalitás 3,9% volt, a morbiditás pedig 39%, ami megfelel a pancreas centrumokkal szemben támasztott követelményeknek.

A 13 év során számos tapasztalattal gazdagodtunk. Így pl. proximalis resectiónál egyre inkább áttértünk a reconstructio során a pancreatogastrostomiáról a pancreatojejunalis anastomosis készítésére, 2003 óta pedig annak egyrétegű módosítására. Ezzel jobb eredményeket értünk el, a pancreasfistula aránya significans mértékben lecsökkent 6,2%-ra.

A regionalis lymphadenectomia rutinszerűvé vált és adott esetben multivisceralis műtetet hajtottunk végre. Vascularis resectio inkább csak a vena portae tumoros infiltrációja esetében jön szóba szelektált esetben, ha ezzel R0 resectiót tudunk elérni.

Az ajánlások szerint újabban a duodeno-, ill. gastrojejunalis anastomosisok nem retrocolicusan, hanem antecolicusan készülnek, amit magunk Braun

anastomosissal is kiegészítünk annak érdekében, hogy az afferens kacs pangásának kockázatát tovább csökkentsük. Eredményeink alapján az antecolicus reconstructio mellett significansan ritkábban fordult elő meglassult gyomorürülés a retrocolicus reconstructióhoz képest. Az ante – és retrocolicus reconstructio meglassult gyomorürülésre gyakorolt hatását összehasonlító tanulmány eddig még nem került közlésre a hazai szakirodalomban.

A három biliodigestiv anastomosisba törő, arteria hepatica communis pseudoaneurysmából eredő, masszív gastrointestinalis vérzés kapcsán megállapíthattuk, hogy a vérzés forrásának felderítésében a CT angiographia bizonyult a leghasznosabb eszköznek. A sebészi kezelés mindhárom esetben szükséges volt, a direct érvarrat és a biliodigestiv anastomosis reconstructiója sikeres volt. Súlyos késői gastrointestinalis vérzés esetén e ritka szövődmény előfordulására is gondolni kell.

A curativ műtétet általában oncológiai kezelés és gondozás követte. Az évek során a pancreascarcinoma adjuváns therapiájában az 5-FU mellett újabb szerek is megjelentek, mint pl. a gemcitabin és a cisplatin. A „Betegek és módszerek” fejezetben ismertetett számos tényező miatt a leggyakoribb daganattípus, a pancreas adenocarcinoma esetében is csak kis betegcsoport chemotherapiás kezeléséről tudunk beszámolni. Érdekes, hogy a curativ resectióban, majd adjuváns kezelésben részesült 52 beteg átlag túlélése (26,5 hónap) rövidebb, mint annak a 98 curativ műtétben részesült betegnek az átlag túlélése (35,1 hónap), akik csoportja az előbb említett 52 betegon kívül tartalmaz még 46 olyan beteget, akiknél csak a túlélést tudtuk kideríteni, de azt nem, hogy kaptak-e oncológiai kezelést. Median túlélés tekintetében az 52 betegnél tapasztalt 24 hónap valamelyest kedvezőbb a 98 betegnél tapasztalt 22 hónaphoz képest. Ezek, valamint az 5 éves túlélési eredményeink hasonlóak az irodalomban találtakéhoz. Az irodalmi megfigyelésekkel egyet lehet érteni, vagyis a hosszú távú eredmények javulása hathatósabb adjuváns kezeléstől remélhető.

3.3.2. Centralis pancreatectomia eredményeiből levonható következtetések

A parenchyma kímélő segmentalis pancreas resectio megfelelő indicatio és sebészi technika mellett elfogadható morbiditási aránnyal végezhető. A pancreas középső részének benignus és alacsony malignitású daganatai jelentik a fő indicatiót, ahol a limitált resectio nem veszélyezteti az oncológiai radicalitást. Elkerülhető az egészséges szövetek (duodenum, distalis choledochus, pancreas fej és farok, lép) felesleges feláldozása, a mirigy endocrin és exocrin funkciója nem károsodik.

Az általunk preferált technika centralis pancreas resectio esetén Roux-kaccsal készített distalis implantatiós pancreatojejunostomia, majd proximalisan a Wirsung-vezeték külön elvarrása után a proximalis resectiós felszín kézi varrata és a felszín serosa borítása a felhúzott Roux-kaccsal.

3.3.3. Irresecabilis daganatok sebészi és oncológiai kezelésének következtetései

A fogyás és a hányás significansan gyakrabban fordult elő az irresecabilis betegek között. Az irresecabilis esetekben döntő többségben kettős bypasst készítettünk.

Localisan előrehaladott tumorok neoadjuváns kezelését követően - a leírt pancreas laphámcarcinoma esetét leszámítva - sajnos nem tapasztaltunk olyan mértékű regressiót, hogy a daganat operabilissá vált volna. Távoli áttétek esetén, szelektált esetben indicált lehet a palliatív chemotherapia.

Előrehaladott tumornál, ha a várható élettartam kb. fél év, ill. rossz általános állapotban maximálisan a nonoperatív módszerek kerülnek előtérbe, mint pl. icterus esetén epeúti stentelés, vagy ha ez már technikailag nem kivitelezhető, akkor percutan transhepaticus drainage (PTD). Igyekszünk az életminőséget a lehetőségek szerint javítani, melyben döntő fontosságú a megfelelő fájdalomcsillapítás.

4. K-ras mutációk hasnyálmirigy–daganatos betegek daganatszövet- és perifériás vérmintáiban.

4.1. Bevezetés

Egy a hasnyálmirigy-daganat korai diagnosisát lehetővé tevő kevésbé invazív szűrőmódszer, mint például a perifériás vér- vagy székletminta vizsgálata, mindenképpen kívánatos lenne és óriási jelentőséggel bírna.

A 12. chromosoma p13 locusán elhelyezkedő K-ras gén proto-oncogen, mely a leggyakrabban mutálódott gén hasnyálmirigy-rák esetén. A K-ras proto-oncogen egy 21 kDa tömegű, sejtmembránhoz kötött guanin nucleotid kötő, guanosine triphosphatase (GTPáz) fehérjét kódol. Mutatio esetén ezen enzim állandóan GTP-t köt. A Ras fehérjék feladata az extracellularis növekedést serkentő jelzések továbbítása az osztódást és sejt differentiatiót biztosító intracellularis jelösvények felé. E fehérjék állandó aktivitása szabályozatlan sejtosztódást eredményez, fontos szereppel bír a carcinogenesisben. A K-ras mutatio előfordulása kapcsolatot mutat a dohányzással, táplálkozási szokásokkal, alkoholfogyasztással, bizonyos kémiai anyagok expositiójával, a chronicus pancreatitis jelenlétével. Több vizsgálat sikeresen mutatta ki a K-ras gén mutációját a hasnyálmirigy-daganatos betegek vérének plasmájában és serumában, de voltak negatív eredményű vizsgálatok is. A vizsgálatok nem bizonyították egyértelműen, hogy a keringő DNS-ből kimutatható K-ras mutációk a hasnyálmirigy-daganat felhasználható biológiai markerei lennének.

4.2. Betegek és módszer

A PTE Sebészeti Klinikán 2002 és 2005 között operált 28 hasnyálmirigy-daganatos beteg (17 férfi és 11 nőbeteg, életkor 37-76 év, átlagéletkor 57,71 év) K-ras mutációjának vizsgálata történt a PTE Orvosi Népegészségtani Intézetének közreműködésével.

A résztvevők az életkörülményekre, lakóhelyre, fizikai aktivitásra, rendszeres orvosi felülvizsgálatra, valamint a hasnyálmirigy-daganat ismert kockázati tényezőire (dohányzás, étkezési szokások) vonatkozó kérdőívet töltöttek ki önállóan, kérdező jelenléte nélkül.

Közvetlenül a műtét előtt vett vérből és a műtét alatt kivett daganatszövet-mintából DNS és cellularis RNS izolálás történt. A K-ras mutációk jelenlétét a gén 12-es, 13-as és 61-es codonjában mutáns allél-specificus PCR (polymerase chain reaction, polymerase láncreakció) segítségével, a K-ras gén 12-es, 13-as és 61-es codonjának expressióját kvantitatív real-time PCR (RT-PCR) segítségével vizsgáltuk. Összesen 8 minta volt hozzáférhető RT-PCR vizsgálatra. A különböző kockázati tényezők, a K-ras mutációk jelenléte és a K-ras gén expressiók közötti esetleges összefüggéseket logisticus regressióval vizsgáltuk.

4.3. Eredmények

4.3.1. Kockázati tényezők

Kockázati tényezők tekintetében elmondhatjuk, hogy a vizsgált 28 beteg közül - az önállóan kitöltött kérdőív alapján - 16 él megítélése szerint szennyezett környezetben, 17 közép- vagy felsőfokú végzettséggel rendelkezik, 17 jár rendszeres orvosi kontrollra, 13 folytat rendszeres fizikai aktivitást, 12 rendszeresen dohányzik, 13 passzív dohányos, 10 beteg fogyaszt rendszeresen alkoholt, 12 fogyaszt rendszeresen kávé, 4 fogyaszt naponta forró-fűszeres ételeket, 16 használ rendszeresen állati zsiradékot.

4.3.2. Mutáns allél specificus PCR

Mutáns allél-specificus polymerase láncreakcióval a 28 hasnyálmirigy daganatos beteg közül 20 daganat mintában (71,5 %), és 21 vérmintában (75%) találtunk K-ras mutációt.

A 20 mutációt hordozó daganatos szövetminta közül 15 minta 61-es codon mutációt hordozott. A hozzájuk tartozó vérminták közül csak 13-ban volt jelen a K-ras mutatio. K-ras 61-es codon mutatio az összes vérminta közül 2-ben volt jelen anélkül, hogy a mutatio a daganatban is jelen lett volna.

A daganatos szövetminták közül 9-ben 12-es codon mutatio igazolódott. A hozzájuk tartozó vérminták közül 7-ben volt jelen a K-ras 12-es codon mutatio. K-ras 12-es codon mutatio az összes vérminta közül 3-ban volt jelen anélkül, hogy a mutatio a daganatban is jelen lett volna.

K-ras 13-as codon mutációt egyik daganat és vérmintában sem találtunk.

Három daganat és vérminta mind 61-es, mind 12-es codon mutációt is hordozott.

4.3.3. Quantitativ RT-PCR

Quantitativ real-time PCR segítségével a vizsgált 8 hasnyálmirigy-daganatos szövetminta közül 2 mutatott K-ras gén overexpressiót. Az egyikben K-ras 61-es codon, a másikban K-ras 12-es codon mutációt találtunk.

A vizsgált 8 perifériás vérminta közül szintén 2 mutatott K-ras gén overexpressiót. Az egyikben K-ras 12-es codon, a másikban K-ras 12-es codon és 61-es codon mutatio egyaránt jelen volt.

4.3.4. Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzés során, a nem szennyezett környezetben élők esetében significansan kevesebb volt a K-ras gén mutatio a gén bármely codonjában (OR=0.15, CI: 0.03-0.77).

A K-ras 61-es codon mutatio valószínűségét az alkoholfogyasztás significansan növelte (OR=28.38, CI: 1.04-772.55), viszont a húsfogyasztás protektív tényezőnek bizonyult a K-ras 61-es codon mutációjának tekintetében (OR=0.01, CI: 0.0002-0.99).

A K-ras 12-es codon mutatio significansan ritkábban fordult elő a kevesebb kávé fogyasztó betegek között (OR=0.1, CI: 0.01-0.97).

A K-ras gén mutációk jelenléte és a K-ras gén expressiójának mértéke között nem találtunk significans összefüggést.

4.4. Következtetés

Az általunk vizsgált beteganyagban significans kapcsolatot találtunk a saját megítélés szerint szennyezett környezet és a K-ras mutációk bármely vizsgált codonban való jelenléte, a rendszeres alkoholfogyasztás és a K-ras 61-es codon mutációk jelenléte, valamint a rendszeres kávéfogyasztás és a K-ras 12-es codon mutációk jelenléte között. Ezek az eredmények összhangban állnak az irodalomban eddig közöltekkel.

A nagy mennyiségű hús- és zsiradék-fogyasztás emeli a hasnyálmirigy-daganat kialakulásának kockázatát. Vizsgálatunkban ugyanakkor a rendszeres hús-fogyasztás protektív tényezőnek bizonyult a K-ras 61-es codon mutációjának tekintetében. Ez azzal lehet magyarázható, hogy a húsok készítése és tartósítása (grillezés, füstölés, sütés) során keletkező N-nitroso vegyületek, hasonlóan a cigarettafüstben találhatóhoz, elsősorban a 12-es codonban okoznak mutációkat.

A vizsgált minták 71,4 %-ában az egy beteghez tartozó daganatszövet- és perifériás vérminta K-ras mutációs profilja megegyezett.

A real-time PCR analízis során vizsgált K-ras gén expressio tekintetében az alacsony mintaszám miatt következtetés nem vonható le, de meg kell jegyeznünk, hogy a K-ras gén mutáció jelenléte és a K-ras gén expressiója között nem volt significans összefüggés.

Megállapíthatjuk, hogy a hasnyálmirigy-daganatos betegek daganatszövet-mintáiban megtalálható K-ras mutációk gyakran kimutathatók a hasnyálmirigy-daganatos betegek perifériás vérmintáiban is, azonban mindenképpen további vizsgálatok szükségesek ezen jelenség klinikai jelentőségének, serum biomarkerként történő alkalmazhatóságának megállapításához.

5. Micro-RNS vizsgálat hasnyálmirigy–daganatos betegek daganatszövet-mintáiban.

5.1. Bevezetés

A kettős szálú DNS-ről a sejtmagban történő információ átírás (transcriptio) után, az egyszálú messenger RNS-re kerülő információt még a ribosomán történő fehérje-synthesis (translatio) előtt lehetőség van blokkolni. Ez a folyamat a messenger RNS-en keresztül ható posttranscriptiós génelcsendesítés (gene silencing). Ennek egyik formája az RNS interferencia, mely során rövid RNS-molekulák (micro-RNS, miRNS) gátolják a messenger RNS-ek működését. Az RNS interferencia (RNSi) felfedezéséért Andrew Z. Fire és Craig C. Mello amerikai kutatók megosztva Nobel-díjat kaptak 2006-ban. Felfedezésüket 1998-ban publikálták.

A micro-RNS által regulált géneket tekintve a micro-RNS-ek funkcionálhatnak oncogennekként (onkomir) és tumorsuppressor génekként is. A micro-RNS-ek nemcsak a daganatok kialakulásban, de a betegség progressiójában és a metastasis képződésben is szerepet játszanak. 2008 óta ismert, hogy micro-RNS-ek testnedvekben is detektálhatók. Ha sikerülne a micro-RNS-eket noninvasiv tumorbiomarkerként alkalmazni tünetmentes korai daganatok esetén, jelentősen javulhatna a betegek

életkilátása. A micro-RNS expressio befolyásolásával, ezáltal a daganat phenotípusának megváltoztatásával új molecularis biológiai lehetőség kínálkozik a daganatok kezelésében. Miután a K-ras a leggyakrabban mutálódott gén pancreas adenocarcinoma esetén (a pancreasrák kialakulásának több mint 90%-ában érintett), a K-ras micro-RNS által történő regulálása a pancreasrák szempontjából igen fontos kérdés.

Az Egyesült Államokban jelenleg a College of American Pathologists ajánlásai és útmutatója alapján az Asuragen Clinical Services Laboratory közreműködésével létezik egy micro-RNS diagnosticus panel, a miRInform ®Pancreas, ami a miR-196a és miR-217 expressió arány alapján – összehasonlítva a chronicus pancreatitisre és a normál pancreasra jellemző micro-RNS expressió aránnyal - megbízhatóan azonosítja a ductalis pancreas adenocarcinómát. A micro-RNS expressiót a hasnyálmirigyszövetből vett minta feldolgozása után kvantitatív real-time PCR segítségével vizsgálják.

5.2. Betegek és módszer

A Pécsi Tudományegyetem Orvosi Népegészségtani Intézetének segítségével pancreasrákos betegekből vett daganatszövet-minták micro-RNS vizsgálata történt kvantitatív real-time PCR segítségével. A cél a hasnyálmirigy-daganat miatt curatív műtéten átesett és K-ras 61-es codon mutációt hordozó betegek (8 beteg) micro-RNS expressió mintázatának meghatározása volt (10 micro-RNS expressióját vizsgáltuk). Kontroll szövetként normál pancreasból vettünk mintát. Micro-RNS izolálást, majd revers transcriptiót követően a 8 pancreas carcinomából és az egy normál szövetből nyert complementer DNS kvantitatív RT-PCR vizsgálatát végeztük. A PCR termékeket DNS-kötő fluorofor festék alkalmazásával mutattuk ki. A fluoreszcencia intenzitása jelezte a kialakult PCR termék mennyiségét. Az intenzitás eredményekből a LightCycler 480 software segítségével - a programban szereplő standard koncentrációs görbére vonatkoztatva- nyertük az expressió eredményeket, majd az U6 snRNS (small nuclear RNS, mely daganatos és normál szövetben is expressálódik és a messenger RNS magi érésében szerepet játszó komplex része) expressio arányában számoltuk ki és ábrázoltuk. Statisztikai értékelést a minták alacsony számára való tekintettel nem végeztünk.

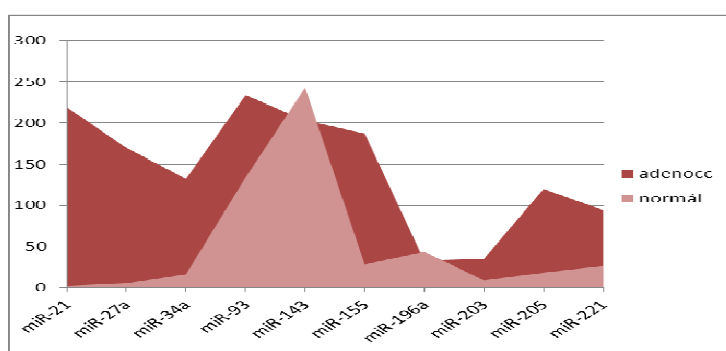
5.3. Eredmények

A pancreas adenocarcinomák micro-RNS expressiója a vizsgált 10 micro-RNS mindegyikében markáns eltérést mutatott a normál pancreaszövethez képest (10.ábra).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
miR21	104	500	500	500	167	34	162	3,42	2,24
miR27a	31,2	500	298	500	61,2	93	43	1,54	1,2
miR34a	92,3	137	385	135	73,4	110	202	39,2	16,4
miR93	500	138	366	500	53,5	127	191	95,5	134
miR143	60	121	500	500	97,1	96,3	196	16	243
miR155	136	194	125	204	93	249	500	156	28,2
miR196a	0,65	215	7,07	24,2	0,4	0,9	2,4	0,4	43,6
miR203	8,26	149	19,7	72,9	8,57	14,9	19,8	13,2	9,2
miR205	32	92,7	232	498	36,8	53,4	69,5	47,5	18,4
miR221	45,6	106	50,8	365	27,5	60,7	95	71,6	26,5

10. ábra: A 8 pancreas adenocarcinomára, ill. az egy normál pancreasra (9-es minta) jellemző micro-RNS expressiós értékek az U6 snRNS expressióhoz, mint egységhez viszonyítva

A 11. ábra a daganatos micro-RNS expressiók abszolút értékeinek átlagait hasonlítja össze a normál szövet micro-RNS expressiójával.



11. ábra: Micro-RNS expressio adenocarcinoma és normál pancreas esetén

Az ábra alapján a tumoros és normál szövetek közti micro-RNS expressiós eltérés a miR-21, a miR-27a, a miR34a, a miR-155, a miR-205 és a miR-221 esetében ábrázolódik kifejezetten.

5.4. Következtetés

Eredményeink alapján a vizsgált 8 pancreas adenocarcinoma a kontroll szövetétől demonstratívan elkülöníthető micro-RNS expressiós eltérést mutatott. Számos az általunk használt (és általunk tervezett) micro-RNS panelen szereplő micro-RNS-ről ismert pancreas carcinoma molecularis differential-diagnosticájában alkalmazható szerepe. Ilyenek a miR-221, a miR-155, a miR-21, a miR-143, és a miR-93, melyek a Mark Bloomston és munkatársai által végzett pancreas adenocarcinoma, chronicus pancreatitis és normál pancreas szöveti micro-RNS expressiót detektáló vizsgálata során a pancreas adenocarcinómában a pancreatitishez képest specifikusan és jelentősen fokozott expressiót mutattak.

Vizsgálatunk alapján a miR-21, a miR-27a, a miR-34a, a miR-155, a miR-205 és a miR-221 bizonyult a tumoros szöveteket a normál szövetből legmarkánsabban elkülönítő micro-RNS-nek. Az adenocarcinomás minták közül csak egy esetben észleltünk fokozott miR-196a expressiót, mely micro-RNS-t a miRInform ®Pancreas diagnosticus panelen az Asuragen Klinikai laboratóriumban feldolgozott pancreas

tumorok esetében rutinszerűen detektálnak. A panel másik fix elemét a miR-217-et ugyan nem vizsgáltuk, de egy hasonló, vele ugyanazon micro-RNS clusterbe tartozó micro-RNS, a miR-27a a vizsgálataink során a pancreas adenocarcinomákban jelentős mértékű expressio emelkedést mutatott. Vizsgálatunk figyelemfelkeltő jelentőségű abból a szempontból, hogy ilyen kisszámú mintán végzett vizsgálat eredménye is jól szemlélteti a molecularis különbségeket malignus és normál szöveti entitás között.

Az itt bemutatott micro-RNS panelen vizsgálataink további folytatását tervezzük daganatos, illetve normál pancreaszövetből és chronicus pancreatitisből származó szövetmintákra is kiterjesztve a statisztikai significantia eléréséhez és klinikai körlefolyással együtt történő értelmezéséhez. Ismereteink szerint pancreas adenocarcinoma vonatkozásában ez az első micro-RNS expressió vizsgálat Magyarországon.

6. Összefoglalás, új megállapítások:

1. Az általunk kifejlesztett implantatión, egyrétegű pancreatojejunalis anastomosis mellett a pancreasfistula aránya significans mértékben lecsökkent a pancreatogastrostomiához képest, de a kétrétegű pancreatojejunostomiánál is jobbnak bizonyult.
2. A maradék pancreasnak a táplálék útjából kirekesztett jejunumkacsba történő szájaztatása esetén, ha pancreasfistula alakult ki, akkor annak conservativ kezelése minden esetben sikeres volt.
3. Pancretaoduodenectomia során készített és általunk Braun anastomosissal kiegészített antecolicus duodeno-, ill. gastrojejunalis anastomosisoknál significansan ritkábban fordult elő meglasztott gyomorürülés a retrocolicus reconstructióhoz képest. Az ante – és retrocolicus reconstructio gyomorürülésre gyakorolt hatását vizsgáló tanulmány eddig még nem került közlésre a hazai szakirodalomban.
4. Az eredményeinket hűen tükröző, radicalis műtétet követő 15%-os 5 éves túlélés (mely a curativ resectio mellett az adjuváns kezelésnek is köszönhető), valamint az elért korai morbiditási és mortalitási ráta jónak mondható és megfelel más pancreas centrumok által közölt irodalmi adatoknak.
5. Az adjuváns kezelés tekintetében is hasonlóak a túlélési eredményeink a többi központéhoz. Bár a szakirodalomban korábban tapasztalt deprimáló adatok után ezek bizonyos fokú optimizmusra adhatnak okot, azért egyet lehet érteni azon megállapításokkal, hogy a hosszú távú eredmények további javítására szükség van és ez hathatósabb adjuváns kezeléstől remélhető.
6. A parenchyma kímélő segmentalis pancreas resectio megfelelő indicatio és sebészi technika mellett elfogadható morbiditási aránnyal végezhető, ugyanakkor a mirigy endocrin és exocrin funkciója nem károsodik. Az általunk preferált technika centralis pancreas resectio esetén Roux-kaccsal készített distalis implantatión pancreatojejunostomia, majd proximalisan a Wirsung-vezeték külön elvárrása után

a proximalis resectiós felszín kézi varrata és a felszín serosa borítása a felhúzott Roux-kacccsal.

7. Irresecabilis proximalis daganatoknál palliatív beavatkozásként a kettős bypass elvégzése javasolt, mert egyrészt nem növeli a morbiditást és mortalitást a csupán epepassage-t biztosító palliatív műtétekhez képest, ugyanakkor elkerülhetővé válik egy újabb műtét, amire az esetleg később kialakuló duodenum stenosis miatt kerülne sor egy tumorosan leromlott betegen. A kettős bypassnak általunk végzett módoszatát a nemzetközi szakirodalomban először 2002-ben publikálták, magunk viszont már 1998-ban rutinszerűen alkalmaztuk.
8. A nemzetközi irodalmi adatokkal ellentétben localisan előrehaladott pancreas adenocarcinoma neoadjuváns kezelését követően sajnos nem tapasztaltunk olyan mértékű regressziót, hogy a daganat operabilissá vált volna.
9. Az ismertetett pancreas laphámrák neoadjuváns kezelést követő komplett remissiója az oncológiai kezelés nem elhanyagolható szerepét hangsúlyozza.
10. A hasnyálmirigy-daganatos betegek daganatszövet-mintáiban megtalálható K-ras mutációk gyakran kimutathatók a hasnyálmirigy-daganatos betegek perifériás vérmintáiban is. A biztató eredmények mellett azonban további vizsgálatok szükségesek ezen jelenség klinikai jelentőségének, serum biomarkerként történő alkalmazhatóságának megállapításához.
11. A pancreasrákos betegekből vett daganatszövet-minták micro-RNS vizsgálata alapján a miR-21, a miR-27a, a miR-34a, a miR-155, a miR-205 és a miR-221 bizonyult a tumoros szöveteket a normál szövetből legmarkánsabban elkülönítő micro-RNS-nek. Vizsgálatunk figyelemfelkeltő jelentőségű abból a szempontból, hogy ilyen kisszámú mintán végzett vizsgálat eredménye is jól szemlélteti a molecularis különbségeket malignus és normál szöveti entitás között. Ismereteink szerint pancreas adenocarcinoma vonatkozásában ez az első micro-RNS expressziós vizsgálat Magyarországon.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni

Dr. Horváth Örs Péter professzor úrnak, aki a szakmai – és tudományos munkámban támogatott, az értekezés elkészítéséhez értékes tanácsokkal ellátott,

Dr. Kelemen Dezső docens úrnak, témavezetőmnek, akinek támogatásával kezddtem el a pancreas sebészetével foglalkozni, aki erre méltónak tartott, türelmesen oktatott és tudományos munkámat irányította, mindvégig segítette, figyelemmel kísérte,

Dr. Mangel László docens úrnak, aki a pancreas műtéten átesett betegek oncológiai kezelésének kiértékelését lehetővé tette,

Dr. Al-Farhat Yousuf főorvos úrnak, aki az oncológiai eredmények kiértékelésében nagy segítséget nyújtott,

Dr. Ember István professzor úrnak, aki a K-ras és a micro-RNS vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Orvosi Népegészségtani Intézetében lehetővé tette.

Dr. Nádasi Editnek, a K-ras mutatók genetikai vizsgálatában nyújtott együttműködéséért,

Dr. Gombos Katalin egyetemi tanársegédnek, aki a micro-RNS vizsgálatok elvégzését segítette,

Dr. Farkas Nelli egyetemi adjunktusnak, aki a Pécsi Tudományegyetem Bioanalitikai Intézetében a sebészi kezelés eredményeinek statisztikai feldolgozásában nyújtott segítséget,

Gombai Zsófia orvostanhallgatónak, aki az oncológiai kezelésben részesült betegek adatgyűjtésében segédkezett,

minden munkatársamnak, akiktől tanulhattam és akik bármilyen módon segítettek eddigi munkámban.

Hálával tartozom szüleimnek, akik életem minden fontos lépésénél segítettek, támogattak, külön kiemelve édesapámat, **Dr. Papp Ferencet**, akivel még együtt dolgozhattam, és akitől rengeteget tanulhattam.

Közlemények és előadások jegyzéke

A dolgozat témájához kapcsolódó közlemények jegyzéke

1. Kelemen Dezső, **Papp Róbert**, Baracs József, Káposztás Zsolt, Yousuf Al-Farhat, Horváth Örs Péter: Pancreas- és periampullaris tumorok kezelése az elmúlt 10 évben klinikánkon. Magyar Sebészet 62(5): 287-292, 2009.
2. Nádasi Edit, Varjas Tímea, Prantner Ida, Sándor János, Ghodrattollah Nowrasteh, **Papp Róbert**, Ember István, Kelemen Dezső: K-ras mutációk hasnyálmirigy daganatos betegek daganatszövet- és perifériás vérmintáiban. Laboratóriumi medicina 34: 67-72, 2009.
3. **R. Papp**, L. Cseke, Ö. P. Horváth, D. Kelemen: Middle segmental pancreatic resection – a single center experience. Hepato-Gastroenterology 58: 612-615, 2011.
Impact factor: 0,677
4. **R. Papp**, Ö. P. Horváth, D. Kelemen: Rupture of pseudoaneurysm into hepaticojejunal anastomosis: Report of three cases. Accepted for publication in Hepato-Gastroenterology at June 15, 2011.
Impact factor: 0,677
5. E. Nádasi, T. Varjas, I. Prantner, **R. Papp**, G. Nowrasteh, I. Ember, D. Kelemen: K-ras Mutations in Tumor Specimens and Peripheral Blood Samples of Hungarian Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. Accepted for publication in European Journal of Oncology at August 5, 2011.
Impact factor: 0,697
6. **Róbert Papp**, József Baracs, András Papp, Tamás Tornóczki, Áron Vince, Örs Péter Horváth, Dezső Kelemen: Ganglioneuroma in the papilla of Vater and neurofibromatosis type 1: Report of a case and review of the literature. Accepted for publication in Surgery Today at October 24, 2011.
Impact factor: 1,057

A dolgozat témájához kapcsolódó közlemények
összesített impact factor: 3,108

A dolgozat témájához kapcsolódó előadások jegyzéke

1. Kelemen D., Baracs J., **Papp R.**, Káposztás Zs., Y. Al-Farhat, Horváth Ö. P.: Pancreas és periampullaris tumorok kezelése klinikánkon az elmúlt 10 évben. Magyar Sebész Társaság 59. Kongresszusa, Debrecen, 2008. jún. 18-20.
2. **Papp R.**, Kelemen D., Cseke L., Horváth Ö. P.: A pancreas szegmentális resectiójával szerzett tapasztalatainkról. Magyar Sebész Társaság 60. Kongresszusa, Siófok, 2010. szept. 8-11.
3. D. Kelemen, **R. Papp**, J. Baracs, Zs. Gombai, Y. Al-Farhat, Ö. P. Horváth: Radical surgery for pancreatic and periampullary malignancies. 4th Central European Congress of Surgery, Budapest, 2011. ápr. 28-30.
4. **Papp R.**, Baracs J., Gombai Zs., Al-Farhat Y., Horváth Ö. P., Kelemen D.: Pancreas és periampullaris malignus tumorok radikális sebészi kezelése. Magyar Gastroenterológiai Társaság 53. Kongresszusa, Tihany, 2011. jún. 4-7.

Idézhető abstractok jegyzéke

1. Baracs József, **Papp Róbert**, Kelemen Dezső, Yousuf Al-Farhat, Horváth Örs Péter: Pancreas- és periampullaris tumorok kezelése klinikánkon az elmúlt 10 évben. Magyar Sebészet 61: Suppl., p.147, 2008.
2. **Papp Róbert**, Kelemen Dezső, Cseke László, Horváth Örs Péter: A pancreas szegmentális resectiójával szerzett tapasztalatainkról. Magyar Sebészet 63: Suppl., p.196, 2010.

A dolgozat témájához nem kapcsolódó közlemények jegyzéke

1. **Papp R.**, Wéber Gy.: Femoropoplitealis áthidalás PTFE-grafttal - perigraft reakció huszonhat évvel a beültetés után. Érbetegségek, XIII. évfolyam 4. szám, 2006/4, 135-38.
2. Kelemen Dezső, **Papp Róbert**, Horváth Örs Péter: Új típusú, retrográd dissectio pancreatoduodenectomia során – korai tapasztalataink. Magyar Sebészet 64(4): 189-192, 2011.
3. Rita Benkő, László Illényi, Dezső Kelemen, **Róbert Papp**, András Papp, Loránd Barthó: Use and limitations of three TRPV-1 receptor antagonists on smooth muscles of animals and man: a vote for BCTC. Accepted for publication in Eur J Pharmacol at October 3, 2011.

Impact factor: 2,737

A dolgozat témájához kapcsolódó és nem kapcsolódó közlemények
összesített impact factor: 5.845

Complex treatment of pancreatic tumours

PhD Thesis

Dr. Róbert Papp

Head of Doctorate School : Prof. Dr. Sámuel Komoly

Head of Program : Prof. Örs Péter Horváth

Head of the Theme: Dr. Dezső Kelemen



**Department of Surgery
Medical Faculty
University of Pécs**

Pécs

2011.

1. Introduction

The prevalence of pancreatic cancer shows an increasing tendency. The resulting mortality ranks fourth, fifth among mortalities due to tumours. Aggressive character and poor clinical manifestation due to relatively late recognition can be detected in the background, therefore the ratio of resectability is merely around 10% , and the survival rate of patients having undergone radical surgeries is not favourable either, it amounts to ca. 20%. Nevertheless, the only chance for a long-term survival involves a curative resection combined with adjuvant chemotherapy in patients with pancreatic cancer.

Ductal adenocarcinoma originating from the exocrine substance is histologically the most common among the tumours of the pancreas amounting to about 90% of all cases. Tumours of cystic, acinary, and endocrine origin are significantly less prevalent.

Adenocarcinoma is most frequently confined to the head of the pancreas. Diagnostics begins with an abdominal ultrasound, though computed tomography (CT) overtakes the leading role in precise detection, staging and decision making whether the patient is operable. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and biliary stenting are often carried out, though the recommendation of these examinations is a matter of debate.

In tumours of proximal location pancreatoduodenectomy (PPPD, Traverso-Longmire procedure) preserving the pylorus, if needed, -in case the tumour is situated near the pylorus- the traditional Whipple procedure involving the removal of the antrum of the stomach, together with a regional lymphadenectomy are to be carried out (Figure 1-3).

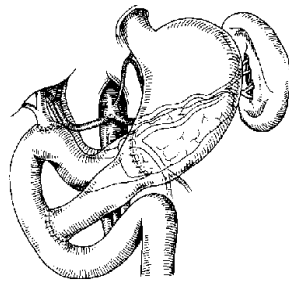


Figure 1. Pylorus-preserving pancreatoduodenectomy with pancreatojejunostomy

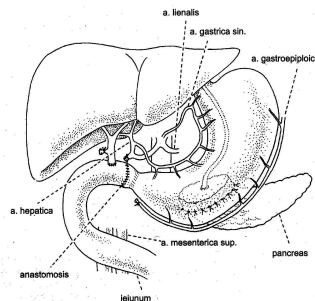


Figure 2. Pylorus-preserving pancreatoduodenectomy with pancreatogastrostomy

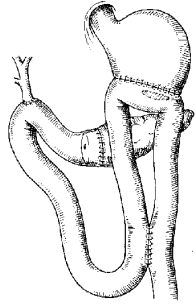


Figure 3. Classical Whipple procedure

Pancreatodigestive reconstruction can be prepared both with the jejunum and the stomach. According to a meta-analysis both methods provide the same results, the modality chosen may depend on the preference of the surgeon. Biliodigestive anastomosis (hepaticojejunostomy) is performed in all cases with the jejunum in an end-to-side fashion. The reconstruction of the continuity of the alimentary tract may (duodenojejunostomy in the course PPPD or gastrojejunostomy by traditional Whipple procedure) be performed in various fashions (interrupted, running sutures, antecolic or retrocolic gastro- or duodenojejunostomy respectively).

In distal tumours a left-sided resection with splenectomy combined with lymphadenectomy should be carried out (Figure 4).

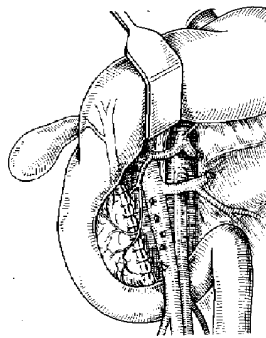


Figure 4. Distal pancreatic resection with splenectomy

Total pancreatectomy is indicated if the tumour is multicentric. This surgery has been favoured lately, since it eliminates the risk for developing a pancreatic fistula, at the same time the internal-medicine treatment of apancreatic conditions has developed significantly.

Though the operative mortality in specialized centres has dropped under 5 %, the postoperative morbidity is about 30-40%, indicating that pancreatic resections may be associated with several risk factors. The most frequent postoperative complications include delayed gastric emptying (19-23%), postoperative pancreatic fistula (9-18%), intraabdominal abscess (9-10%), gastrointestinal or intra-abdominal bleeding (1-8%). Based on the definition of the International Study Group on Pancreatic Fistula (ISGPF) set in 2005 any measurable quantity of discharge through an abdominal drain on the third postoperative day or after is indicative of a fistula, if its amylase content is at least three times higher than that of the normal serum amylase value. Based on the definition of the International Study Group of Pancreatic Surgery set in 2007 gastric emptying is considered delayed if the usage of a nasogastric probe is required even after the third day following the operation or if the probe needs to be reinserted due to persistent emesis after the third postoperative day. Also, gastric emptying is delayed if

the patient cannot tolerate solid food until the 7th postoperative day. The causes of DGE are not fully known, though local complications, innervation- or blood supply disorders and the resulting pyloric spasm are assumed as triggers. The dysfunction usually resolves on its own.

If the tumour is locally irresectable, patients need to undergo an oncological treatment (primary chemoradiotherapy) that may result in a regression that enables the surgeon to remove the tumour. Pancreatic tumours are inoperable if they evoke distant metastases (liver, lungs), carcinosis and/or involve the visceral arteries. At the same time, vena resection has become popular. Radical surgeries should be cancelled if the general condition of the patient does not allow for a resection. If the expected survival is approximately 6 months, nonoperative measures are considered, such as biliary stenting in jaundice, or if it cannot be carried out technically, percutaneous transhepatic drainage (PTD) is to be done. If the patient's condition is better, a surgical double bypass (biliodigestive anastomosis + GEA) is recommended in tumours of proximal location (Figure 5).

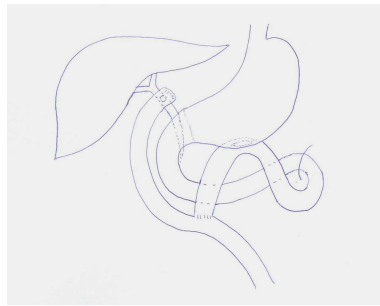


Figure 5. Palliative double bypass.

In left-sided localisation the obstruction due to tumour can be expected in the duodenojejunal transition, therefore it is more feasible to perform a duodenojejunostomy instead of a GEA.

Gemcitabin (Gemzar) monotherapy is the usual first-line cytostatic therapy in the adjuvant oncological treatment of pancreatic cancer, earlier 5-fluorouracil (5-FU) was administered. In case of good general condition the two drugs can be combined with each other, complemented with cisplatin respectively. Gemcitabin monotherapy is the first-line cytostatic therapy also in the treatment of locally advanced pancreatic tumours. Radiotherapy is used in the adjuvant management of pancreatic cancer following resection, and also in the management of locally advanced tumours. However, in the vast majority of adjuvant treatments chemotherapy is applied. In locally advanced tumours radio-chemotherapy does not ensure longer survival, than chemotherapy alone, moreover, its toxicity is higher.

Whilst radicality is of importance in malignomata (complemented even with vena resection), the so called organ-preserving procedures have become widespread in rare benign processes and tumours of low malignancy (enucleation, resection of the head of the pancreas preserving the duodenum, distal resection preserving the spleen, central pancreatectomy, papillectomy) (Figure 6-8).

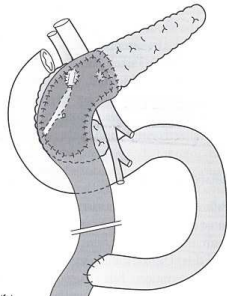


Figure 6. Duodenum-preserving pancreatic head resection

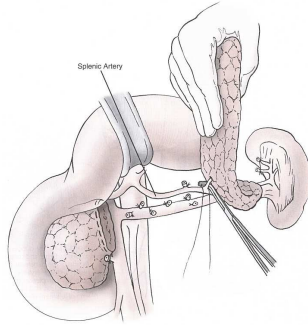


Figure 7. Spleen-preserving distal pancreatectomy

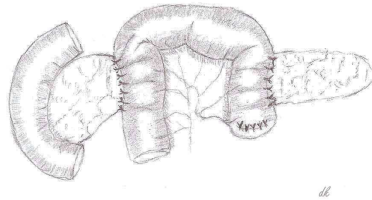


Figure 8. Central pancreatectomy

2. Objectives

At the Department of Surgery, Medical faculty of Pécs University – from January 1998 until January 2011 – we were seeking answers to the following questions raised regarding the retrospective analysis of pancreatic and periampullary tumours:

1. Are there any symptoms that might indicate operability or inoperability?
2. We are going to analyze the achieved results of implantational pancreatojejunostomy developed at our department, regarding the full period of 13 years, compared with other techniques.
3. We wish to analyze the impact of antecolic duodeno- or gastrojejunostomy performed during pancreatoduodenectomy on postoperative gastric emptying, compared with the retrocolic method performed earlier.
4. What surgical techniques are the most beneficial in the treatment of rare tumours

and tumours of low malignancy, i. e. do patients have a benefit of organ-preserving resections?

5. To what extent does adjuvant therapy improve long-term survival rates?
6. To what extent may neoadjuvant therapy result in downstaging or operability?
7. What are the mostly recommended methods of surgical palliation in irresectable cases?
8. A less invasive screening method enabling the early diagnosis of pancreatic cancer playing a role in also in the therapy would be desirable and of major importance. Can K-ras or micro- RNAs serve as biomarkers?

3. Reviewing own clinical results

3.1 Patients and Methods

3.1.1 Resectable tumours

Between January 1998 and January 2011 251 radical operations were performed due to pancreatic or periampullary malignant tumours at the Department of Surgery, Medical Faculty of Pécs University. Table I illustrates the characteristic preoperative data of 251 patients.

Table I. Preoperative data of radically operated patients

	male: 122	female: 129	mean age: 60 years (9-80)
origin of the tumor:	pancreatic head (common bile duct)		175 (70 %)
	body-tail		24 (10%)
	papilla Vateri		44 (17%)
	duodenum		8 (3%)
clinical symptoms:	jaundice		158 (63%)
	pain		139 (55%)
	weight loss		91 (36%)
	vomiting		15 (6%)

The type of intervention is shown in Table II.

Table II. Type of curative procedure

type of resection:		
	pylorus-preserving	
	pancreatoduodenectomy	186
	classical Whipple procedure	31
	distal resection	26
	total pancreatectomy	8
additional procedures:		
	portal vein resection	8
	liver metastasectomy	5
	large bowel resection	2
	gastric and small bowel resection	1-1
	adrenalectomy	1
	nephrectomy	1

Most frequently pylorus-preserving pancreatoduodenectomy was performed. We opted for a traditional Whipple procedure when the tumour was near the pylorus. We performed total pancreatectomy when a tumour was detected in the resection margin even after repeated resections. In malignant processes also regional lymphadenectomy was performed, and splenectomy was carried out in distal pancreatic resections.

At pancreatoduodenectomies the remnants of the pancreas were anastomosed mostly with the jejunum, in 183 cases, of which 143 were performed in one-layer, 40 were performed in two-layer technique. Implantation into stomach was performed in 34 patients. Since 2003 we have carried out end-to-side pancreatojejunal anastomosis with interrupted sutures, one-layer implantation technique (4/0 polydioxanone (PDS), Ethicon, Scotland). Two-layered pancreatojejunostomy was performed with 4/0 PDS, pancreatogastrostomy was carried out with 3/0 Ethibond (Ethicon, Scotland), using interrupted sutures. The parenchyma of the pancreas was soft in 43%, to lower the risks of postoperative complications octreotid (Sandostatin, Novartis Hungary Ltd, Budapest) was administered subcutaneously, 3x0.1 mg for five days.

Pancreatojejunostomy and hepaticojejunostomy were performed with a jejunum brought up retrocolically. In case the biliary duct was dilated due to cholestasis, biliodigestive anastomoses were stitched in one-layer with running sutures (4/0 PDS) just like in duodeno- and gastrojejunostomies (3/0 PDS). The latter sutures have been performed antecolically and not retrocolically since 2008, complemented with Braun anastomosis to further lower the risk of stagnation in the afferent limb. If the biliary duct was not dilated, biliodigestive anastomosis was performed with interrupted sutures.

In some cases multivisceral resection was performed, solitary hepatic metastasis was removed in five patients. Segmental or tangential resection of the vena portae was performed due to the tumorous infiltration of the vessel.

3.1.2. Central pancreatectomy

In 7 cases central pancreatectomy (middle segmental pancreatic resection, MSPR) was performed at the Department of Surgery, Medical faculty of Pécs University between 2002 and 2009, due to benign and low malignant pancreatic tumours (in 2 cases insulinoma, in 5 cases due to suspected cystic or endocrine tumour), since it was situated in the area of the neck and body of the pancreas. The mean size of the lesion was 30mm (10-80). Routine intraoperative frozen section was carried out to prove the tumour free resection margin.

With the distal pancreatic resection surface a pancreatojejunal anastomosis was prepared using the Roux-limb, this intervention has been carried out with a one-layer end-to-side implantation technique in six patients since 2003 (4/0 PDS). At the first operation we stitched the anastomosis in two layers. In one case the proximal resection surface was stapled closed. In the other six cases the separate closure of the Wirsungian duct freely probable toward the papilla of Vater was performed and then the manual suturing of the margins of the fish-mouthed cut surface took place (4/0 PDS). In the last four cases the proximal suture line was covered also with the Roux-limb brought up.

3.1.3. Irresecable tumours

Radical surgery could not be performed in 188 patients between January 1998 and January 2008, in their cases palliative surgical measures were taken. The fact of incurability turned out either during the surgery or was already known prior to the operation (e.g. distant metastases, local vessel invasion), but the nonoperative biliary drainage could not be performed, or rather surgical palliation appeared to be of more benefit due to the relatively good general condition of the patient.

Preoperative data regarding irresecable tumours are summarized in Table III. The most frequently performed palliative intervention was double bypass, the details are illustrated in Table IV.

Table III. Preoperative data regarding irresecable tumours

	male: 109	female: 79	mean age: 63 years (28-84)
origin of the tumor:	pancreatic head (common bile duct)		138 (73,4%)
	body-tail		40 (21,3%)
	papilla Vateri		8 (4,2%)
	duodenum		2 (1,1%)
clinical symptoms:	jaundice		113 (60%)
	pain		104 (55%)
	weight loss		100 (53%)
	vomiting		37 (19%)

Table IV. Type of palliative procedure

double bypass	131
biliodigestive anastomosis	21
duodenojejunostomy	13
GEA	11
exploration	12

At double bypass we performed hepatico (choledocho-) jejunostomy with the Roux-limb as a biliodigestive anastomosis and simultaneously a retrocolic posterior gastrojejunostomy (GEA) with the jejunum from the ligament of Treitz. The double bypass that we have performed since 1998 was first published by Büchler et al. in 2002. Usually, we did not have any positive histological findings, therefore we sampled the tumour intraoperatively with a Travenol needle, possibly transduodenally to prevent the formation of a pancreatic fistula.

3.1.4. Oncological treatment

Oncological consilium took place after both radical and palliative operations in order to decide if oncological therapy was needed, and if yes, what kind. Regarding the fact that the possibilities have changed over the 13 years, anti-tumour therapeutic measures have become diversified, even by the type of the tumour. Besides, we hardly had any information about the patients living outside County Baranya, since they received chemotherapy outside Pécs. Furthermore, there were patients who did not receive chemotherapy either because of their persistent complication, or because they did not sign the consent, or because the oncologist did not consider chemotherapy necessary due to the histological results (R0 resection) or chemotherapy was not considered feasible due to the patient's condition. We could not collect enough data on

everybody involved when determining survival, this fact can account for the smaller number of patients.

Before 2000, patients were administered 5-fluorouracil (5-FU) (425 mg/m² iv. over five days, every 28 day) as an adjuvant therapy, after this gemcitabin (1000 mg/m² iv. for 3 or 5 weeks every week, followed by one week intermission). When the patient's condition was good, gemcitabin was complemented with 5-FU, and if tumour recurrency evoked, it was complemented with cisplatin. In many cases only observation was performed in R0 resection.

In locally advanced tumours or as a palliative measure in case of massive pain and compression symptoms, also in R1/R2 resections radio-chemotherapy was considered with 1.8 Gy fractions until the total dose of 45 Gy. During this time 500 mg/m² 5-FU was administered to the patient weekly over the period of five weeks. In case of metastases palliative chemotherapy was applied.

The follow-up of patients involved clinical assessments, CT and lab tests on a regular basis.

3.2. Results

3.2.1. Results of surgical and oncological treatments in case of resectable tumours

On average, at radical surgeries 2 U (0-26) RBC transfusion was needed. Mean time of the days spent in the ICU was 2 days (0-29), postoperative day care amounted to 13 days (6-55) on average. In most cases an adenocarcinoma was histologically proved. In 232 cases the resection included an R0, in 14 patients an R1 and in 5 cases an R2.

In 39 % complications have developed following radical surgery, these complications are illustrated in Table V in the sequence of their frequency.

Table V. Complications after radical operation (98 cases)

pancreatic fistula	22
wound infection	21
delayed gastric emptying	18
intraabdominal abscess	7
biliary fistula	6
respiratory insufficiency	5
lymphatic leak	4
GI bleeding, intraabdominal bleeding	3-3
cardiac insufficiency, renal insufficiency, liver abscess, wound disruption	2-2
small bowel perforation	1

Most frequently a pancreatic fistula has developed, this complication will be analyzed in depth in Table VI.

Table VI. Occurance of pancreatic fistula /22 cases (8,7%)/

pancreatogastrostomy: 34, fistula: 6 (17%), reoperation: 3, death: 2
single layer pancreatojejunostomy: 143, fistula: 9 (6,2%), conservative th.
double layer pancreatojejunostomy: 40, fistula: 5 (12,5%), conservative th.
distal resection: 26, fistula: 2 (7,7%), conservative th.

On evaluating the results we performed statistical calculations.

Using the Fisher exact test we found that at pancreatojejunostomies performed in one-layer significantly less fistulae developed compared to pancreatogastrostomies ($p=0.044$). No significant deviation was detected between the development of fistula in pancreatojejunostomies (prevalence 6.2%) performed in one-layer and pancreatojejunostomies performed in two-layers (prevalence 12.5%), but the percentage ratios are noteworthy.

The conservative treatment – proper drainage, administration of somatostatin analogue octreoid- resulted in recovery in every case of pancreatic fistula, reoperation was not needed. However, the insufficiency of pancreatogastrostomy was associated with substantially more severe clinical signs, at times with septic conditions. In half of the cases reoperation was required, one third of the patients died. At the repeated operation breakdown of anastomosis and the removal of the pancreatic stump were performed.

225 patients underwent a pancreatoduodenectomy, 18 patients presented with delayed gastric emptying, accounting for an 8.0% of prevalence. Before 2008 this complication occurred in 16 cases following 156 radical surgeries (10.2%), while after 2008 it presented only in two cases following 69 radical resections (2.9%). In both cases duodeno- or gastrojejunal anastomosis was performed antecolically. In antecolic reconstructions the prevalence of DGE was significantly lower ($p=0.079$, alpha (criterion level)=0.1) with a Chi-square test compared with retrocolic reconstructions.

Reoperation was needed in 5.9 % of the cases. In 15 cases, reoperation was performed due to the insufficiency of pancreatogastrostomy, respectively due to intraabdominal hemorrhage in 3-3 patients, due to abdominal abscess, disruption in the abdominal wall, hepatic abscess or insufficiency of the biliodigestive anastomosis in 2-2 cases and in one case the operation was repeated due to small bowel perforation. Early postoperative mortality amounted to 3.9 % (10 cases) resulting from cardiopulmonary insufficiency in 6 patients, renal failure in one patient and surgical causes in three patients.

In three patients out of 251 having undergone a radical surgery, a total pancreatoduodenectomy, a Whipple operation and a pylorus preserving pancreatoduodenectomy we found a rare complication, a bleeding originating from the pseudoaneurysm of the common hepatic artery into the hepaticojejunal anastomosis 2-3 months after resection. Endoscopic examinations did not reveal the source of bleeding in any of the cases. Angiography was performed in two patients, making the diagnosis possible. Angiographic intervention was carried out in one case, without any results. All the three patients underwent a surgery, during which the pseudoaneurysm was removed and the direct suture of the common hepatic artery took place with 5/0 polypropylene (Prolene, Ethicon, Scotland). Reparation of biliodigestive anastomosis was necessitated in all the three cases. Rebleeding or a biliary fistula did not develop in any of the cases. One patient died of multiorgan failure associated with sepsis, the other two patients were discharged.

Patients received an adjuvant oncological treatment mostly at the Institute of Oncotherapy, Medical faculty of Pécs University. We can report on the treatment results of 52 patients with pancreatic adenocarcinoma receiving adjuvant Gemzar-5-FU therapy. On average the disease-free survival was 18.6 months, the median was 17 months. The duration of total survival (until the last appearance or death) was 26.5 months on average, median was 24 months.

Pancreatic adenocarcinoma was the most common among operable tumours (176 patients) and as it has been mentioned the modality of adjuvant therapy was

diversified, many times the therapy took place at another oncological unit according to the place of residence, or the therapy lagged behind. Based on the data of the 13 years we can determine survival in 98 patients having undergone a curative surgery due to pancreatic adenocarcinoma, on average it means 35.1 months, median is 22 months, and the five-year cumulative survival amounted to 15%. These data are illustrated with the Kaplan-Meier curve in figure 9.

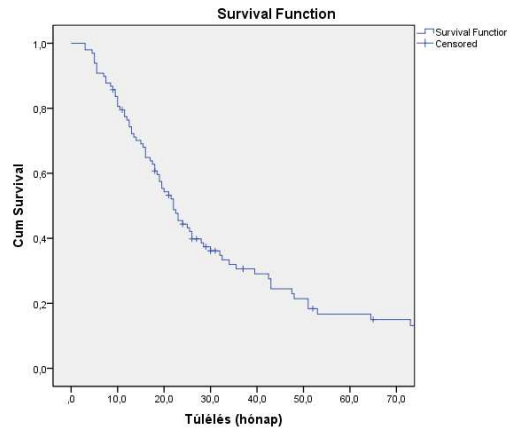


Figure 9. Kaplan-Meier survival curve

3.2.2. Results of central pancreatectomies

At central pancreatectomies the intraoperative transfusion need was on average 1 U (0-2), postoperative hospitalization 15 days (7-51), duration of treatment at the ICU 2 days (0-8).

Histological results are shown in Table VII.

Table VII. Histology

insulinoma	2
cystadenoma	3
solid pseudopapillary tumour	1
low malignant endocrin neoplasia	1

In three cases out of seven a complication has developed. Pneumonia developed in one patient, pneumothorax in another patient following the insertion of the central venous catheter and a peripancreatic abscess due to a pancreatic fistula in the third patient. Percutaneous drainage was performed due to the latter surgical complication (12%). Reoperation or death did not supervene. The average duration of the follow-up period was 28 months (1-84), during which both the endocrine and the exocrine pancreatic functions remained normal. All the patients were satisfied with the results, no tumour recurrency supervened.

3.2.3. Results of surgical and oncological treatment in case of irresectable tumours

Regarding the clinical signs, we can ascertain that with the chi-square test weight loss and emesis occurred significantly more frequently in irresectable patients ($p < 0.001$).

Complication developed in 36 inoperable patients, accounting for 19.1%. The distribution of complications was identical with that of double bypass and other palliative surgeries providing biliary or duodenal passage.

The ratio of reoperation was 1.6%, involving three patients. The need of reoperation resulted from a gastrointestinal bleeding, from an abdominal abscess and from a duodenal perforation. Early postoperative mortality supervened in 13 cases, amounting to 6.9% resulting from 11 cases of cardiopulmonary insufficiency and 2 cases due to surgical causes. The intraoperative transfusion need was low, on average 1 U (0-8). Postoperative hospitalization lasted for 9 days (1-34) on average.

34 patients with locally advanced tumours received mono-Gemzar chemotherapy or Gemzar-5FU therapy, simultaneously complemented with radiotherapy. Treatment results involve: duration of time until progression was 8 months on average, median 7 months, however the total survival amounted to 12 months, median was 10 months. None of the tumours proved resectable, except one case, an irresectable squamous cell carcinoma of the head of the pancreas, in which systemic chemotherapy (mitomycin, epirubicin, carboplatin), respectively selective chemotherapy with the these same drugs were administered through the celiac trunk. Following chemotherapy radiotherapy was started in 1.6 Gy fractions until the total dose of 40 Gy, after this gemcitabin monotherapy was commenced. Based on the abdominal CT following the neoadjuvant treatment regression was suspected, therefore 14 months after having made the diagnosis reexploration and pylorus-preserving pancreatoduodenectomy were performed at the Department of Surgery, Medical faculty of Pécs University. The postoperative period was eventless. Histological investigation detected full tumour regression, chronic pancreatitis and reactive lymph nodes.

3.3. Conclusion

3.3.1. Conclusions drawn from surgical and oncological treatment of resectable tumours

In our cases the tumour was most frequently confined to the head of the pancreas causing icterus and pain, histologically adenocarcinoma was proved and mostly pylorus-preserving pancreatoduodenectomies were performed.

Following radical interventions early postoperative mortality amounted to 3.9%, morbidity accounted for 39%, these ratios correspond with the requirements set by the pancreatic centres.

We have gained several experiences over the 13 years, i.e. at proximal resections we have rather switched from pancreatogastrostomy over to pancreatojejunal anastomosis, from 2003 we have adopted its one-layer modification. With this we have reached better results and the prevalence of a pancreatic fistula significantly dropped to 6.2%.

Regional lymphadenectomy has become a routine intervention and in some cases we have performed multivisceral resections. Vascular resection is rather considered in the tumorous infiltration of the vena portae in selected cases, if by this we can reach R0 resection.

According to recommendations duodeno- and gastrojejunal anastomoses have been lately performed antecolically and not retrocolically, we complement this surgery with Braun anastomosis to further reduce the risk of stagnation in the afferent limb. Based on our results antecolic reconstructions are associated with significantly less cases of delayed gastric emptying compared with retrocolic reconstructions. No

studies comparing the effect of ante- and retrocolic reconstruction have been published yet in Hungarian reviews.

With reference to the three massive gastrointestinal bleedings into the biliodigestive anastomosis, originating from the pseudoaneurysm of the common hepatic artery we could ascertain that CT angiography proved to be of most benefit in the detection of the source of bleeding. Surgical management was necessary in all the three cases, both the direct sutures and the reconstruction of the biliodigestive anastomosis were successful. This rare complication should be considered if late gastrointestinal bleeding presents.

Usually, curative surgery was followed by oncological treatment and care. Over the years more modern drugs beside 5-FU have appeared in the adjuvant therapy of pancreatic cancer, such as gemcitabin and cisplatin. On account of several factors introduced in chapter "Patients and Methods" even in the case of the most common type of cancer, pancreatic adenocarcinoma, we can report only on a small group of patients receiving chemotherapy. It is interesting to note that the average survival of the 52 patients having undergone a curative resection and an adjuvant therapy was shorter (26.5 months) than that of those other 98 patients having undergone a curative surgery, whose group involves 46 patients beside the formerly mentioned 52 patients, at whom we could only detect survival and not the fact, whether they have received an oncological treatment. With regard to the median survival the 24 months in 52 patients are somewhat more favourable to the survival of 22 months in the 98 patients. These and our 5-year-survival results are similar to those of the literature. We can agree with the observations in the literary reviews, i.e. the improvement of long-term results can be expected from more efficient adjuvant therapies.

3.3.2. Conclusions of experiences with central pancreatectomies

Parenchyma-saving segmental pancreatic resection carried out due to proper indication and with an adequate surgical technique can be performed with an acceptable mortality ratio. Main indications involve tumours of benign and low-malignancy nature in the middle part of the pancreas, where the limited resection does not jeopardize the oncological radicality. The unnecessary sacrifice of healthy organs (duodenum, distal biliary duct, head and tail of the pancreas, spleen) can be avoided, and the endocrine and exocrine functions of the gland do not get damaged.

The technique of a central pancreatectomy, preferred by our team involves a distal implantational pancreatojejunostomy with a Roux-limb, followed by the separate suturing of the Wirsungian duct proximally, then the manual suturing of the proximal resection surface and the serosal covering of the surface with the Roux-limb brought up.

3.3.3. Conclusions drawn from surgical and oncological treatment of irresectable tumours

The prevalence of weight loss and emesis was significantly higher in irresectable tumours. In the vast majority of irresectable cases a double bypass was performed.

Following the neoadjuvant therapy of locally advanced tumours- except the case of the reported pancreatic squamous cell carcinoma- we did not find any regression of that extent that could have enabled the radical operation. In distant metastases, in selected cases palliative chemotherapy can be indicated.

In advanced tumours, when the expected survival is approx. 6 months, or due

to the poor general condition only nonoperative modalities are considered, such as biliary stenting in jaundice, or if it can not be managed technically percutaneous transhepatic drainage (PTD) can be performed. Our main objective is to improve the quality of life as far as possible and to achieve this adequate analgesia is of decisive importance.

4. K-ras mutations in peripheral blood samples and tumour tissues of patients with pancreatic cancer

4.1. Introduction

A less invasive screening method, such as peripheral blood or stool samples, enabling the early diagnosis of pancreatic cancer could be preferable and of major importance.

K-ras proto-oncogene located at the locus p13 of chromosome 12 is the most frequently mutated gene in the carcinogenesis of the pancreas. K-ras proto-oncogene encodes a cell membrane bound protein called guanosine triphosphatase, weighing 21 kDa and binding guanine nucleotide. In mutations this enzyme binds GTP constantly. The task of Ras-proteins is the transmission of extracellular signals stimulating growth to the intracellular signal pathways ensuring cell division and differentiation. The constant activity of these proteins results in uncontrolled cell division playing a major role in carcinogenesis. The prevalence of K-ras mutations is associated with smoking, eating habits, alcohol abuse, exposition to certain chemical substances and the presence of chronic pancreatitis. Several investigations have successfully detected mutations of the K-ras gene in the blood plasma and serum of patients with pancreatic cancer, however there have been some examinations with negative results. The investigations have not confirmed unanimously that the detectable K-ras mutations circulating in the DNA were available biological markers of pancreatic tumours.

4.2. Patients and Method

The examination of K-ras mutations was performed involving 28 patients with pancreatic cancer (17 male and 11 female patients, aged 37-76, average age 57.71) having undergone a surgery, with the assistance of the Department of Public Health, Medical Faculty of Pécs University.

The participants were asked to fill in a questionnaire including questions associated with their living conditions, residence, physical activity, regular medical check-ups and the known risk factors of pancreatic tumours (smoking, eating habits), these questionnaires were filled in on their own, without any interlocutors.

DNA and cellular RNA isolation took place from blood samples taken right before the surgery and from intraoperative tumour samples. We examined the presence of K-ras mutations in codons 12, 13 and 61 with a mutant allele-specific PCR, while the expression of codons 12, 13 and 61 of the K-ras gene was investigated with quantitative real-time PCR. Altogether 8 specimens were accessible for a RT-PCR investigation. Possible correlations between different risk factors, the presence of K-ras mutations and K-ras expressions were studied with logistic regression.

4.3. Results

4.3.1. Risk factors

Based on the questionnaires of the 28 examined patients in point of the risk factors we have found the followings: 16 of them live in contaminated conditions in their judgement, 17 have obtained a secondary or tertiary-level degree, 17 present to regular check-ups, 13 do regular physical activity, 12 are smokers, 12 are passive smokers, 10 drink alcohol on a regular basis, 12 drink coffee on a regular basis, 4 eat hot and spicy food daily and 16 regularly eat animal fat.

4.3.2. Mutant allele-specific PCR

With a mutant allele-specific polymerase chain reaction K-ras mutations have been detected in 20 tumour samples (71.5%) and in 21 blood samples (75%) collected from 28 patients with pancreatic cancer.

15 samples out of the 20 tumour samples harbouring mutation carried the mutation of codon 61. In the associated blood samples K-ras mutation was detected in only 13 of them. K-ras codon 61 mutation was present in 2 of all blood samples without the presence of the mutation in the tumour itself.

Codon 12 mutation was proven in 9 malignant histological samples. In 7 of the associated blood samples K-ras codon 12 mutation was detected. In 3 of all blood samples K-ras codon 12 mutation was detected without the presence of the mutation in the tumour itself.

We have not detected K-ras codon 13 mutation either in any of the tumours or blood samples.

However, three histological and blood samples harboured both codon 61 and 12 mutations.

4.3.3. Quantitative RT-PCR

2 of the 8 examined histological samples collected from patients with pancreatic cancer have shown a K-ras gene overexpression with a quantitative real-time PCR. K-ras codon 61 mutation was found in one of them, and K-ras codon 12 mutation was revealed in the other one.

Likewise 2 out of the 8 peripheral blood samples have shown a K-ras gene overexpression. In one of them K-ras codon 12, in the other both K-ras codon 12 and codon 61 mutations have been detected.

4.3.4. Statistical analysis

During the course of statistical analysis significantly less K-ras gene mutation has been detected in any codons of the gene in patients living in an uncontaminated environment (OR=0.15, CI: 0.03-0.77).

The likelihood of K-ras codon 61 mutation has been significantly increased by alcohol consumption (OR=28.38, CI: 1.04-772.55), however eating meat proved to be a protecting factor in point of K-ras codon 61 mutation (OR=0.01, CI: 0.0002-0.99).

The prevalence of K-ras codon 12 mutation was significantly lower in patients drinking less coffee (OR=0.1, CI: 0.01-0.97).

No significant correlation has been found between the presence of K-ras gene mutations and the extent of K-ras gene expression.

4.4. Conclusion

Based on our investigations, we have found a significant correlation between contaminated environment in the judgement of the patients and the presence of K-ras mutations in any of the examined codons, between regular alcohol consumption and the presence of K-ras codon 61 mutations, furthermore between regular coffee consumption and the presence of K-ras codon 12 mutations. These results correlate with those having been published in the literature so far.

Large amounts of meat and fat increase the risk of pancreatic cancers. However, regular meat consumption proved to be a protective factor regarding the K-ras codon 61 mutations. It may result from the fact that in the course of preparation and conservation of meat products (barbeque, smoking and roasting) the resulting N-nitroso compounds similarly to those found in tobacco smoke, lead to mutations in codon 12.

In 71.4 % of the examined samples the K-ras mutational profiles of the histological and blood samples belonging to one patient were consistent.

Regarding the K-ras gene expression in the course of real-time PCR analysis no conclusions can be drawn due to the low number of samples, however we need to note that no significant correlation was detected between the presence of K-ras gene mutation and the K-ras gene expression.

We can ascertain that the K-ras mutations found in the samples of tumour tissue collected from patients with pancreatic cancer can often be detected in the peripheral blood samples of patients with pancreatic cancer, however further investigations are needed to establish the clinical importance of this manifestation and its adaptability as serum biomarker.

5. Micro- RNA examination in tumour tissue samples of patients with pancreatic cancer

5.1. Introduction

Following the transcription from the double-stranded DNA in the nucleus, the information on the single-stranded messenger RNA can be blocked even before protein-synthesis (translation) takes place in the ribosome. This process is termed posttranscriptional gene silencing through the messenger RNA. A form of this machinery is RNA interference, during which short RNA molecules (micro-RNA, miRNA) inhibit the function of messenger RNAs. Craig C. Mello, American researcher along with Andrew Z. Fire was awarded the 2006 Nobel Prize for the discovery of RNA interference. Their discovery was published in 1998.

With reference to the genes being regulated by micro-RNAs, micro- RNAs can function as oncogenes (onkomir) or as tumour suppressive genes. Micro-RNAs play a role not only in the development of tumours but also in the progression of the disease and metastases. Since 2008, micro-RNAs have been known to be detected also in bodily discharges. If we managed to adopt micro-RNAs as non-invasive tumour-biomarkers in symptom-free early tumours, the prospects of patients would improve significantly. By influencing the micro-RNA expression and therefore altering the phenotype of the tumour a new molecular biological opportunity opens up in the

treatment of tumours. Since K-ras is the most frequently mutated gene in pancreatic adenocarcinoma (involved in more than 90% of pancreatic carcinogenesis), the regulation of K-ras through micro-RNAs is of major importance in the matter of pancreatic cancer.

In the United States, based on the recommendation and guidelines of the College of American Pathologists, with the cooperation of Asuragen Clinical Services Laboratory a micro-RNA diagnostic panel, miRInform Pancreas is in use that dependably identifies - based on the expression ratio of miR-196a and miR-217- ductal pancreatic adenocarcinoma compared with the micro-RNA expression ratio characteristic of chronic pancreatitis and benign pancreas. Micro-RNA expression is investigated with a quantitative real-time PCR following the processing of pancreatic specimen.

5.2. Patients and Method

With the assistance of the Department of Public Health, Medical Faculty of Pécs University we have performed micro-RNA investigations using a quantitative real-time PCR in histological samples collected from patients with pancreatic cancer. Our objective was to determine the micro-RNA expression profile of patients (8 patients), carrying a K-ras codon 61 mutation, having undergone a curative surgery due to pancreatic cancer (the investigation involved the expression of 10 micro-RNAs). We have sampled normal pancreas as control tissue. We have performed micro-RNA isolation and a complementary DNA quantitative RT-PCR on specimens obtained from 8 pancreatic carcinomas and a normal tissue following a reverse transcription. PCR products have been detected with DNA-binding fluorophores. The amount of developed PCR products was indicated by the intensity of fluorescence. We calculated and illustrated the expression results from the intensity results with the help of the associated LightCycler 480 software- with reference to the program's standard concentration curve- followed by the expression ratio of U6 snRNA (small nuclear RNA, expressed both in tumour and normal tissues, and part of the complex having a role in the nuclear maturing of the messenger RNA). We have not done any statistical calculations due to the low number of samples available.

5.3. Results

A significant deviation has been detected in the micro-RNA expression of pancreatic adenocarcinomas in each of the 10 investigated micro-RNAs compared to the normal pancreatic tissue. (Figure 10).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
miR21	104	500	500	500	167	34	162	3,42	2,24
miR27a	31,2	500	298	500	61,2	93	43	1,54	1,2
miR34a	92,3	137	385	135	73,4	110	202	39,2	16,4
miR93	500	138	366	500	53,5	127	191	95,5	134
miR143	60	121	500	500	97,1	96,3	196	16	243
miR155	136	194	125	204	93	249	500	156	28,2
miR196a	0,65	215	7,07	24,2	0,4	0,9	2,4	0,4	43,6
miR203	8,26	149	19,7	72,9	8,57	14,9	19,8	13,2	9,2
miR205	32	92,7	232	498	36,8	53,4	69,5	47,5	18,4
miR221	45,6	106	50,8	365	27,5	60,7	95	71,6	26,5

Figure 10. Micro-RNA expression values characteristic of 8 pancreas adenocarcinomas and a normal pancreatic tissue (sample 9) in relation to U6 snRNA, as a unit

Figure 11 compares the mean absolute values of tumorous micro-RNA expressions with the micro-RNA expression of a normal tissue.

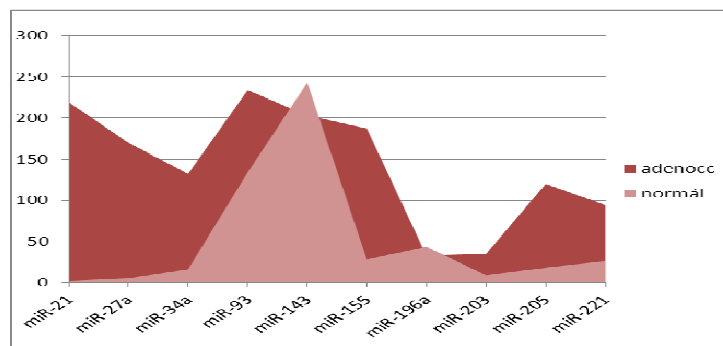


Figure 11. Micro-RNA expression in adenocarcinoma and in normal pancreas

Based on the figure a pronounced expression deviation is detectable between malignant and normal tissues in cases of miR-21, miR-27a, miR-34a, miR-155, miR-205 and miR-221.

5.4. Conclusions

Based on our results demonstrative deviations have been detected in micro-RNA expression of the investigated 8 pancreatic adenocarcinoma specimens compared with that of the control tissue. Its role is adaptable in molecular differential diagnostics of pancreatic carcinomas known from micro-RNA present on the micro-RNA panel used and drafted by us. These include miR-221, miR-155, miR-21, miR-143 and miR-93, revealing a specific and significant overexpression in the examination of pancreatic adenocarcinoma as compared to chronic pancreatitis investigated by Mark Bloomston et al on detecting micro-RNA expression in pancreatic adenocarcinoma, chronic pancreatitis and normal pancreatic tissue.

MiR-21, miR-27a, miR-34a, miR-155, miR-205 and miR-221 have been proven to be the most marked isolating micro-RNAs in distinguishing malignant tissues from normal tissue. We have detected miR-196a overexpression only in one specimen of all adenocarcinomas; this micro-RNA is routinely detected in the Asuragen Clinical Laboratory using the miRInform Pancreas diagnostic panel. However, on investigating pancreatic adenocarcinoma we have not investigated the other fix element of the panel- miR-217- we have demonstrated a significant overexpression of a similar microRNA, miR-27a, belonging to the same micro-RNA cluster. The result of the investigation performed only on a few specimens clearly

demonstrates molecular differences between malignant and normal entities, therefore our investigation is noteworthy.

We plan further investigations on the demonstrated micro-RNA panel involving samples collected from malignant and normal pancreatic tissues as well as from chronic pancreatitis to achieve statistical significance and to elucidate the clinical course of the diseases. To the best of our knowledge it has been the first micro-RNA investigation in Hungary with regard to pancreatic adenocarcinoma.

6. Summary, novel findings

1. The implantational, one-layer pancreatojejunal anastomosis developed at our clinic significantly reduced the prevalence of pancreatic fistula compared to pancreatogastrostomies and it also proved to be a better technique than pancreatojejunostomies performed in two layers.
2. The conservative treatment of a developed pancreatic fistula was successful in the course of all anastomoses of the remnant pancreas into the jejunal limb being excluded from the way of nourishment.
3. The prevalence of delayed gastric emptying was significantly lower in antecolic duodeno- and gastrojejunal anastomoses performed during pancreatoduodenectomies and complemented with a Braun anastomosis compared to retrocolic reconstructions. No studies investigating the effect of ante- and retrocolic reconstructions on gastric emptying have been published so far in Hungarian reviews.
4. Reflecting our results, the 5-year survival amounting to 15% following radical surgeries (due to also adjuvant therapy besides curative resection) along with the early morbidity and mortality rates can be considered good and meet the published data of other pancreas centres.
5. Our survival results are similar to those of other centres in point of adjuvant therapy. However, these results can give rise to a certain degree of optimism after the formerly published depressing data, we can agree with the declarations that confirm the need for improved long-term results due to more effective adjuvant therapies.
6. Parenchyma-preserving segmental pancreatectomy can be performed with an acceptable morbidity rate beside proper indication and surgical technique and at the same time the endocrine and exocrine functions of the gland do not get damaged. The technique of a central pancreatectomy preferred by our team involves a distal implantational pancreatojejunostomy with a Roux-limb followed by the proximal separate sutures of the Wirsungian duct and the manual suture of the proximal resection surface, followed by the serosal covering of the surface with the Roux-limb brought up.
7. Double bypass is recommended in irresectable proximal tumours as a palliative intervention, as it does not increase morbidity and mortality compared to palliative surgeries providing biliary passage merely. Further operation is avoidable, that could be necessary to be performed in a tumorous patient with impaired condition due to a later evolving duodenal stenosis. The double bypass method preferred by

our team was first published in 2002 in international medical reviews, however we did use this method routinely in 1998.

8. In contrast with the international data unfortunately we have not found any regression of that degree that could have enabled the resection of the tumour following neoadjuvant therapy in patients with locally advanced pancreatic adenocarcinoma.
9. The complete remission following the neoadjuvant therapy of the outlined pancreatic squamous cell carcinoma emphasizes the major role of oncological treatment.
10. K-ras mutations detected in the malignant tissue samples of patients with pancreatic cancer can often be found in the peripheral blood samples of patients with pancreatic cancer. Beside the encouraging results further investigations are needed to determine the clinical importance of this phenomenon and its adaptability as a biomarker.
11. Micro-RNAs playing a major role in differentiating malignant tissues from normal ones include miR-21, miR-27a, miR-34a, miR-155, miR-205 and miR-221 based on the micro-RNA investigation of tumour samples collected from patients with pancreatic cancer. Our investigation is of noteworthy importance, since it clearly demonstrates molecular differences between malignant and normal tissue entities even if the research was conducted on a small number of patients. To the best of our knowledge it has been the first micro-RNA expression investigation in Hungary regarding pancreatic adenocarcinoma.

ACKNOWLEDGEMENTS

I owe my sincere gratitude to

my boss, Professor Dr. Örs Péter Horváth for having supported me in my professional and scientific work and for his precious pieces of advice regarding this thesis,

Dr. Dezső Kelemen, Associate professor, my topic leader, who regarded me worthy to conduct in pancreatic surgery, instructed me patiently and supported me throughout my scientific work,

Dr. László Mangel, Associate Professor, for having enabled the analysis of oncological treatment of patients having undergone a pancreatic surgery,

Dr. Yousuf Al-Farhat, Head Physician for his assistance in the analysis of oncological results,

Professor Dr. István Ember, for making K-ras and micro-RNA investigation possible at the Department of Public Health of the University of Pécs, Medical School,

Dr. Edit Nádas for her cooperation in the genetic investigation of K-ras mutations,

Dr. Katalin Gombos, Assistant Lecturer for her assistance provided in the course of micro-RNA investigations,

Dr. Nelli Farkas, Assistant Professor (Institute of Bioanalysis, University of Pécs Medical School) for her assistance provided in the statistical analysis of surgical results,

Zsófia Gombai, medical student for assisting me in gathering data pertaining to patients receiving oncology treatment

and to **all my colleagues** I could learn from and who assisted my work in any ways.

I would like to emphasize my gratitude to my parents who have supported me throughout my life, especially my father, **Dr. Ferenc Papp**, whom I could work with and who gave his knowledge over to me.