

Judith Millastre Bocos

Calorimetría diferencial de barrido.
Una novedosa herramienta
diagnóstica aplicada a las
principales loes pancreáticas: del
adenocarcinoma ductal a las
lesiones quísticas

Director/es

Abián Franco, Olga María
Bajador Andreu, Eduardo

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Tesis Doctoral

**CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO. UNA
NOVEDOSA HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA
APLICADA A LAS PRINCIPALES LOES
PANCREÁTICAS: DEL ADENOCARCINOMA
DUCTAL A LAS LESIONES QUÍSTICAS**

Autor

Judith Millastre Bocos

Director/es

Abián Franco, Olga María
Bajador Andreu, Eduardo

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Programa de Doctorado en Medicina

2025

Tesis Doctoral

CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.
UNA NOVEDOSA HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA
APLICADA A LAS PRINCIPALES LOES PANCREÁTICAS:
DEL ADENOCARCINOMA DUCTAL
A LAS LESIONES QUÍSTICAS

Autora

Judith Millastre Bocos

Director/es

Olga María Abian Franco

Eduardo Bajador Andreu

Facultad de Medicina / Zaragoza

2024/2025

AGRADECIMIENTOS

Torre del Compte, Teruel. 06 de Enero de 2025.

Cuando decidí embarcarme en el doctorado, lo hice atraída por un proyecto de investigación interesante con un nombre, “calorimetría diferencial de barrido”, que apenas alcanzaba a comprender, pero fundamentalmente motivada por un objetivo más clínico y terrenal, que era aportar mi granito de arena para tratar de mejorar la supervivencia de una enfermedad tan terrible como el cáncer de páncreas. Inicé esta trayectoria en un momento más tardío al habitual, cuando ya había dejado atrás la etapa de la residencia, con cierta experiencia asistencial y habiendo enfrentado ya muchas veces el momento amargo de explicarle a una persona un diagnóstico tan devastador.

Durante los años siguientes fueron apareciendo muchos de los obstáculos habituales, inherentes al desarrollo de los estudios de doctorado. Reconozco haber sido advertida de muchos de ellos por compañeros que me habían precedido: volver a estudiar inglés para obtener el título oficial requerido, reclutamientos interminables de pacientes, recogidas de datos multitudinarios en insufribles tablas excel, la compleja estadística, seminarios biomédicos en horarios imposibles, sesiones de investigación después de la jornada laboral correspondiente... Debo admitir que todos ellos hicieron mella en mi determinación de continuar, pero el acompañamiento de otros compañeros en circunstancias similares junto a grandes dosis de sacrificio personal y perseverancia, me permitieron seguir adelante con mis planes.

Y es que aquello no fue lo peor. Todas estas exigencias del doctorado se hicieron minúsculas cuando “la vida” en sí misma irrumpió en el camino: mi deseadísimas maternidad, la fecha de la esperada OPE apenas 24 horas después del nacimiento de mi hija Emma, y finalmente, la terrible pandemia COVID, impactaron con fuerza no solo en mi voluntad, sino también en el propio desarrollo del proyecto, llegando a paralizar el reclutamiento de pacientes y consumiendo mi tiempo y mi energía...

Y es en este momento en el que la influencia de determinadas personas jugó un papel fundamental. A ellas, por tanto, quiero y debo dedicarles estas líneas de agradecimiento:

A mi directora de tesis, la doctora Olga Abian. Además de la oportunidad y los medios para el desarrollo de esta tesis, Olga me ha regalado su confianza inquebrantable en que este proyecto saldría adelante y grandes dosis de paciencia. Siempre me ha transmitido una sensación de positividad y de tranquilidad. Gracias a ella he conocido a personas muy interesantes en el mundo de la investigación fuera de mi ámbito profesional, algunas también imprescindibles en el desarrollo de mi tesis doctoral...

...como la doctora Sonia Hermoso. Sonia apareció tímidamente por el hospital, recogiendo las muestras que otros compañeros y yo reclutábamos en diferentes proyectos de investigación, para prepararlas y almacenarlas. Coincidimos algunas tardes de endoscopia que nos sirvieron para conocernos un poco más. Cuando el proyecto de investigación comenzó a ofrecer los primeros resultados, ella los presentaba y resolvía todas mis dudas (interminables y repetitivas) sobre cuestiones puramente metodológicas, que mi mente clínica se resistía a comprender... Siempre dispuesta a ayudar en los momentos difíciles, disponible para mejorar el PowerPoint de una comunicación, disponible para ensayarla, disponible para trabajar en la redacción de los artículos para publicar... Sonia ha sido un ejemplo de disposición, de conocimiento y de capacidad de trabajo, pero de entre todas sus virtudes, sin duda me quedo con la generosidad que ha mostrado siempre al compartir su tiempo y su trabajo para un objetivo común. Y después, el Pirineo aragonés, lo transformó todo en amistad.

También quiero tener unas palabras de agradecimiento para el doctor Ángel Lanás. ¿Qué se puede decir del Dr. Lanás que no hayan dicho ya otros doctorandos? Ejemplo de tenacidad, de superación, de liderazgo... Pero me gustaría resaltar una cualidad que esconde más que muchas otras. Su calidad humana y su fidelidad a las personas que han merecido su confianza. He tenido la suerte de contar con su apoyo, y siempre le estaré agradecida por ello.

Margorie apareció en mi vida una tarde de guardia en plena pandemia. Irrumpió en mi despacho con su energía y su sonrisa inagotables. Yo estaba distraída, trabajando precisamente en esta tesis. Desde

detrás de la mascarilla me preguntó si podía limpiar la papelera, así que salí del despacho para dejarle trabajar. Aquellos días resultaba incómodo compartir espacios pequeños con desconocidos... Cuando regresé, había dejado sobre mi teclado un bombón... más adelante me hizo comprender la importancia de la actitud optimista en la persecución de cualquier objetivo, independientemente de su dificultad, y también que mi esfuerzo tenía mucho mérito...siempre y cuando no se comparase con el suyo.

Desde una dimensión espiritual, hay una persona que fue, y dejó su ejemplo imborrable. Y ese ejemplo se hizo en determinados momentos fundamental. A lo largo de estos años de doctorado me he preguntado muchas veces la finalidad del esfuerzo invertido y el sentido del tiempo robado a otras oportunidades. Entonces aparece en mi recuerdo una frase que en ocasiones le oí pronunciar a él: "...la tesis doctoral, hoy en día, es importante por lo que significa, nada más... ". Nada más y nada menos... gracias, papá, allí donde estés...

También quiero agradecer al resto de mi familia, a mi madre Esther, a mi tía Pilar, y a mi hermana Esther...por haberme ayudado durante todos estos años a ser lo que soy y por haber formado parte del camino que me ha conducido hasta aquí. Estáis cuando todo empieza y habéis seguido siempre acompañándome... gracias, chicas...

Y finalmente a Eduardo, la persona más importante de mi vida, y la que más me ha ayudado a sacar adelante este, pero también tantos otros proyectos, profesionales o no... Apareciste en mi vida sin avisar, de forma totalmente inesperada, y todo se complicó... No te culpo, sé que yo hice lo mismo en la tuya. Aquella marea de dudas e incertidumbre fue imposible de frenar y, poco a poco, se transformó en un proyecto de vida común por la que muy pocos hubieran apostado, es posible que ni siquiera nosotros mismos... Pero te fuiste convirtiendo silenciosamente en el pilar de mi vida que eres hoy. Y entonces llegó Emma... ella unificó nuestros objetivos individuales en uno sólo y, desde entonces, todos los proyectos de mi vida pasan por ti. Gracias por tu ayuda, por tu opinión, por tu consejo, pero sobre todo gracias por tu tiempo, que permite el mío, y por tu generosidad. Gracias por aguantarme y por darme la tranquilidad que me hace falta tantas veces. Gracias por quererme a pesar de todo y por seguir empeñado en cumplir mis sueños... Me haces sentir tremendamente afortunada...

A los dos, a la princesa de 7 años que odia esta tesis y me recuerda todos los días que me hubiera querido igual si no la hubiera hecho, y a ti, quiero pedirte hoy perdón por el tiempo irrecuperable que os he robado...

Gracias, gracias, gracias...

Judith Millastre Bocos

RESUMEN

Introducción: El adenocarcinoma ductal pancreático (ACDP) es un grave problema sanitario, de incidencia creciente y pronóstico infausto. La cirugía, único tratamiento curativo disponible, está limitado por un diagnóstico habitualmente tardío. Mejorar la supervivencia exige un diagnóstico precoz y vigilancia de las lesiones quísticas de páncreas (LQP) precursoras. La biopsia líquida térmica (TLB) es una novedosa herramienta que examina el perfil térmico de una muestra biológica, obteniendo información global sobre sus componentes e interacciones, y posibles cambios inducidos por una enfermedad.

Objetivos: Describir las principales características del ACDP y las LQP en nuestro medio para entender las dificultades que interfieren su diagnóstico y detectar opciones de mejora. Investigar el potencial de la TLB para optimizar el diagnóstico de ambas patologías.

Material y Métodos: estudio prospectivo de dos series de pacientes: 122 con ACDP y 35 con LQP. En el primero se trató de identificar variables asociadas a su resecabilidad. En el segundo, se analizó el rendimiento de las herramientas diagnósticas disponibles y los resultados quirúrgicos. En ambos casos se desarrollaron modelos predictivos con algoritmos de inteligencia artificial (iTLB) para optimizar su diagnóstico.

Resultados: El 46,7% de ACDP se diagnosticaron en estadio metastásico y se observó una tendencia diagnóstica a menor edad. Factores de riesgo frecuentemente asociados fueron: sobrepeso/obesidad (74,1%), tabaco (41%) y diabetes (36,9%). El debut diabético podría ser un marcador precoz, especialmente en mayores de 50a, y presentó menor relación con la obesidad que la diabetes establecida. El tabaco se asoció a menor edad al diagnóstico ($p=0,009$). La pancreatitis aguda puede ser una forma de presentación del ACDP, especialmente las idiopáticas en mayores de 60a. La localización cefálica ($p=0,002$), el nivel más elevado de bilirrubina ($p=0,048$) y nivel más bajo de Ca19.9 ($p=0,001$) presentaron asociación con la resecabilidad. No se encontró correlación entre bilirrubina y Ca19.9. El 30,3% fueron candidatos quirúrgicos con mortalidad (8%) y morbilidad (73%) elevadas. La supervivencia a 5a fue del 6,8%. Se observó supervivencia significativamente mejor en varones ($p=0,041$), menores de 65a ($p<0,001$), menor comorbilidad ($p=0,009$) y normopeso ($p=0,005$). La cirugía R0 (45,9%) mostró tendencia a una mejor supervivencia.

Se desarrolló un modelo predictivo (iTLBcp1) capaz de discriminar pacientes sanos de ACDP con sensibilidad=94,4%, especificidad=100%, y AUC=0,97. Otros modelos desarrollados para seleccionar pacientes en distintos estadios de resecabilidad mostraron baja especificidad y VPP.

Las LQP se presentaron en pacientes con escasa comorbilidad y mediana edad. La ictericia y la pérdida de peso son síntomas de alarma para malignización. Las herramientas para su diagnóstico etiológico y de malignidad son limitadas y la cirugía se asocia a importante morbimortalidad.

Se desarrollaron 2 modelos predictivos: iTLBq1 mostró buena capacidad para discriminar lesiones mucinosas de no mucinosas (sensibilidad=92%, VPN=86%, AUC=0,79); iTLBq2 fue capaz de identificar lesiones mucinosas malignizadas con excelente capacidad predictiva (VPP=100%, VPN=100%, AUC 1,00)

Conclusiones: La iTLB es una herramienta diagnóstica prometedora para el diagnóstico de ACDP, el diagnóstico de LQP mucinosas y su malignización. Su aplicación, junto a la consideración de determinados factores de riesgo y parámetros clínico-biológicos, podría optimizar el diagnóstico precoz de esta nefasta enfermedad.

| | |
|---|------------|
| AGRADECIMIENTOS..... | 3 |
| RESUMEN | 5 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 10 |
| LESIONES OCUPANTES DE ESPACIO PANCREÁTICAS..... | 10 |
| ADENOCARCINOMA DUCTAL DE PÁNCREAS..... | 11 |
| A. EPIDEMIOLOGÍA..... | 11 |
| B. FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE ACDP | 17 |
| C. PREDISPOSICIÓN GENÉTICA | 20 |
| D. SÍNTOMAS, DIAGNÓSTICO Y ESTADIFICACIÓN DEL ACDP..... | 22 |
| E. TRATAMIENTO DEL ACDP | 26 |
| F. SCREENING PRECOZ DEL ACDP..... | 29 |
| LESIONES QUÍSTICAS PANCREÁTICAS..... | 33 |
| A. LESIONES QUÍSTICAS MUCINOSAS | 35 |
| B. LESIONES QUÍSTICAS NO MUCINOSAS | 39 |
| C. DIAGNÓSTICO DE LAS LESIONES QUÍSTICAS PANCREÁTICAS | 41 |
| D. MANEJO TERAPÉUTICO DE LAS LQP | 50 |
| CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO..... | 54 |
| A. COMPOSICIÓN DE LOS LÍQUIDOS BIOLÓGICOS. CONCEPTO DE PROTEOMA Y PEPTIDOMA. ¿POR QUÉ INVESTIGAR CON CALORIMETRÍA?..... | 54 |
| B. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO. CONCEPTO DE TERMOGRAMA..... | 55 |
| C. BIOPSIA LÍQUIDA TÉRMICA (TLB: <i>THERMAL LIQUID BIOPSY</i>) | 57 |
| 2. ESTUDIO DEL ADENOCARCINOMA DUCTAL DE PÁNCREAS..... | 59 |
| HIPÓTESIS..... | 59 |
| OBJETIVOS DEL ESTUDIO..... | 59 |
| A. OBJETIVOS PRINCIPALES..... | 59 |
| B. OBJETIVOS SECUNDARIOS..... | 59 |
| MATERIAL Y MÉTODOS..... | 60 |
| A. PACIENTES CON ACDP..... | 60 |
| B. PACIENTES CONTROL SANOS..... | 60 |
| C. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN..... | 60 |
| D. VARIABLES RECOGIDAS | 61 |
| E. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS..... | 62 |
| F. PREPARACIÓN DE TERMOGRAMAS..... | 63 |
| G. DESCRIPCIÓN DEL MODELO DE APRENDIZAJE AUTOMATIZADO..... | 63 |
| H. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EMPLEADO | 65 |
| RESULTADOS DEL ESTUDIO ACDP..... | 66 |
| A. ESTUDIO DESCRIPTIVO | 66 |
| B. RESULTADOS DE LOS MODELOS DE CLASIFICACIÓN iTLBCP..... | 83 |
| C. CURIOSIDADES | 94 |
| DISCUSIÓN ACDP..... | 96 |
| A. ¿ES POSIBLE MEJORAR LA SUPERVIVENCIA DEL ACDP? | 96 |
| B. ¿ES POSIBLE MEJORAR EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE PACIENTES CON SINTOMATOLOGÍA INESPECÍFICA?.. | 106 |
| C. ¿CUÁLES SON LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES DEL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO EN NUESTRA SERIE? .. | 107 |
| D. APORTACIÓN DE LOS MODELOS iTLB..... | 108 |
| E. ¿ES POSIBLE DISEÑAR UNA ESTRATEGIA DE CRIBADO EN POBLACIÓN DE RIESGO MODERADO? | 111 |
| LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO..... | 112 |
| LÍNEAS DE FUTURO..... | 113 |

| | |
|---|------------|
| CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DE ACDP..... | 114 |
| 3. ESTUDIO DE LAS LESIONES QUIÍSTICAS PANCREÁTICAS | 116 |
| HIPÓTESIS. | 116 |
| OBJETIVOS DEL ESTUDIO..... | 116 |
| A. OBJETIVOS PRINCIPALES: | 116 |
| B. OBJETIVOS SECUNDARIOS:..... | 116 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 117 |
| A. POBLACIÓN DE ESTUDIO | 117 |
| B. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN:..... | 117 |
| C. VARIABLES RECOGIDAS | 118 |
| D. CLASIFICACIÓN DE LAS LQP. | 119 |
| E. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS. | 120 |
| F. PREPARACIÓN DE TERMOGRAMAS..... | 120 |
| G. DESCRIPCIÓN DEL MODELO DE APRENDIZAJE AUTOMATIZADO..... | 121 |
| H. MODELOS DE CLASIFICACIÓN PARA LQP. | 122 |
| I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EMPLEADO:..... | 122 |
| RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LQP | 123 |
| A. ESTUDIO DESCRIPTIVO. | 123 |
| B. TERMOGRAMAS. | 130 |
| C. RESULTADOS DE LOS MODELOS ITLBQ..... | 131 |
| DISCUSIÓN DEL ESTUDIO DE LQP | 136 |
| A. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS. | 136 |
| B. DISCUSIÓN SOBRE LA SINTOMATOLOGÍA. | 139 |
| C. DISCUSIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE MODALIDADES DIAGNÓSTICAS: LQP-NM vs. LQP-M. | 140 |
| D. DISCUSIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DEL MODELO ITLBQ1 (LQP-NM vs. LQP-M) | 141 |
| E. DISCUSIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE MODALIDADES DIAGNÓSTICAS: LQP-Mb vs. LQP-MM..... | 143 |
| F. DISCUSIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DEL MODELO ITLBQ2 (LQP-Mb vs. LQP-MM)..... | 145 |
| G. DISCUSIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE LA CITOLOGÍA | 146 |
| H. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS QUIRÚRGICOS | 146 |
| LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO. | 148 |
| LÍNEAS FUTURAS..... | 149 |
| CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DE LQP. | 150 |
| | |
| 4. BIBLIOGRAFÍA | 151 |
| | |
| 5. ABREVIATURAS | 185 |
| | |
| 6. ANEXOS. | 189 |
| | |
| ACEPTACIÓN CEICA | 190 |
| CONSENTIMIENTO INFORMADO..... | 191 |
| DOCUMENTO INFORMATIVO ACDP | 192 |
| DOCUMENTO INFORMATIVO LQP | 194 |
| | |
| 7. TABLAS..... | 195 |
| | |
| TABLAS ACDP | 196 |

| | |
|-------------------------------------|------------|
| TABLAS LQP | 207 |
| 8. ARTÍCULOS PUBLICADOS..... | 209 |

1

Introducción

LESIONES OCUPANTES DE ESPACIO PANCREÁTICAS

Se consideran Lesiones Ocupantes de Espacio (LOES) pancreáticas, a todas aquellas lesiones que aparecen en el seno de la glándula pancreática y dependen de la misma. Constituyen un grupo heterogéneo de procesos con diferente incidencia y diferente comportamiento biológico, según sus características fisiopatológicas, morfológicas y genéticas. Así pues, existen LOES pancreáticas de naturaleza exclusivamente inflamatoria, pero también LOES neoplásicas secundarias a un crecimiento celular anómalo, con diferente riesgo de malignización.

Para abordar su diagnóstico diferencial, una de las características más relevantes es su naturaleza, sólida o quística, siendo diferentes las alternativas diagnósticas en uno y otro caso. Entre las neoplasias sólidas, la más frecuente y maligna desde el punto de vista anatomopatológico (AP), es el Adenocarcinoma Ductal de Páncreas (ACDP), seguida muy de lejos por el Tumor Neuroendocrino pancreático (pancTNE). Otras posibilidades más infrecuentes son el Tumor Sólido Pseudopapilar (TSSP), el linfoma pancreático, el pancreatoblastoma, el carcinoma de células acinares pancreáticas y las metástasis pancreáticas de otros tumores primarios (las más frecuentes renales y pulmonares) (1). Entre las lesiones quísticas, las posibilidades se multiplican, convirtiendo su diagnóstico diferencial en un auténtico desafío, especialmente cuando se trata de lesiones pequeñas, indiferenciables en pruebas de imagen. Las opciones incluirían lesiones quísticas congénitas o de naturaleza inflamatoria, en ambos casos con comportamiento habitualmente benigno, pero también lesiones quísticas de naturaleza neoplásica con diferente capacidad de transformación maligna, entre las que se incluyen el Cistoadenoma Seroso (CAS), el Tumor Papilar Mucinoso Intraductal (TPMI) y el Cistoadenoma Mucinoso (Mucinous Cystic Neoplasm o MCN según sus siglas en inglés), así como tumores sólidos con degeneración quística como el TSSP, el pancTNE, el carcinoma de células acinares y el pancreatoblastoma (2).

El ACDP y las lesiones quísticas pancreáticas (LQP) constituyen la patología tumoral pancreática más frecuente y relevante, y en el caso del ACDP, también la de peor pronóstico. El diagnóstico precoz del ACDP y el adecuado diagnóstico diferencial de las LQP, así como la detección precoz de su malignización, es uno de los desafíos más importantes a los que se enfrentan hoy en día los pancreatólogos en su práctica clínica habitual.

Esta tesis doctoral investiga la utilidad de una nueva herramienta, la biopsia líquida térmica o TLB (Thermal Liquid Biopsy), en este desafío diagnóstico. Optimizar la detección precoz del ACDP y la identificación precisa de las diferentes LOES pancreáticas incorporando técnicas novedosas a las herramientas diagnósticas actuales, aumentaría las opciones curativas de estos pacientes, prolongando su supervivencia.

ADENOCARCINOMA DUCTAL DE PÁNCREAS

a. Epidemiología.

El ACDP es la neoplasia primaria sólida maligna más frecuente del páncreas (85-95% del total) y constituye en la actualidad, un problema de salud de incidencia creciente a nivel mundial (especialmente en países desarrollados) y de extrema gravedad, vinculada a su pronóstico infausto, como reflejan un coeficiente de muerte/incidencia de 0,98 y una tasa de supervivencia a 5 años inferior al 10% (3).

Este mal pronóstico está condicionado por diferentes factores concurrentes, como son:

- Un diagnóstico habitualmente tardío derivado de la ausencia de síntomas de alarma específicos en fases precoces, la falta de biomarcadores que permitan un diagnóstico precoz y la ausencia de programas de cribado eficaces.
- La agresividad biológica del propio tumor que le confiere una extraordinaria resistencia a las terapias sistémicas actualmente disponibles (3).
- Su localización retroperitoneal, entre los grandes vasos arteriales y venosos, a los que incluye e invade en su crecimiento, dificultando enormemente su resección quirúrgica.
- El importante deterioro general y desnutrición que condiciona en el individuo que lo padece, limitando su capacidad de resistencia y tolerancia a los diferentes tratamientos disponibles.

Aproximadamente el 70% de los ACDP se localizan en cabeza pancreática, el 15-20% en cuerpo y el 5-10% en cola, pudiendo presentar afectación difusa en torno a un 5% de los casos. La mayoría, un 85-90%, son casos esporádicos, entre un 5-10% tienen riesgo familiar y el 3-5% presentan una mutación genética de riesgo (4). La incidencia del ACDP aumenta con la edad, alcanzando el pico máximo entre los 65 y los 75 años (5), para posteriormente disminuir (4). En los últimos años se viene observando una tendencia preocupante al diagnóstico cada vez más temprano, con incidencias crecientes a partir de los 40 años y especialmente llamativas en mujeres jóvenes (6,7).

La probabilidad de desarrollar un ACDP a lo largo de la vida es de aproximadamente un 1,3% en una persona de riesgo medio, y este riesgo aumenta con la edad, el sexo masculino y un nivel socioeconómico medio-alto. Hasta el 80% de los casos se diagnostican en estadios avanzados (localmente avanzados o metastásicos), cuando ya no existen opciones terapéuticas curativas. De esto se deduce que, apenas un 20% de pacientes son candidatos a cirugía al diagnóstico, que hoy en día es la única terapia curativa disponible (8). Los intentos de rescate quirúrgico mediante tratamientos quimioterápicos o radioterápicos neoadyuvantes, de momento, son desalentadores. Pero incluso tras una resección quirúrgica radical (R0), la probabilidad de recurrencia es muy elevada (superior al 80% en los 2 años siguientes) debido a la posible existencia de micrometástasis indetectables por las técnicas actuales de estadificación (9).

En Estados Unidos (EE.UU) se han descrito diferencias raciales y étnicas (figura 1), con mayor incidencia de ACDP entre individuos de raza negra, seguidos por la raza blanca, indios americanos, hispanos, y asiáticos (10), observándose también una menor probabilidad de diagnóstico en estadios localizados entre los individuos de raza negra con respecto a los blancos (11).

| ACDP: Tasa de incidencia por 100.000 personas según raza/etnia y sexo | | |
|--|--|---------|
| HOMBRES | | MUJERES |
| 15,4 | Todas las razas | 12,0 |
| 13,0 | Hispanos | 11,4 |
| 15,3 | No hispanos indios americanos/ Alaska nativos | 11,0 |
| 10,9 | No hispanos asiáticos/ isleños del Pacífico | 9,4 |
| 17,7 | Negros No hispanos | 15,1 |
| 16,0 | Blancos No hispanos | 11,9 |

Tabla 1. Tasas de Incidencia de ACDP por cada 100.000 habitantes según raza/etnia y sexo, en EE.UU. Adaptado de: Registro SEER (12). *Abreviaturas:* ACDP Adenocarcinoma ductal pancreático.

Incidencia y mortalidad en el mundo.

A nivel mundial, según datos publicados por GLOBOCAN (Global Cancer Observatory) (4), en el año 2022 se diagnosticaron un total de 510.992 casos y fallecieron 467.409 individuos. Las tasas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad fueron prácticamente superponibles (4,7 y 4,2 casos/100.000 habitantes respectivamente), siendo el 12º tumor maligno más frecuente, pero el 6º en mortalidad, como puede observarse en la figura 1.

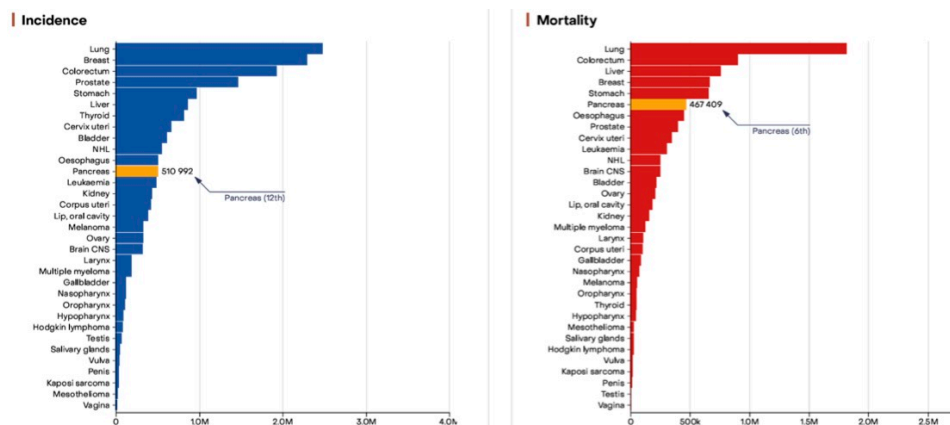


Figura 1. Incidencia (izquierda) y mortalidad (derecha) mundiales del ACDP en números absolutos, en 2022. Imagen tomada de GLOBOCAN, 2023 (4).

En la comparativa por continentes, las mayores tasas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad, global y por sexos, se observaron en continentes desarrollados y con elevado índice sociodemográfico como Europa y Norteamérica (ver figura 2), siendo ambas tasas ligeramente superiores en el sexo masculino de forma universal.

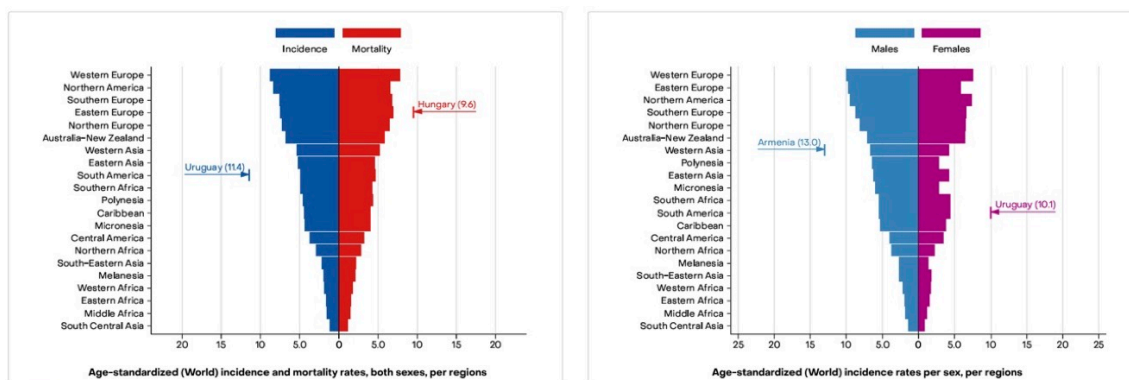


Figura 2. Comparativa por continentes de las tasas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad, global y por sexos, en 2022. Imagen tomada de GLOBOCAN, 2023 (4).

Según un estudio publicado recientemente (13), el ACDP presenta una clara tendencia temporal al alza en todos los aspectos. Entre 1990-2019 a nivel mundial, las tasas estandarizadas por edad de incidencia, prevalencia, mortalidad y AVAD (años de vida ajustados por discapacidad) han presentado un aumento constante de forma global y en ambos sexos (ver figura 3). El índice AVAD refleja también el elevado y creciente impacto económico de la enfermedad. Estos marcadores epidemiológicos son mayores en países desarrollados con elevado índice sociodemográfico, y se mantienen de forma constante en torno a un 30% más elevados en el sexo masculino con respecto al femenino, probablemente en parte relacionado con determinados factores de riesgo como el mayor consumo masculino de tabaco.

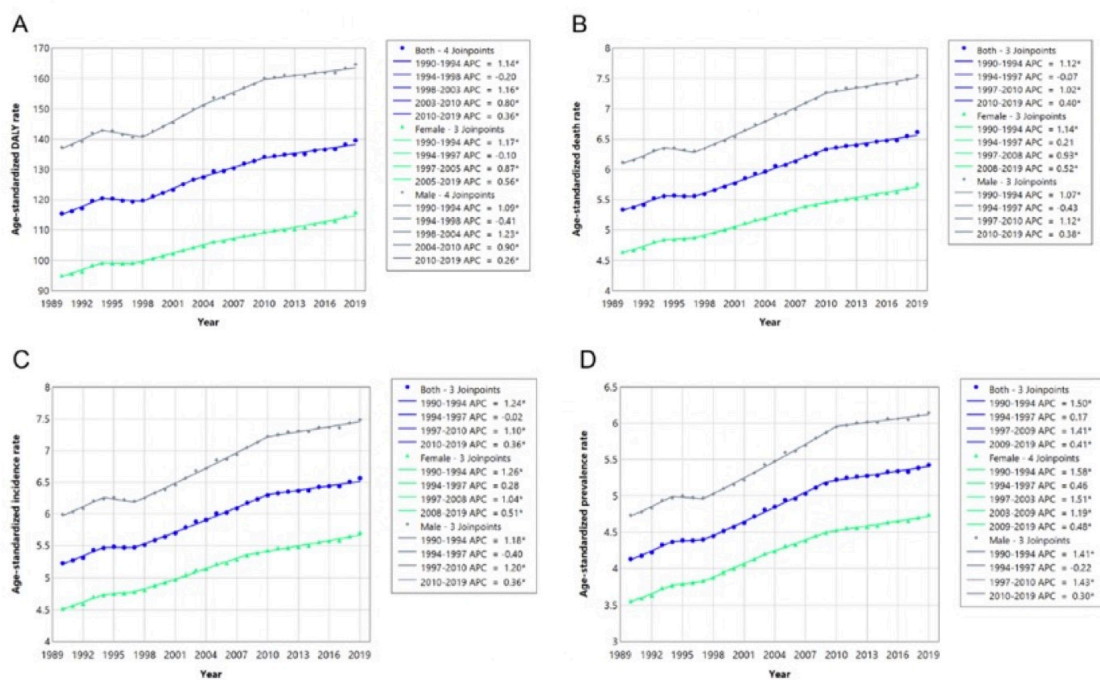


Figura 3. Tendencia temporal del ACDP (1990-2019): sexo masculino (línea gris), sexo femenino (línea verde), ambos sexos (línea azul). Indicadores de impacto global: AVAD (A); Mortalidad (B); Incidencia (C), Prevalencia (D). Imagen tomada de Ramai et al, 2024 (13). Abreviaturas: AVAD: Años de vida ajustados por discapacidad.

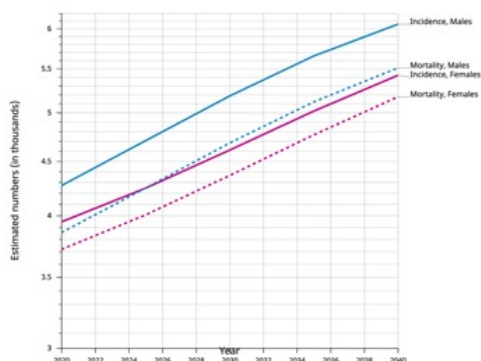


Figura 4. Estimación de la tendencia en incidencia (línea continua) y mortalidad (línea discontinua) de ACDP, 2020-2040. Sexo masculino en azul y sexo femenino en rosa. Imagen tomada de GLOBOCAN, 2023 (4).

En Europa, el ACDP alcanza actualmente el 8º puesto por frecuencia diagnóstica en ambos sexos (8º en sexo masculino, 6º en sexo femenino), manteniéndose en el 6º puesto como cáncer más mortal. En el año 2040, las previsiones indican que la incidencia total de ACDP podría aumentar hasta un 30% (15).

En EE.UU, el ACDP es el 10º en frecuencia diagnóstica y el 4º como cáncer más mortal, con previsión de poder convertirse en el 2º hacia el año 2030. En el año 2024 se esperan un total de 66.440 diagnósticos, y 51.750 muertes (12).

Incidencia y mortalidad en España.

En nuestro país, según la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN) (5), el ACDP sigue una tendencia paralela a la descrita a nivel mundial. La incidencia estimada en el año 2024 es de 9.986 nuevos casos, lo que supone una tasa bruta (TB) de incidencia de 20,6 casos nuevos por 100.000 habitantes, con un ligero predominio de casos en el sexo masculino (5.209 diagnósticos en sexo masculino, TB = 22 frente a 4.777 diagnósticos en sexo femenino, TB = 19,3).

Considerando ambos sexos, el ACDP es el 8º cáncer más frecuente, por detrás de mama, pulmón, próstata, colon, vejiga, recto y linfoma no Hodgking. En el análisis por sexos, es el 10º cáncer más frecuente en el sexo masculino y el 6º en el sexo femenino (ver figura 5).

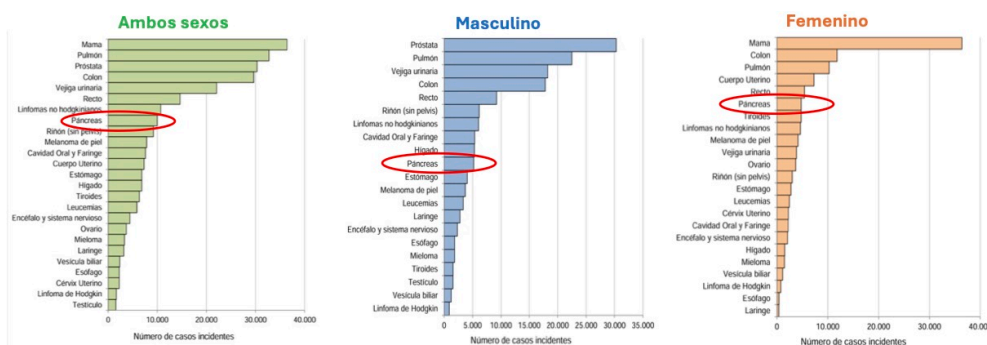


Figura 5. Número estimado de casos incidentes de cáncer en España por tipo tumoral 2024: Ambos sexos (verde), sexo masculino (azul), sexo femenino (naranja). Imagen tomada de REDECAN, 2024 (5).

En los últimos diez años se ha objetivado un aumento medio de la incidencia superior al 0.8% anual en ambos sexos (16), atribuido al envejecimiento poblacional y a la mayor prevalencia de factores de riesgo como la obesidad, el tabaco o la diabetes, pero también a la ausencia de actividades preventivas y a los escasos avances terapéuticos. Según previsiones de REDECAN (5), comparativamente con el año 2014, en el año 2024 se diagnosticarán un 17,74% más de ACDP en el sexo masculino, y un 15,21% más en el sexo femenino. Este aumento de diagnósticos de ACDP llama la atención en contraste con la mayoría del resto de tumores, en los que se objetiva una estabilización e incluso una disminución de la incidencia, como se observa en la tabla 2 (5). En el año 2040 la incidencia prevista es de 11.333 nuevos casos, lo que supone un incremento de hasta el 45.9% con respecto a 2018 que fueron un total de 7.765 (15).

| TIPO TUMORAL | HOMBRES | | MUJERES | |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 2014 | 2024 | 2014 | 2024 |
| Esófago | 8,9 | 7,6 | 1,4 | 1,4 |
| Estómago | 24,5 | 17,2 | 12,3 | 9,4 |
| Colon | 80,1 | 75,5 | 41,8 | 40,2 |
| Recto | 38,3 | 38,4 | 19,2 | 18,9 |
| Hígado | 22,2 | 22,0 | 6,3 | 5,1 |
| Vesícula Biliar | 6,9 | 5,3 | 4,9 | 3,6 |
| Páncreas | 18,6 | 21,9 | 13,8 | 15,9 |
| Mama | | | 116,5 | 130,4 |
| Cérvix Uterino | | | 7,0 | 8,4 |
| Cuerpo uterino | | | 24,8 | 26,0 |
| Ovario | | | 13,9 | 13,2 |
| Próstata | 149,5 | 128,1 | | |
| Testículo | 5,0 | 6,7 | | |
| Melanoma | 14,0 | 15,4 | 15,2 | 15,1 |
| C Oral y faringe | 24,7 | 21,9 | 7,8 | 7,8 |
| Laringe | 14,8 | 11,4 | 1,1 | 1,4 |
| Pulmón | 108,2 | 94,8 | 23,4 | 36,6 |
| Riñón (sin pelvis) | 22,0 | 25,2 | 8,2 | 10,7 |
| Vejiga | 86,3 | 77,2 | 12,6 | 13,3 |
| Encéfalo y SNC | 10,2 | 9,7 | 7,8 | 7,6 |
| Tiroides | 5,1 | 6,4 | 15,3 | 18,3 |
| LH | 3,3 | 3,8 | 2,7 | 3,1 |
| LNH | 22,4 | 25,3 | 18,2 | 16,5 |
| Mielomas | 9,0 | 7,7 | 6,4 | 5,0 |
| Leucemias | 17,8 | 14,5 | 9,8 | 8,7 |
| Otros | 40,2 | 43,3 | 24,2 | 24,1 |
| Todas (excepto piel no melanoma) | 731,9 | 679,2 | 414,6 | 440,9 |

Tabla 2. Tasas estimadas de incidencia de cáncer ajustadas a la población estándar europea de 2013, por tipo de cáncer y sexo. España, 2014 y 2024. Adaptado de: REDECAN, 2024 (5).

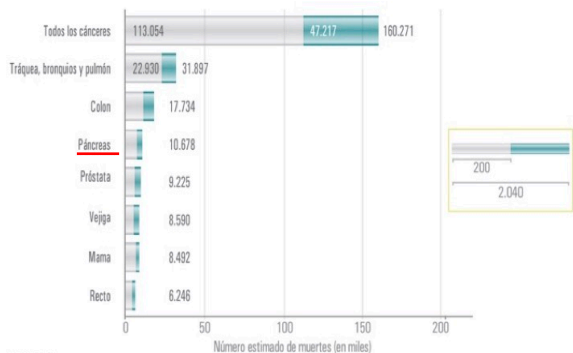


Figura 6. Mortalidad estimada por cáncer en España para 2020 (gris) y 2040 (azul), ambos sexos. Imagen tomada de Informe SEOM, 2023. (16).

Igualmente, los datos de mortalidad por ACDP en España han mostrado una tendencia creciente. A pesar de no ser uno de los cánceres más incidentes, si es uno de los más mortales, actualmente el 3º (ver figura 6) por detrás del cáncer broncopulmonar y el cáncer de colon (CCR). Este mal pronóstico también se refleja en sus cifras de incidencia y mortalidad ajustadas por edad, prácticamente superponibles, que en el año 2022 fueron de 7,6 y 6,7 por cada 100.000 habitantes respectivamente (16).

Además, según registros de los últimos 70 años, el ACDP es el único en nuestro país en el que no se ha conseguido doblar la curva de mortalidad en ambos sexos, junto con el cáncer de pulmón en el sexo femenino, que se atribuye a su más tardía incorporación al hábito tabáquico (16), siguiendo una tendencia también descrita en la mayoría de países europeos. La evolución temporal de la mortalidad de diferentes tumores puede verse en la figura 7.

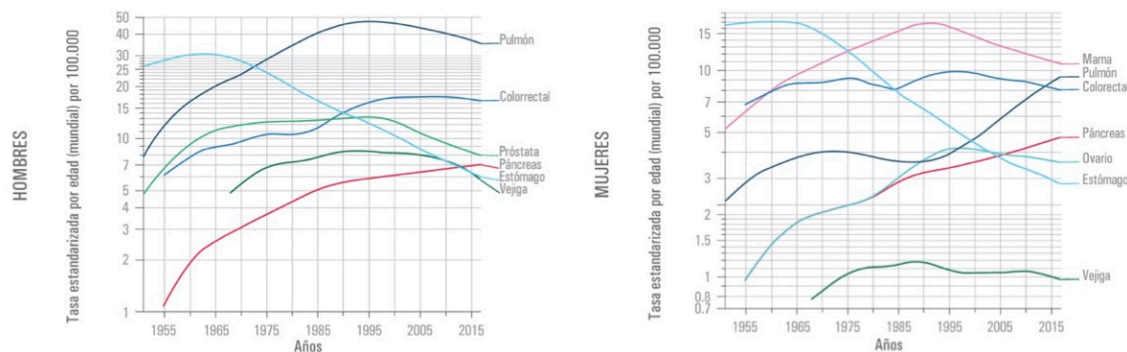


Figura 7. Evolución temporal de la mortalidad estandarizada por distintos tumores en España, por sexos. Imagen tomada de Informe SEOM, 2023 (16)

En los próximos 20 años, se espera que incidencia y mortalidad del ACDP continúen aumentando. Para el año 2030, podría alcanzar el segundo puesto en cuanto a cáncer más mortal en España, y para el año 2040 se prevee que el número de muertes pueda aumentar hasta un 45,9% (15). Esto es consecuencia, sin tener en cuenta posibles fluctuaciones secundarias a modificaciones en el estilo de vida, a cambios demográficos importantes que se esperan en nuestro país, con una progresiva tendencia al envejecimiento. En el año 2015, la población mayor de 70 años suponía el 13,8% del total, mientras que en el año 2040 se calcula que supondrá un 24,1%.

Supervivencia

El ACDP es probablemente el tumor sólido con menor tasa de supervivencia a 5 años (17), manteniéndose actualmente en nuestro país por debajo del 10% para ambos sexos de forma global, y no superior al 3% cuando el diagnóstico se produce en estadios metastásicos. En la siguiente tabla (tabla 3) puede verse una comparativa histórica de las tasas de supervivencia de los diferentes tumores en España, en los períodos 2002-2007 y 2008-2013, observándose que la cifra correspondiente al ACDP es de forma llamativa la menor de todas ellas (16).

| | HOMBRES | | | MUJERES | | |
|------------------------|--------------|--------------|----------------------------|--------------|--------------|----------------------------|
| Tipo de Cáncer | SN 2002-2007 | SN 2008-2013 | % Variación entre periodos | SN 2002-2007 | SN 2008-2013 | % Variación entre periodos |
| Cavidad oral y faringe | 37,4 | 38,2 | 2,1 | 51,6 | 87,2 | 10,9 |
| Esófago | 9,7 | 13,1 | 35,7 | 17,3 | 15,7 | -9,2 |
| Estómago | 24,6 | 26,0 | 5,7 | 30,6 | 30,3 | -1,0 |
| Colon | 57,5 | 63,1 | 9,7 | 59,8 | 63,9 | 6,9 |
| Recto | 64,3 | 68,2 | 6,1 | 58,1 | 62,7 | 7,9 |
| Hígado | 15,2 | 17,9 | 17,8 | 16,4 | 16,2 | -1,2 |
| Vesícula y biliar | 18,5 | 21,8 | 17,8 | 17,8 | 18,8 | 5,6 |
| Páncreas | 5,7 | 7,2 | 26,3 | 7,3 | 10,0 | 37,0 |
| Laringe | 60,6 | 60,0 | -1,0 | 68,5 | 66,1 | -3,5 |
| Pulmón | 11,2 | 12,7 | 13,4 | 16,2 | 17,6 | 8,6 |
| Melanoma | 79,1 | 82,3 | 4,0 | 88,6 | 88,9 | 0,3 |
| Mama | | | | 83,2 | 85,5 | 2,8 |
| Cuello uterino | | | | 64,4 | 65,5 | 1,7 |
| Cuerpo uterino | | | | 74,6 | 74,0 | -0,8 |
| Ovario | | | | 37,5 | 49,0 | 9,1 |
| Próstata | 87,9 | 89,8 | 2,2 | | | |
| Testículo | 86,1 | 89,2 | 3,6 | | | |
| Riñón | 59,8 | 64,8 | 8,4 | 61,4 | 65,8 | 7,2 |
| Vejiga | 72,3 | 73,8 | 2,1 | 72,9 | 75,9 | 4,1 |
| Encéfalo | 18,3 | 20,8 | 7,8 | 21,2 | 24,2 | 14,2 |
| Tiroides | 78,3 | 86,1 | 10,0 | 88,8 | 93,1 | 4,8 |
| Linfoma Hodking | 80,0 | 80,6 | 0,8 | 83,3 | 82,6 | -0,8 |
| Linfoma No Hodking | 57,2 | 62,4 | 9,1 | 63,0 | 68,4 | 8,6 |
| Mieloma | 40,1 | 44,8 | 11,7 | 42,5 | 51,2 | 20,5 |
| LLC | 78,8 | 77,7 | -1,4 | 80,7 | 80,7 | 0,0 |
| LLA | 35,1 | 41,1 | 17,1 | 37,4 | 40,1 | 7,2 |
| LMC | 59,2 | 68,8 | 16,2 | 67,5 | 73,0 | 8,1 |
| LMA | 17,0 | 19,2 | 12,9 | 19,8 | 24,9 | |
| Todos | 52,0 | 55,3 | 6,3 | 59,9 | 61,7 | 4,4 |

Tabla 3. Tasas de supervivencia neta de cáncer a cinco años en adultos (15-99 años), ajustada por edad, en España por sexo, tipo de cáncer y periodo. Adaptado de Informe SEOM, 2023 (16). Abreviaturas: LLC Leucemia Linfoide Crónica, LLA Leucemia Linfoide Aguda, LMC Leucemia Mieloide Crónica, LMA Leucemia Mieloide Aguda, SN Supervivencia neta.

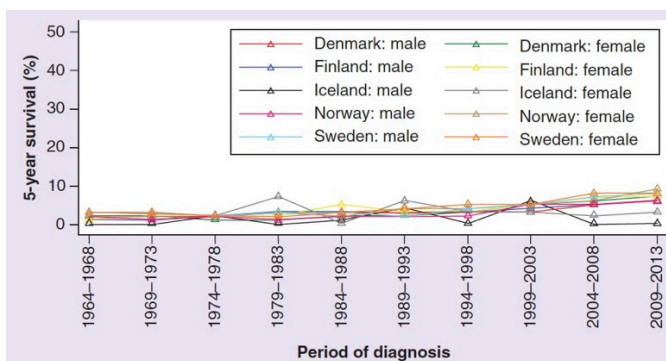
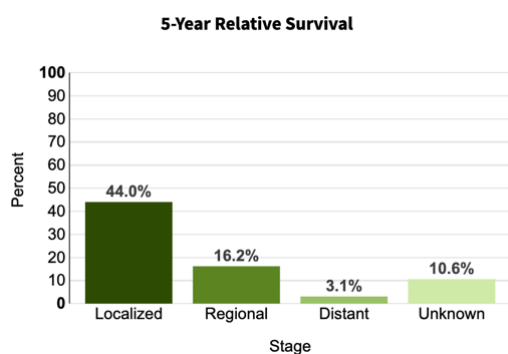


Figura 8. Tendencia temporal de las tasas de supervivencia a 5 años estandarizadas por edad del ACDP en países nórdicos 1964-2013. Imagen tomada de NORDCAN Engholm et al, 2010 (19).

Estas cifras son similares a las referidas por otros países de nuestro entorno (4). Existen datos europeos, como los publicados en los registros de los países nórdicos, que describen tasas de supervivencia pobres y estancadas desde el año 1960, a pesar de las mejoras técnicas que se han venido desarrollando en la cirugía pancreática (figura 8) como la técnica de Whipple (18).



En EE.UU según la SEER (*Surveillance Epidemiology and End Results Program*), la tasa de supervivencia entre 2014-2020 fue del 12,8%, muy ligeramente superior a la europea. En la figura 9 se representan las diferentes supervivencias en EE.UU según el estadio tumoral al diagnóstico, similares a las descritas en Europa y en nuestro país, enfatizando la importancia del diagnóstico precoz (12).

Figura 9. Supervivencia a 5 años en EE.UU según el estadio tumoral. Imagen tomada de Registro SEER, 2022 (12).

También según la SEER, se han observado diferencias raciales en la supervivencia, asociadas a diferencias en la respuesta terapéutica, que se han atribuido en general a variaciones regionales y

económicas, o diferencias en la oportunidad de acceso a la atención sanitaria. Sin embargo, también se han descrito posibles diferencias raciales en las tasas de respuesta a quimioterapia neoadyuvante, que generan la hipótesis de posibles biología tumorales diferentes asociadas a la raza (20)

| ACDP: Tasa de mortalidad por 100.000 personas según raza/etnia y sexo | | |
|--|--|---------|
| HOMBRES | | MUJERES |
| 12,9 | Todas las razas | 9,8 |
| 9,7 | Hispanos | 8,2 |
| 11,5 | No hispanos indios americanos/ Alaska nativos | 9,8 |
| 8,4 | No hispanos asiáticos/ isleños del Pacífico | 7,2 |
| 15,3 | Negros No hispanos | 12,3 |
| 13,2 | Bancos No hispanos | 9,8 |

Tabla 4. Tasa de mortalidad por ACDP por 100.000 habitantes según raza, en EE.UU. Adaptado de Registro SEER, 2022 (12).

b. Factores de riesgo para el desarrollo de ACDP

El incremento observado en la incidencia del ACDP se relaciona probablemente con el progresivo envejecimiento de la población, pero también con otros factores de riesgo como el hábito tabáquico, la obesidad, la diabetes mellitus (DM) o la pancreatitis crónica (PC). Sin embargo, en la mayoría de los estudios publicados no se define una clara relación de causalidad, sino más bien una asociación entre ambos. Es posible clasificar estos factores de riesgo en 3 grupos diferentes: factores individuales y predisposición genética (no modificables), factores relacionados con el estilo de vida (susceptibles de intervención preventiva) y factores relacionados con enfermedades del individuo. Conocerlos bien ayuda a identificar a los pacientes o grupos de pacientes con mayor probabilidad de desarrollar ACDP, y permite mantener sobre ellos una especial alerta diagnóstica.

Factores individuales.

- a) *Edad.* Como hemos comentado, la incidencia aumenta con la edad, alcanzándose el pico máximo entre los 65 y los 75 años. Esta tendencia podría explicarse por cambios morfológicos y patológicos del páncreas relacionados con el envejecimiento. Entre los cambios morfológicos se encuentran el reemplazo graso, la atrofia lobulocéntrica, la ectasia del conducto pancreático o la metaplasia de las células endocrinas, así como otros cambios observados también en las células de los islotes. Sin embargo, los cambios patológicos relacionados con la edad son los más relevantes en la carcinogénesis pancreática, jugando un papel fundamental la disfunción de los telómeros (21). Prácticamente todas las neoplasias pancreáticas son más comunes en pacientes de edad avanzada, desde la neoplasia intraepitelial pancreática (panIN), a los TPPI y el mismo ACDP. Sin embargo, en los últimos años se viene observando una tendencia al diagnóstico más temprano, especialmente en mujeres jóvenes a partir de los 40 años, de causa no del todo aclarada (6).
- b) *Sexo.* El ACDP es más frecuente en el sexo masculino de forma universal, y se espera que esta diferencia aumente en el futuro. Se requieren más estudios que clarifiquen si esto es debido a diferencias genéticas concretas o únicamente responde a diferencias en el estilo de vida (4).
- c) *Raza.* Se han comentado previamente datos de la SEER, según los cuales, la incidencia de ACDP es mayor en la raza negra, seguida por los indios americanos, la raza blanca, hispana y asiática. Existen estudios que atribuyen estas diferencias a factores como la distinta metabolización del humo del tabaco, mayores niveles de tabaquismo o alcoholismo, mayor ingesta calórica, mayor prevalencia de obesidad o diabetes de larga duración, o incluso a un nivel inferior de ingresos (22).

- d) *Grupo sanguíneo*. El riesgo de sufrir ACDP es mayor en individuos con grupo sanguíneo A, B y AB, comparativamente con individuos del grupo 0, con una *odds ratio* (OR) de 1.38 para el grupo A, de 1,47 para el grupo AB y de 1,53 para el grupo B (23,24).
- e) *Predisposición genética*: este factor de riesgo se desarrolla detalladamente más adelante.

Factores relacionados con el estilo de vida.

- a) *Tabaco*. Es el factor de riesgo con evidencia más sólida para el ACDP, que también aumenta el riesgo de fallecer por dicha enfermedad una vez diagnosticada. Se estima que tiene un peso determinante en aproximadamente el 25% de los diagnósticos, siendo el riesgo relativo (RR) atribuido a los fumadores activos de 1,8 y a los exfumadores de 1,2 (25). El riesgo aumenta con la cantidad de cigarrillos consumidos (26–28), especialmente en grandes fumadores que presenten deleciones homocigotas del gen de la enzima metabolizadora de carcinógenos *GSTT1* (*Glutathion-S-Transferasa theta 1*). Fumar más de 30 cigarrillos diarios supone un aumento del RR de 2,2, y el abandono del hábito supone un descenso del RR a 0,6, que se alcanza a los pocos años (29,30).
- b) *Alcohol*. Como el tabaco, se asocia a un aumento del riesgo de padecer ACDP, así como de fallecer por la enfermedad. El riesgo se relaciona con el consumo elevado de alcohol de alta gradación, con o sin relación con el desarrollo de una PC, aunque parece más débil que para el tabaco, siendo la evidencia disponible menos firme. No se ha probado su asociación con consumos bajos de vino o cerveza, aunque si se ha descrito un aumento del riesgo de forma proporcional a la cantidad de alcohol ingerida (31–34).
- c) *Obesidad*. El sobrepeso y la obesidad se han asociado a un mayor riesgo de padecer ACDP de forma independiente y similar en ambos sexos (35), incluso con mayor probabilidad si esta existe ya en el momento de la adolescencia (36). Un metaanálisis publicado en 2013 (37) describió que un IMC mayor de 30 kg/m² podría incrementar el riesgo de padecer ACDP hasta en un 34-36%, sin afectar al pronóstico de los pacientes ya diagnosticados (38). Algunos mecanismos descritos guardan relación con fenómenos inflamatorios y hormonales, incluso existen datos publicados que lo relacionan con la microbiota (39).
- d) *Dieta*. De forma heterogénea, algunos estudios describen la asociación del ACDP con determinados alimentos, que pueden comportarse como factores favorecedores o como factores protectores. Con evidencia limitada, se ha descrito un mayor riesgo asociado al consumo excesivo de carne roja y grasas saturadas, alimentos procesados (40,41), azúcares y bebidas azucaradas (42), té e incluso productos de soja (43). Al contrario, otros estudios atribuyen efectos protectores al consumo de frutas, verduras, frutos secos o cereales integrales (44), café (45–47) e incluso a la Vit D, sin claros resultados concluyentes (48,49).
- e) *Actividad física*. Una actividad física adecuada y constante puede ser factor protector frente al ACDP, habiéndose descrito en un metaanálisis reciente de 14 estudios que la realización de al menos 150 minutos de actividad física de cierta intensidad, con periodicidad semanal, se asoció con una disminución del riesgo de hasta un 15% (RR = 0,85) (50).
- f) *Oligoelementos*. Se ha descrito una asociación positiva entre el riesgo de padecer ACDP y la exposición a metales pesados como el cadmio o el plomo, metales de transición como el hierro, oligoelementos como el arsénico, disolventes, derivados de hidrocarburos, etc. (51–53) y una asociación negativa con la exposición a metales pesados como el níquel y oligoelementos como el selenio, todo ello con evidencia limitada (54).
- g) *Tratamiento crónico con ácido acetil salicílico (aspirina®)*. Un metaanálisis reciente describió un descenso del RR de padecer ACDP de 0,78 (55). Sin embargo, estos resultados no han podido reproducirse en otros estudios de calidad (56).

Factores relacionados con enfermedades del individuo.

- a) *Pancreatitis Crónica (PC) y Aguda (PA)*. Ambas se han asociado con mayor riesgo de ACDP, atribuido a la existencia de daño tisular secundario a fenómenos de inflamación, fibrosis y finalmente alteración del DNA que favorece la aparición de mutaciones genéticas y somáticas celulares. En el caso de la PC, en un metaanálisis actual, se ha estimado un RR de hasta 22,6 (57), aunque guías recientes establecen un valor mucho menor entre 5 y 10 (58). Estas diferencias pueden deberse a la variación del riesgo a lo largo del tiempo. En un metaanálisis de 13 estudios se calculó un riesgo estimado (*overall risk stimated*) de 16,16, dentro de los 2 años siguientes al diagnóstico de PC (59), disminuyendo posteriormente durante el seguimiento. Además, el riesgo no es el mismo para todas las etiologías de la PC, siendo mayor en la etiología hereditaria y menor en la alcohólica (60). A pesar de esta asociación, en la práctica clínica habitual apenas un 5% de las PC desarrollarán ACDP (61), siendo un auténtico reto identificar dentro de este grupo a los individuos más susceptibles. También en el caso de la PA, se ha descrito un riesgo más elevado durante el primer año tras el episodio agudo, lo que se interpreta como que el propio tumor pudo ser responsable del episodio por obstrucción de algún ducto pancreático. Esta información sustenta la recomendación de realizar siempre una prueba de imagen tras un episodio de PA presuntamente idiopática, especialmente en mayores de 50-60 años (62).
- b) *Diabetes Mellitus (DM)*. Existe una relación compleja y bidireccional entre el ACDP y la DM tipo II, caracterizada por la resistencia a la insulina, secreción insuficiente y anormal metabolismo glucídico (63). Son múltiples los estudios que encuentran relación temporal entre el diagnóstico de este tipo de DM y el de ACDP poco tiempo después, con un RR hasta 7 veces mayor (64), especialmente si el paciente asocia una pérdida de peso significativa y no explicada por otros motivos, o tiene una edad avanzada (65). En este caso se considera que es posible que sea el efecto metabólico del cáncer el que esté promoviendo la aparición de la diabetes, aunque se desconoce el mecanismo exacto. Por esto se considera que un debut diabético en un paciente sin antecedentes familiares de diabetes ni síndrome metabólico asociado debe ser motivo para despistaje de ACDP (66,67). Pero también los pacientes prediabéticos (68) y diabéticos de larga duración parecen tener mayor riesgo para este tumor, como muestran múltiples publicaciones (69), habiéndose descrito una asociación entre el empeoramiento del control glicémico (aumento de las cifras de glucemia basal) y el riesgo de ACDP. Se estima que el RR de los diabéticos no insulino dependientes es de aproximadamente 2, en especial dentro de los 2-3 primeros años del diagnóstico, permaneciendo durante al menos los 8 años posteriores (66). También se ha investigado la relación de los fármacos antidiabéticos y el ACDP, con resultados dispares. Mientras que la insulina y las sulfonilureas parecen asociarse a mayor riesgo en algunos estudios, la metformina se asocia a un menor riesgo e incluso a una mejor supervivencia (70,71), siendo necesario el mayor desarrollo de este área de conocimiento.
- c) *Infección por H pylori*. Algunos estudios describen un aumento del riesgo asociado a las cepas cytotoxin-associated gene-A- Positive (72).
- d) *Infección por VHB*. Existen estudios que refieren un mayor riesgo, aunque su relación causal sigue por determinar (73-75).
- e) *Lesiones Quísticas Pancreáticas*. El mayor riesgo de ACDP está presente en las lesiones quísticas de estirpe mucinosa. Este tema se desarrollará minuciosamente en el segundo capítulo de esta tesis.

Todos estos factores de riesgo y factores preventivos descritos de forma individual se resumen en la tabla 5, representándose gráficamente su relevancia, según la evidencia actual disponible basada en diferentes publicaciones, y la calidad de la misma.

| Factores de riesgo y prevención en ACDP | |
|---|--------|
| Factores | Riesgo |
| Individuales | |
| Edad | +++ |
| Mutaciones genéticas | +++ |
| Raza (negra) | ++ |
| Historia familiar | + |
| Género | + |
| Grupo sanguíneo (A/B/AB) | + |
| Estilo de vida y ambiente | |
| Exposición a hierro, cadmio, arsénico, lead | ++ |
| Carne roja y procesada | + |
| Comidas y bebidas edulcoradas | + |
| Alcohol | + |
| Tabaco | + |
| Obesidad | + |
| Productos de Soja | (+) |
| Exposición a selenio y níquel | (-) |
| Café | (-) |
| Vitamina D | (-) |
| Verduras, frutas, frutos secos, cereales | - |
| Actividad física | - |
| Aspirina | - |
| Enfermedades | |
| Pancreatitis Crónica | +++ |
| DM2 | ++ |
| VHB | ++ |
| Lesiones quísticas de páncreas | + |
| Helicobacter Pylori | + |

Tabla 5. Resumen de los distintos factores de riesgo y factores preventivos descritos en la literatura para el ACDP. Adaptado de Cai J et al, 2021 (76). Notas: +++ = riesgo muy alto (> x 3); ++ = riesgo alto (x 2-3); + = riesgo moderado (x 1-2); - = reducción del riesgo. Entre paréntesis () indica asociación probable pero no completamente establecida. Abreviaturas: ACDP adenocarcinoma ductal pancreático; DM2: diabetes Mellitus tipo 2, VHB: virus de la Hepatitis B.

c. Predisposición Genética

Como ya se ha comentado previamente, el riesgo de padecer ACDP a lo largo de la vida para la población general es aproximadamente del 1.3%, habiéndose definido a los individuos de alto riesgo como aquellos en los que el riesgo acumulado equipara o supera el 5% (77).

Aproximadamente el 85-90% de los casos con ACDP son esporádicos, el 5-10% presentan riesgo familiar (78,79), y el 3-5% presentan síndromes genéticos hereditarios (80), que incluyen mutaciones de células germinales y somáticas (81). De mayor a menor riesgo, los síndromes hereditarios o con predisposición genética para el ACDP conocidos son:

- **Síndrome de Peutz-Jeghers**, ocasionado por una mutación en el gen *STK11* (*serine/threonine kinase 11*), también conocido como *LKB1*. Se caracteriza por la aparición de pólipos hamartomatosos en el tramo gastrointestinal o en las mucosas, con mayor riesgo de CCR, y un RR para ACDP de hasta 132 y un riesgo acumulado (RA) a lo largo de la vida del 36% (82). La edad media de desarrollo es de 40,8 años (83).
- **Pancreatitis Hereditaria**, se presenta como una PC precoz con reagudizaciones recurrentes, y se asocia a mutaciones en los genes *PRSS1* (*serine protease 1*, la más frecuente), *SPINK1*, *PRSS2*, *CTRC* (*chymotrypsin C*) y *CFTR* (*Cystic fibrosis*, menos frecuentemente), con un RR entre 26 y 87 para ACDP, según diferentes estudios (84,85). El RA calculado a lo largo de la vida varía entre 7.2% y 53.5% (86,87). La edad media de desarrollo es de 54 años.

- **Síndrome Familiar atípico de la Mola-Melanoma Maligno, o Mola-Melanoma Múltiple, (SFMMM)** asociado en un 30-40% de los casos a la inactivación del gen supresor de tumores *CDKN2A/p16* (80), con RR variable entre 20-47 (88). Presenta un patrón de herencia autosómica dominante, pero de penetrancia incompleta. Se caracteriza por la aparición de múltiples nevos cutáneos que progresan a melanoma. El RA calculado a lo largo de la vida asciende hasta el 17% (88). La edad media de desarrollo es de 59 años.(83)
- **Síndrome de Lynch**, ocasionado por la alteración en los genes reparadores de errores en la replicación *MLH1 (MutL homolog 1)*, *MSH2 (MutS homolog 2)*, *MSH6*, o *PMS2 (PMS1 homolog 2)*), asociados también a mayor riesgo de otros tumores como CCR, vías urinarias o endometrio. Presenta un RR para ACDP en torno a 10 (81). La tasa de mutación de estos genes reportadas en pacientes con ACDP es de 0,5% (89). Evidencia reciente indica que el ACDP en pacientes con Síndrome de Lynch es más frecuente en mutaciones *MLH1* con un riesgo 8,6 veces superior para ACDP y un RA de 3,7% a lo largo de la vida (90,91).
- **Síndrome de Li-Fraumeni** se debe una mutación del gen tumor-supresor *TP53*, que se asocia a múltiples tumores sólidos y hematológicos, incluido el ACDP. El RR atribuido a esta mutación se sitúa en torno al 7-8. El RA a lo largo de la vida es inferior al 5% (92,93).
- **Enfermedad neurológica Ataxia-Telangiectasia** en un trastorno genético recesivo debido a la alteración patogénica del complejo reparador *ATM (Ataxia telangiectasia mutated)* en ambas copias del gen. Sin embargo, la presencia unilateral de esta mutación es relativamente frecuente en la población y su presencia se asocia a mayor riesgo de ACDP especialmente si existe historia familiar. El RR se sitúa alrededor de 4 y el RA a lo largo de la vida en este caso también es inferior a 5% (92,94).
- **Síndrome del cáncer hereditario de mama y ovario. Mutaciones *BRCA1 (Breast cancer gene 1)*, *BRCA2 (Breast Cancer gene 2)* y *PALB 2 (partner and localizer of BRCA2)*** (95). Las mutaciones *BRCA2* son el factor genético más frecuentemente identificado, reconociéndose en hasta en 5-17% de los casos de cáncer de páncreas familiar, con un RR de 3,5-6,2 (96) y un RA de 7,4. Las mutaciones *PALB2* se estima que confieren un riesgo similar (97,98). Ambas se identifican hasta en el 7% del total de pacientes con ACDP (99) y también se relaciona con la Anemia de Fanconi, que presenta igualmente mayor susceptibilidad para este tumor (100). *BRCA1* supone un riesgo algo menor (RR 2,2 y RA de hasta 3,8%) (101)
- **Cáncer pancreático familiar.** Se considera en pacientes con ACDP y 2 o más familiares de primer grado afectados, o bien, 3 o más familiares de cualquier grado afectados, siendo al menos 1 de ellos de primer grado, que no cumplen criterios para ningún otro síndrome hereditario (aunque en un 10-15% de los casos se identificará una mutación germinal). El riesgo esta influenciado por el número de familiares afectados y su parentesco. Así, cuando el número de familiares de primer grado afectados es 1, el RR es de 4,6, que se eleva hasta 6,4 si son 2 (102) (RA a lo largo de la vida del 8-12%) y hasta 32 (103) si son 3 o más (RA del 40%). Además, si el diagnóstico es temprano (antes de los 50 años) el riesgo todavía se incrementa más (RR 9.3) (104).

En la siguiente tabla se resumen estos síndromes junto a su RR para ACDP:

| Genes | Síndrome | Riesgo de ACDP |
|---|-------------------------------------|--------------------------------|
| <i>STK11/LKB1</i> | Síndrome Peutz-Jeghers | RR, 132 (IC 95%, 44-261) |
| <i>PRSS1</i> | Pancreatitis hereditaria | SIR, 53 (IC 95%, 23-105) |
| <i>CDKN2A</i> | Síndrome de la Mola-Melanoma | RR, 13-39 |
| <i>MLH1, MSH2, MSH6</i> | Síndrome de Lynch | RR, 8,6-11 |
| <i>TP53</i> | Síndrome de Li-Fraumeni | RR, 7,3 (CI 95%, 2-19) |
| <i>ATM</i> | NA | RR, 3,92 (IC 95%, 0,44-14,2) |
| <i>BRCA1</i> | Cáncer de mama y ovario hereditario | RR 2,26 (IC 95%, 1,26-4,06) |
| <i>BRCA2, PALB2</i> | | RR 3,5-6,2 (IC 95%, 1,87-6,58) |
| Cáncer familiar en 1-2 familiares de 1er grado | Cáncer de páncreas familiar | RR, 4-9,3 |

Tabla 6. Riesgo de ACDP en población de riesgo genético, según distintas mutaciones. Adaptada de Aslanian et al, 2020 (83).
Abreviaturas: NA No aplicable, RR: Riesgo Relativo, SIR Standardized Incidence ratio.

De todas las mutaciones descritas, las más frecuentemente identificadas en pacientes con ACDP son *BRCA 1-2* (sobre todo *BRCA2*), *ATM*, *PALB2* y *CDKN2A/p16*, y menos frecuentemente *APC*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *PRSS1* y *STK11* (97). Por síndromes genéticos, el más frecuente es el Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (*BRCA 1-2*, *PALB2*) con 5-9% del total de ACDP y la mutación unilateral del gen *ATM* con 3-4%, presentando el resto de síndromes una frecuencia < 1% (Síndrome de la Mola-Melanoma familiar atípico (*CDKN2A*, *p16*), Síndrome de Lynch (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y *EPCAM*), la Pancreatitis Hereditaria (*PRSS1* y *SPINK1*) y Síndrome de Peutz-Jeghers (*STK11*) (105).

d. Síntomas, diagnóstico y estadificación del ACDP.

Presentación clínica

El ACDP se caracteriza por ser un tumor silente y oligosintomático, especialmente durante los estadios precoces de la enfermedad. El estudio SYMPTON publicado en 2016 (106) comparó cohortes de pacientes mayores de 40 años con síntomas digestivos y sospecha de ACDP, que finalmente fueron diagnosticados de ACDP, frente a otros con diagnóstico de tumor digestivo de otra localización, y otros en los que no se identificó patología tumoral. Los síntomas comunes más frecuentes fueron tan inespecíficos como la pérdida de apetito, las molestias postprandiales o el cambio en el ritmo deposicional, sin observarse diferencias entre grupos en cuanto a la frecuencia de estos o a los intervalos de aparición. Se identificaron algunos síntomas que se asociaron con un menor intervalo de diagnóstico, como la ictericia o la pérdida de peso, frente a otros que al contrario alargaban este intervalo como la diabetes (preexistente o de debut) o la presencia de síntomas ansioso-depresivos. Este estudio demuestra como la vaguedad e inespecificidad de los síntomas del ACDP, hacen que su diagnóstico requiera de un elevado índice de sospecha en pacientes que reúnan factores de riesgo, aunque en ocasiones, también puede detectarse de forma incidental durante un estudio realizado por síntomas diversos. Es importante siempre tener en cuenta factores distractores como la diabetes (de debut o empeoramiento de diabetes preexistente) o la depresión, que pueden retrasar el diagnóstico (83).

Con relación a la diabetes, como ya se ha comentado previamente, se recomienda prestar especial atención al debut diabético asociado a pérdida de peso, de difícil control glucémico y no asociado a síndrome metabólico (107). Se ha descrito que este puede estar presente hasta en un 15-20% de los pacientes con ACDP, y hasta un 80% de pacientes no diabéticos la desarrollarán durante el progreso de su enfermedad (108). Se estima que cuando un paciente desarrolla diabetes, presenta un RR de ACDP de 5,4 durante el primer año, que se reduce a 1,5 a los cinco años (69).

El ACDP tiene diferente forma de presentación según se localice en cabeza-cuello pancreáticos o cuerpo-cola. En el primer caso, los síntomas que condicionan la búsqueda de atención médica suelen ser la ictericia y/o la coluria (49%) secundarias a la obstrucción biliar, aunque a la anamnesis, la pérdida de peso inexplicada (55%) y la anorexia (48%) suelen estar ya presentes, frecuentemente acompañadas de síntomas de insuficiencia pancreática exocrina (IPE) como la diarrea (25%). En el segundo caso, los síntomas de presentación son incluso más inespecíficos al no verse comprometido el drenaje biliar, pero es más frecuente la invasión de estructuras vasculares (vasos celíacos, hepáticos, mesentéricos superiores y porta), condicionando con frecuencia un dolor insidioso de moderada intensidad, epigástrico o dorsal, que empeora con la ingesta o al acostarse en decúbito supino. En estos tumores distales, el síndrome constitucional (anorexia y pérdida de peso) que normalmente traduce una enfermedad ya avanzada, suele estar también presente ya al diagnóstico (109).

Aproximadamente en un 3% de los pacientes diagnosticados de ACDP, puede identificarse un episodio de pancreatitis aguda (PA) como síntoma de debut, que suele actuar como un factor distractor y condicionar un retraso en el diagnóstico. Por ello, en todo episodio grave o leve de PA en individuos mayores de 50-60 años, sin un factor etiológico identificado, se aconseja la realización de una prueba de imagen que descarte un ACDP subyacente (110,111).

Otros síntomas menos habituales son el ya comentado síndrome depresivo, la obstrucción gastrointestinal por infiltración tumoral, o el síndrome de Trousseau (tromboflebitis superficial, a veces migratoria) así como otras complicaciones tromboembólicas, más habituales en tumores distales por la proximidad de estructuras vasculares. Más infrecuentemente pueden aparecer síntomas cutáneos para-

neoplásicos como la paniculitis pancreática (áreas de eritema subcutáneo, normalmente en extremidades inferiores, secundarias a necrosis grasa), que suelen asociarse más a carcinoma acinar de páncreas. También está descrita la presencia de adenopatías supraclavilares o masas periumbilicales, como el conocido nódulo de la hermana María José (109), y que indican una enfermedad ya diseminada.

Análisis de sangre

Se recomienda la realización de una analítica sanguínea que incluya bioquímica general con función renal, bilirrubina total y fraccionada con perfil hepático (transaminasas y enzimas de colestasis), hemograma y estudio de coagulación. La presencia o no de colestasis analítica, leucocitosis y/o coagulopatía, permitirá valorar el compromiso de la vía biliar y/o la presencia de colangitis, complicación sin embargo raramente asociada al ACDP. En caso de caquexia o diarrea, puede completarse con marcadores nutricionales (albúmina, prealbúmina, apolipoproteínas, proteína transportadora del retinol (PTR), etc...), vitaminas liposolubles y oligoelementos, así como elastasa fecal, para detectar la existencia de insuficiencia pancreática exocrina (IPE) asociada.

Marcadores tumorales

El **Ca 19.9** (Antígeno Carbohidrato 19.9) es una glucoproteína relacionada con el antígeno del grupo sanguíneo Lewis que se eleva en diversas enfermedades pancreáticas y hepatobiliares, en las colestasis y en diversos tumores (páncreas, estómago, colon, hígado, vías biliares, ovario, endometrio, urotelio, etc...) por lo que no es tumor-específico. Por otra parte, al pertenecer al grupo de antígenos del grupo de Lewis, la población con grupo sanguíneo Lewis-negativo no lo sintetiza, siendo uno de los más habituales falsos negativos (112). El antígeno *Duke pancreatic monoclonal antigen type 2* (DUPAN-2), precursor del Ca 19.9, puede ayudar a establecer el pronóstico de estos pacientes, pero actualmente se encuentra en investigación y no disponible en la práctica diaria (113,114). A pesar de ello, el Ca 19.9 es el único biomarcador para ACDP aceptado por la Food and Drug Administration (FDA) y la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) (115,116), por ser el único que ha demostrado utilidad diagnóstica con una precisión en torno al 77%, una sensibilidad entre 70-92% (según el tamaño tumoral) y una especificidad entre 68-92% (117,118). Además, en enfermedad potencialmente resecable, valores por encima de 100 U/ml pueden predecir enfermedad metastásica oculta, así como menor probabilidad de cirugía R0, y en enfermedad avanzada se considera valor pronóstico desfavorable (119,120), útil para monitorizar la respuesta al tratamiento oncológico, permitiendo sospechar recaídas en pacientes con tratamiento quimioterápico antes de que se identifiquen en los controles por imagen (117).

El **CEA** es una glicoproteína de la familia de las inmunoglobulinas de moléculas de adhesión que se descubrió en 1965 en la mucosa embriológica del colon y tejido de CCR (121). Su sensibilidad y especificidad son bajas para el diagnóstico de ACDP y puede elevarse en otras circunstancias como en pacientes fumadores, colecistitis, cirrosis hepática, enfermedad inflamatoria intestinal y COVID (122,123). Es además un biomarcador establecido para otros tumores como el CCR, cáncer de mama y cáncer de pulmón (124). Aunque se utiliza rutinariamente como marcador en el diagnóstico del ACDP, no está aprobado por la FDA con esta finalidad, y existen metaanálisis recientes que demuestran su limitada utilidad (125). También está descrito que sus niveles pueden elevarse en pacientes con PC, por lo que tampoco sería capaz de distinguir entre esta entidad y un posible ACDP subyacente (126). A pesar de ello, hay investigaciones que consideran que puede aportar información diagnóstica o como predictor de supervivencia y de recurrencia. Últimamente se ha descrito cierta utilidad como indicador de ACDP avanzado al diagnóstico (127) y como marcador de resecabilidad tras tratamiento neoadyuvante para ACDP localmente avanzado (128). También se especula sobre su utilidad como predictor de malignización en TPMI (129).

Existen otros biomarcadores no utilizados de forma habitual, pero que incluso se muestran en algunas publicaciones como superiores al CEA para el diagnóstico de ACDP. Entre ellos se encuentran el Ca 125 (marcador conocido del cáncer de ovario) (130,131), o el Ca 242 que, a pesar de mostrar una correlación positiva con los niveles de Ca 19.9 (132,133), tiene un valor limitado como marcador único porque sus niveles en sangre se elevan en pacientes con DM tipo 2 (130,131). Aunque ninguno de estos biomarcadores ha destacado en todas las cohortes de pacientes estudiadas, a menudo se examinan, con

aparentes mejores resultados, como parte de paneles de biomarcadores, junto a nuevos biomarcadores en investigación (124). Algunos de estos nuevos biomarcadores se describirán superficialmente más adelante, ya que su utilidad no sólo se analiza para el diagnóstico del paciente sintomático, sino también para el diagnóstico precoz (*screening*), pudiendo ser en un futuro también útiles para monitorizar la respuesta al tratamiento evaluando la resistencia terapéutica del tumor. La mayoría no se encuentran actualmente disponibles en la práctica clínica rutinaria (134).

Pruebas de imagen

La angiografía por tomografía axial computarizada (angio-TAC) toraco-abdomino-pélvica se recomienda en el momento del diagnóstico para estadificar la enfermedad. Debe incluir fase arterial (40-50 segundos) y venosa o portal (65-70 segundos). EL ACDP suele identificarse como una masa hipoecogénica, homogénea, y con márgenes mal definidos (135). Localmente, el angio-TAC aporta información sobre el tamaño y localización dentro de la glándula pancreática, evaluando la anatomía vascular (venas Mesentérica Superior y Porta, así como las arterias Celíaca, Hepática y Mesentérica Superior) y su contacto con el tumor, si existe ($> 0 < 180^\circ$), que es lo que condicionará su resecabilidad en enfermedad localizada. También permite realizar la estadificación a distancia, identificando adenopatías y metástasis a otros órganos, cuyas localizaciones más habituales son el hígado (90%), los ganglios linfáticos (25%), el pulmón (25%), el peritoneo (20%) y los huesos (10%-15%) (136).

La resonancia magnética (RM) pancreática, normalmente asociada a colangio-resonancia (CPRM), presenta sensibilidad y especificidad similares a la angio-TAC para la estadificación del ACDP, con los inconvenientes de su mayor coste y menor disponibilidad. Puede mejorar la caracterización de lesiones hepáticas indeterminadas o masas pancreáticas pobremente caracterizadas en la TAC, por ser isoecogénicas, o encontrarse en el contexto inflamatorio de PC o PA, por lo que suele reservarse para estas situaciones.

La ultrasonografía endoscópica (USE) permite visualizar y caracterizar morfológicamente cualquier masa pancreática, pero también confirmar el diagnóstico citológico o histológico definitivo mediante la realización de PAAF (punción aspiración con aguja fina) o BAG (biopsia con aguja gruesa), así como definir la relación del tumor con las estructuras vasculares de proximidad, identificar ganglios linfáticos loco-regionales sospechosos de infiltración tumoral, y en conjunto, realizar un estadiaje loco-regional detallado que permita evaluar la posibilidad de una resección completa R0 (137).

La colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) permite evaluar la obstrucción biliar secundaria al tumor, y su descompresión mediante la colocación de endoprótesis biliares, preferiblemente metálicas. Se trata de una prueba invasiva con posibilidad de complicaciones post-procedimiento, y por este motivo se considera hoy en día una técnica terapéutica y no diagnóstica.

La tomografía por emisión de positrones-TC (PET-TC) con un trazador de fluorodesoxiglucosa es una herramienta de imagen funcional que evalúa el metabolismo de la glucosa en el tumor y puede ayudar a distinguir lesiones benignas y malignas; sin embargo, carece de resolución espacial y puede captar falsos positivos en focos infecciosos o inflamatorios. Por todo esto, no se recomienda como herramienta de estadificación rutinaria (138), reservándose para casos concretos.

Estadificación tumoral del ACDP.

En la estadificación del ACDP se utilizan dos clasificaciones diferentes (139), con diferente finalidad e interpretación:

1. **La clasificación TNM** se basa en el tamaño del tumor primario (T), la existencia o no de ganglios linfáticos afectados (N) y la presencia o no de metástasis a distancia (M). En la tabla 7 se observa según descripción de la *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*, octava edición de 2017 (140). Según las diferentes combinaciones de T, N y M, la AJCC establece 4 estadios o grupos pronósticos que numera del I al IV, y que sirven para predecir la supervivencia esperada del paciente. Esta clasificación TNM es comúnmente utilizada por la mayoría de tumores de otras localizaciones, con definiciones de T, N y M adaptadas a casa tipo tumoral.

| CLASIFICACIÓN TNM PARA EL ACDP | | | |
|---|--|---|--|
| T: Tumor Primario | Tx: no puede ser evaluado T 0: Sin evidencia de T Tis: carcinoma <i>in situ</i> * T 1: T ≤ 2cm -T1a ≤ 0,5 -T1b > 0,5cm y > 1cm -T1c entre 1-2cm T 2: > 2cm y ≤ 4cm T 3: > 4cm T 4: Invade TC, AMS y/o AHC (independientemente del tamaño) | N: Nódulos linfáticos regionales | N x: no puede ser evaluado N 0: sin nódulos linfáticos N 1: de 1-3 Nódulos linfáticos N 2: ≥ 4 Nódulos linfáticos |
| * Incluye Neoplasia Intraepitelial de Alto Grado (PanIN-3), TPML con DAG, neoplasia tubulopapilar intraductal con DAG y MCN con DAG | | M: Metástasis a distancia | M 0: No metástasis M 1: Metástasis |
| Estadio 0: Tis N0 M0 Estadio IA: T1 N0 M0 Estadio IB: T2 N0 M0 | Estadio IIA: T3 N0 M0 Estadio IIB: T1-3 N1 M0 | Estadio III: T4, cualquier N, M0 T1-3, N2, M0 Estadio IV: cualquier T y N, M1 | |

Tabla 7. Clasificación TNM para el ACDP. Adaptada de Amin M et al, 2017 (140). **Abreviaturas:** ACDP: Adenocarcinoma Ductal Pancreático; AHC: Arteria Hepática Común; AMS: Arteria Mesentérica Superior; DAG: Displasia de alto grado; MCN: Cistoadenoma Mucinoso; TC: Tronco Celiaco; TPML: Tumor Mucinoso Papilar Intraductal

2. **La clasificación según Criterios de Resecabilidad** es una segunda clasificación más orientada a la toma de decisiones terapéuticas, basada en criterios morfológicos de las pruebas de imagen y el contacto del tumor con estructuras vasculares arteriales o venosas (141,142). Es exclusiva del ACDP y establece 4 categorías, según la probabilidad de cirugía R0: tumores **resecables**, **borderline-resecables**, **localmente avanzados (no resecables)** y **metastásicos** (ver figura 9), tal y como se resume en la siguiente tabla:

| CRITERIOS PARA DEFINIR RESECABILIDAD | | |
|--------------------------------------|---|--|
| RESECABILIDAD | ARTERIAL Tronco Celiaco (TC) Arteria Mesentérica Superior (AMS) Arteria Hepática Común (AHC) | VENOSO Vena Mesentérica Superior (VMS) Vena Porta (VP) Vena Cava Inferior (VCI) |
| RESECABLE | Sin contacto con estructuras arteriales | Sin contacto con estructuras venosas o contacto ≤ 180° sin irregularidad en el contorno venoso |
| BORDERLINE-RESECABLE | <u>Cabeza y proceso uncinado</u> - Contacto con AHC sin extensión al TC o a la bifurcación de la AHC permitiendo resección y reconstrucción - Contacto ≤ 180° con AMS - Contacto con alguna variante anatómica arterial* que no afecte al margen quirúrgico calculado <u>Cuerpo-cola</u> - Contacto con el TC ≤ 180° | Contacto con la VMS o VP > 180° Contacto con VMS o VP ≤ 180° pero con irregularidad del contorno vascular o trombosis venosa, pero con extremo venoso proximal y distal adecuado que permitan resección y reconstrucción Contacto con la VCI |
| LOCALMENTE AVANZADO | <u>Cabeza y proceso uncinado</u> - Contacto > 180° con TC o AMS <u>Cuerpo-cola</u> - Contacto > 180° con TC o AMS - Contacto con TC e infiltración aórtica | Imposibilidad de reconstrucción venosa (VMS o VP) por infiltración u oclusión (tumoral o trombótica) |
| METASTÁSICO | Metástasis a distancia | Metástasis a distancia |

Tabla 8. Clasificación según criterios de resecabilidad para ACDP. Adaptada de NCCN Guidelines Tempero et al, 2024 (143). **Notas:** *Ejemplo: arteria hepática accesoria, variante de arteria hepática derecha o arteria hepática común y variantes de su origen.

En la siguiente imagen puede observarse la localización retroperitoneal de la glándula pancreática y su relación con las diferentes estructuras vasculares y órganos de proximidad. A la derecha se representan diferentes ACDP en los diferentes estadios de resecabilidad local: resecable, *borderline*-resecable y localmente avanzado.

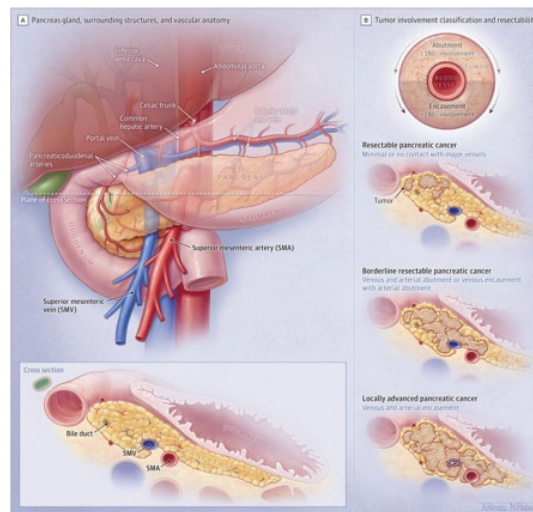


Figura 10. Localización retroperitoneal de la glándula pancreática y su relación con órganos de proximidad y estructuras vasculares. A la derecha se representan las diferentes categorías de resecabilidad. Imagen tomada de Park et al, 2021 (105).

e. Tratamiento del ACDP

Como ya se ha comentado, el único tratamiento potencialmente curativo del ACDP es la resección quirúrgica radical del tumor primario, o resección R0. Esta cirugía se caracteriza por presentar márgenes de resección libres de tumor en el análisis AP de la pieza quirúrgica, para lo cual, debe existir una distancia mínima de 1 mm entre las células tumorales y el margen quirúrgico libre (143), incluyendo los ganglios linfáticos regionales. Desafortunadamente, solo una minoría de pacientes (entre el 15-20%) son considerados como técnicamente elegibles para cirugía en el momento del diagnóstico (105), es decir, con alta probabilidad de cirugía R0, una vez finalizado el estudio de extensión.

Desde el punto de vista quirúrgico, esta decisión debe consensuarse de forma multidisciplinar en el seno de Comités de Tumores pancreato-biliares, y se basa en los criterios de resecabilidad comentados previamente. Estos comités multidisciplinarios están conformados por los principales especialistas implicados en el manejo de esta enfermedad, como gastroenterólogos clínicos y endoscopistas, cirujanos, radiólogos, anatomopatólogos, oncólogos médicos y oncólogos radioterápicos. De igual modo, se recomienda que estos pacientes sean tratados en centros terciarios de alto volumen, en los que se realicen como mínimo 15-20 resecciones pancreáticas al año (143) y que dispongan de las tecnologías de diagnóstico y tratamiento más avanzadas.

La precisión de la estadificación tumoral, basada en las pruebas de imagen radiológicas, es imprescindible. Lo más complicado es establecer la resecabilidad de los casos con afectación exclusivamente loco-regional (páncreas y ganglios linfáticos regionales), es decir, identificar con precisión los estadios resecables y *borderline*-resecables, diferenciándolos de los localmente avanzados.

Tumores resecables y *borderline*-resecables.

Los tumores clasificados como resecables son aquellos con mayor probabilidad de conseguir una resección R0 en base a diferentes guías de práctica clínica (GPC) (116,143). Los tumores *borderline*-resecables son aquellos que, aun siendo técnicamente resecables, presentan mayor probabilidad de resección incompleta, por lo que en estos casos se recomienda tratamiento neoadyuvante previo a la

cirugía (quimioterápico o radioquimioterápico) con objeto de conseguir una estadificación más favorable (*down-staging*).

No obstante, incluso cuando se logra una resección R0, la recurrencia del tumor durante los 2 años siguientes es superior al 80%, fundamentalmente por el desarrollo de metástasis a distancia. Por ello, cada vez se tiene más en cuenta la alta probabilidad de que existan micrometástasis indetectables por las técnicas diagnósticas actuales, y en los años más recientes se han venido ampliando las indicaciones de tratamiento sistémico prequirúrgico (neoadyuvante) a prácticamente todos los candidatos a cirugía por ACDP. Esta recomendación es aplicada cada vez por más expertos (144,145), con la posible excepción de tumores resecables de muy pequeño tamaño (< 2,5cm) y con valores de Ca 19.9 < 100 U/mL (146).

El tratamiento quimioterápico neoadyuvante tiene además otras ventajas como el hecho de ser mejor tolerado por el paciente, que se evita el tiempo de latencia postquirúrgico de recuperación, y que permite realizar lo que se conoce como “test biológico de respuesta y evolución temporal del tumor”, que valora la efectividad de la quimioterapia como medida indirecta de la agresividad tumoral (147). El régimen estándar actual debe basarse en esquemas de alta tasa de respuesta comprobados en enfermedad metastásica, que son FOLFIRINOX (fluorouracil, irinotecan, leucovorin y oxaliplatin), o Gemcitabina con nab-paclitaxel (148), que en casos seleccionados pueden combinarse con radioterapia. Una vez superada la cirugía, los pacientes pueden recibir tratamiento oncológico adyuvante siempre que pueda iniciarse en las primeras 12 semanas. En este caso, los regímenes disponibles serían Gemcitabina en monoterapia durante 6 meses, 5-FU/LV (5 fluorouracil/leucovorin) durante 6 meses o Gemcitabina y Capecitabina combinados. Si se sospecha resección R1, puede añadirse radioterapia, siempre que no se haya recibido previamente durante la neoadyuvancia.

No obstante, junto a estos criterios de orden técnico quirúrgico, a la hora de tomar la decisión terapéutica, se deben considerar también otros criterios con relación a la condición general del paciente, que nos permitan predecir una adecuada tolerancia. Estos criterios son la edad, la situación basal medida mediante a escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*), posibles comorbilidades asociadas, la esperanza de vida, diferentes escalas de riesgo quirúrgico...etc. que pueden influir decisivamente en la supervivencia y calidad de vida postquirúrgicas. En este punto es de nuevo fundamental la decisión multidisciplinar consensuada en el comité de tumores.

Una vez decidida la indicación de cirugía, existen dos posibles complicaciones preoperatorias derivadas de la propia fisiopatología tumoral, que deben identificarse y tratarse previamente a la misma: la ictericia obstructiva y la desnutrición.

La ictericia es secundaria a la obstrucción biliar, especialmente en tumores localizados en cabeza pancreática. Existe cierta controversia sobre los beneficios del drenaje biliar preoperatorio (DBP) porque, si bien podría mejorar el estado general y la función hepática, también puede dificultar la resección posterior por el proceso inflamatorio periprotésico, o complicarse con una colangitis/pancreatitis o sangrado post-CPRE, que acabarían demorando la cirugía. Si bien es cierto que no parece aumentar la morbimortalidad postquirúrgica, tampoco presenta un claro beneficio en términos de supervivencia. Por todo esto, su realización rutinaria no se recomienda, quedando limitada a pacientes con bilirrubina sérica superior a 15 mg/dl en los que la cirugía no pueda programarse de forma precoz (decalaje superior a 2 semanas), o bien casos sintomáticos (colangitis aguda o prurito intratable), así como siempre que exista indicación de quimioterapia neoadyuvante (149,150).

En cuanto a la desnutrición, es consecuencia del síndrome constitucional inherente al proceso neoplásico, unido a la posible IPE condicionada por la pérdida de parénquima pancreático funcional y la frecuente obstrucción tumoral del conducto pancreático. Más del 80% de los pacientes presentan una pérdida de peso significativa al diagnóstico (> 5%), que es superior al 10% en un tercio de los casos, y hasta el 65% cumplen criterios de sarcopenia. Distintos metaanálisis demuestran que la sarcopenia se asocia a una menor supervivencia postoperatoria a largo plazo, pero también a una menor supervivencia a largo plazo de los pacientes que reciben tratamiento oncológico sistémico, con mayor probabilidad de presentar toxicidad a la quimioterapia que, por otro lado, mantiene una relación bidireccional con la sarcopenia (151). Se recomienda optimizar al máximo la situación nutricional del paciente durante el preoperatorio, utilizando preferiblemente suplementos orales o enterales frente a parenterales, por las posibles complicaciones asociadas a estos últimos. La denominada “inmunonutrición”, de la que se han venido publicando ensayos en los últimos años, se fundamenta en el aporte de determinados micronutrientes como aminoácidos (glutamina o arginina), ácidos grasos poliinsaturados (omega-3),

nucleótidos...etc, con teórica capacidad de mejorar la inmunocompetencia del paciente. Sin embargo, la evidencia actual para el ACDP no es concluyente y los metaanálisis no demuestran un claro beneficio pronóstico, por lo que de momento no se recomienda (152). Igualmente se aconseja considerar la presencia de IPE ya desde el preoperatorio, y en caso de existir, tratar al paciente con terapia enzimática sustitutiva (TES) a dosis adecuadas (Kreon®). La TES ha demostrado un beneficio en la supervivencia tanto en pacientes operados, como en candidatos exclusivamente a tratamiento oncológico (153,154)

Finalmente, la técnica quirúrgica viene determinada por la localización del tumor en el páncreas y su relación con los grandes vasos sanguíneos. Sin entrar en detalle, los tumores localizados en la cabeza pancreática o en el proceso uncinado son tratados mediante duodenopancreatectomía cefálica (DPC) o técnica de Whipple, con o sin preservación pilórica (155), en tanto que los situados en cuerpo y cola pancreáticos se tratan mediante pancreatectomía distal o corporo-caudal (PD) con esplenectomía en bloque. Si el tumor presenta una afectación difusa o multicéntrica puede ser necesario llevar a cabo una pancreatectomía total (PT) con esplenectomía, que puede ser ampliada a parte del estómago, intestino, vesícula, etc. En todos los casos, la resección pancreática se acompañará de la correspondiente linfadenectomía, con el objetivo de conseguir resecciones oncológicas.

Sin embargo, la cirugía pancreática tradicionalmente se ha considerado una cirugía compleja, con elevada morbimortalidad postoperatoria en general, aunque diferente según la técnica quirúrgica (156). A esto hay que añadir que, según la evidencia actual, tanto la morbilidad como la mortalidad, se ven incrementadas en pacientes ancianos (>70 años), cada vez más habituales, en los que además también se observa un incremento en la tasa de complicaciones no quirúrgicas, como la neumonía o la infección de la vía central (157). En el caso de la DPC y la PT, la mortalidad ha disminuido de forma importante en las últimas décadas: de situarse en torno al 25% en 1960, a menos del 5% actual (158), incluso en torno al 1% en centros de alto volumen (159). Esto es consecuencia de la optimización de la técnica quirúrgica y el mejor manejo de las complicaciones, por los grandes avances técnicos y en los cuidados postoperatorios. A pesar de ello, la disminución de la mortalidad no se ha acompañado de una disminución en la incidencia de complicaciones, manteniéndose la morbilidad postoperatoria entre un 24-70% (160) según las series, aunque en centros de alto volumen puede ser inferior al 40% (161). Las complicaciones habituales por orden de frecuencia son: el vaciado gástrico lento (20-30%) por denervación del tronco celíaco asociada a linfadenectomías amplias, los abscesos y colecciones intraabdominales (hasta un 20%, 5-10% en las mejores series), la fístula pancreática postoperatoria (5-20% según las series), la hemorragia (5-12% en frecuencia, asociada a un 16% de mortalidad), y la fístula biliar (< 5%) asociada o no a fístula pancreática (162,163). En el caso de la PD, no hay anastomosis que controlar durante el postoperatorio, pero la fístula pancreática distal es una complicación incluso más frecuente que en la DPC (20-40% de los casos) con hasta un 1-2% de mortalidad asociada, siendo la hemorragia una complicación rara.

Esta elevada incidencia de complicaciones y su gravedad, condiciona una tasa alta de reintervenciones en la cirugía pancreática, que se sitúa en torno al 10% para la DPC (164). A largo plazo, tras una cirugía pancreática parcial son habituales la aparición de IPE (36%) e insuficiencia pancreática endocrina (22-35%) en forma de diabetes pancreatogénica o tipo 3c, de control especialmente difícil. Estos porcentajes son mayores en la DPC comparativamente con la PD y, obviamente, tras una PT, son del 100% (162).

Además del tipo de complicación, las complicaciones pueden graduarse según la clasificación de complicaciones postquirúrgicas de Clavien-Dindo, que está validada para la cirugía pancreática y permite evaluar su gravedad, su repercusión en la evolución postoperatoria del paciente, y el tratamiento requerido para su control y resolución (165).

Tumores localmente avanzados o metastásicos.

Se consideran tumores localmente avanzados los que presentan infiltración local a estructuras de proximidad (normalmente vasculares), que imposibilita técnicamente una resección radical R0. Se recomienda su tratamiento inicial con quimioterapia sistémica usando los regímenes indicados previamente (FOLFIRINOX o gemcitabina/nabpaclitaxel) (166). En pacientes con respuesta adecuada, podría valorarse la posibilidad de resección posterior, o bien consolidar dicha respuesta combinando con sesiones de radioterapia. Cuando el tumor no es resecable tras una primera pauta de inducción, la esperanza de curación se desvanece, pudiendo continuar el tratamiento con otras pautas oncológicas de segunda línea.

En tumores metastásicos desde el diagnóstico, de nuevo los dos regímenes citados FOLFIRINOX o gemcitabina/nab-paclitaxel son los más utilizados (136), quedando el segundo reservado para pacientes con ECOG 2 o superior, edad avanzada o comorbilidades asociadas. Otras pautas de segunda línea serían Irinotecán nanoliposomal combinado con 5-FU/LV, Oxaliplatino combinado con 5-FU/LV o monoterapias (capecitabina, 5-FU) (109).

En ambos estadios puede ser necesario realizar cirugías de paliación, con el único objetivo de tratar síntomas secundarios a la infiltración tumoral y/o prolongar la supervivencia, mejorando la calidad de vida, pero sin pretender la curación del paciente. Los principales abordajes de esta cirugía buscan resolver una posible obstrucción biliar, obstrucción gastroduodenal o tratar el dolor (intratable con medicación convencional), secundarios al efecto masa e infiltración de estructuras de proximidad de un tumor irreseccable. En el caso de la obstrucción biliar, como ya se ha comentado, la evidencia científica disponible recomienda el drenaje biliar endoscópico mediante CPRE y prótesis metálica autoexpandible (mejor totalmente cubierta) como primera opción, por presentar menos eventos adversos, menor coste y acortar la estancia hospitalaria, comparativamente con el drenaje percutáneo o quirúrgico. La alternativa a la CPRE que se viene perfilando en los últimos años es el drenaje biliar guiado por USE mediante la realización de una coledocoduodenostomía utilizando stents metálicos de aposición luminal. Su recomendación como segunda opción tras CPRE fallida ya es una realidad en GPC recientes (167), existiendo estudios comparativos recientes que demuestran resultados técnicamente comparables, especialmente en colédocos dilatados de más de 15mm, con menor tasa de PA y mejor permeabilidad del stent (168). Por lo tanto, es probable que, en un futuro próximo, la coledocoduodenostomía guiada por USE sea considerada la técnica de elección para el drenaje biliar de estos pacientes. En el caso de la obstrucción gastroduodenal, el tratamiento habitual consiste en realizar una gastroyeyunostomía quirúrgica, aunque en pacientes con mal pronóstico a corto plazo (< 3 meses de supervivencia), puede evaluarse la realización de una gastroenteroanastomosis guiada por USE en centros que dispongan de esta técnica, o incluso la colocación de una prótesis duodenal autoexpandible (167). En el caso del dolor, también es posible realizar una neurectomía del plexo celíaco guiada por USE o por TAC, para evitar el paso por el quirófano del paciente. Pero para establecer una recomendación precisa en este sentido, es necesario mejorar la calidad de la evidencia actual (169,170).

f. Screening precoz del ACDP.

Cribado en individuos de alto riesgo

El pronóstico infausto del ACDP, aunque de causa multifactorial, está íntimamente relacionado con su diagnóstico tardío en estadios avanzados e irreseccables. Por ello, resulta fundamental optimizar el diagnóstico precoz, lo que permitiría aumentar el número de candidatos quirúrgicos al diagnóstico. El primer paso pasaría por establecer un sistema de cribado eficaz. Sin embargo, la relativa baja incidencia del ACDP en la población general, hace imposible un programa de cribado universal, como ocurre con el CCR o el cáncer de mama. En estas condiciones, el limitado valor predictivo positivo (VPP) de cualquier test de screening podría conducir al sobrediagnóstico, y en consecuencia al sobretratamiento. La diana por lo tanto se dirige hacia grupos poblacionales de alto riesgo (RR > 5), intentando detectar tumores de pequeño tamaño o idealmente, lesiones preinvasivas con displasia de alto grado (DAG) (171).

Previamente se han comentado los síndromes hereditarios y genéticos, incluyendo en cáncer de páncreas familiar, que presentan los individuos considerados hoy en día población de alto riesgo para ACDP. Según las GPC más actuales (83,101), y por orden de mayor a menor riesgo, la edad de inicio para comenzar un programa de screening en esta población es la siguiente:

- Síndrome de Peutz-Jeghers (*STK11*): 35 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.
- Pancreatitis Hereditaria autosómica dominante (*PRSS1*): 40 años.
- Síndrome de la Mola Melanoma familiar atípico (*CDKN2A*): 40 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.

- Síndrome de Lynch (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*) con un familiar de primer o segundo grado con antecedente de ACDP: 50 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.
- Síndrome de Li-Fraumeni (*TP53*): 50 años.
- Heterocigotos para la variante patogénica *ATM*, con un familiar de primer o segundo grado con antecedente de ACDP: 50 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.
- Portadores de mutación patogénica *BRCA2*: 50 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.
- Portadores de mutación patogénica *BRCA1*: 50 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.
- Portadores de la mutación patogénica *PALB2*: 50 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP.
- Cáncer de páncreas familiar: 50 años o 10 años antes de la edad de diagnóstico del pariente más joven con antecedente de ACDP. El screening se recomienda a todos los familiares de primer grado de los miembros afectados.

En relación con la PC de etiología hereditaria, en la guía de consenso internacional publicada en el año 2020, se alcanzó un fuerte acuerdo en la recomendación de seguimiento de aquellas pancreatitis asociadas a la mutación *PRSS1* (dado el elevado riesgo de desarrollar ACDP), desde los 40 años, y hasta que el individuo deje de ser buen candidato quirúrgico. Sin embargo, esta recomendación no se hizo extensiva al resto de mutaciones como *SPINK1* o *N34S*. Para PC de otras etiologías tampoco se recomendó iniciar ningún seguimiento, aunque el acuerdo alcanzado fue débil. Si se concluyó que a cualquier paciente con PC se le debe aconsejar un estilo de vida saludable, evitando factores de riesgo conocidos y modificables (medioambientales o derivados del estilo de vida) como el tabaco, el alcohol o el sobrepeso (58).

Finalmente, se conocen 3 lesiones pancreáticas preneoplásicas diferentes: las lesiones intraepiteliales pancreáticas (PanIN) de las que deriva mayoritariamente el ACDP sólido tradicional, y las lesiones quísticas de estirpe mucinosa con riesgo elevado de transformación maligna que son los TPMI y los MCN. A estas últimas se les dedica un capítulo específico más adelante en esta tesis doctoral.

No existen otras poblaciones definidas en las que exista evidencia suficiente para recomendar su consideración en un programa de cribado o *screening* precoz para ACDP (172).

Sin embargo, ante cualquier paciente con diagnóstico de ACDP, especialmente si es joven, el primer paso debe ser la realización de una detenida historia familiar, investigando la existencia de familiares afectados de primer o segundo grado, antecedentes familiares de pancreatitis a edades precoces, así como antecedentes de otros tumores como CCR, mama, ovarios, melanoma, poliposis o tumores a edad temprana de aparición, tanto en el individuo como en su familia. En caso de sospecha de predisposición genética, los pacientes y sus familiares deben remitirse a Consultas de Consejo Genético para la realización de estudio y consejo genético a toda la familia.

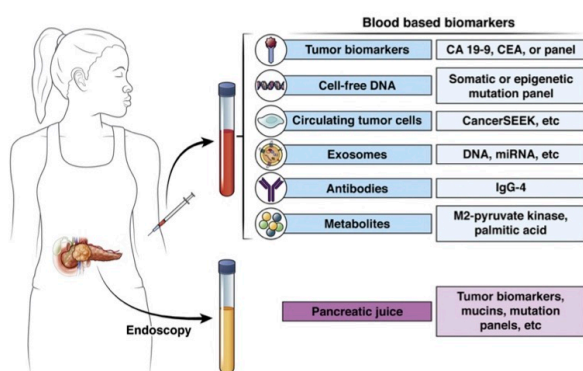
Una vez identificado un individuo con indicación de cribado, las herramientas diagnósticas con las que contamos y su rentabilidad se detallan a continuación:

Biomarcadores

Desafortunadamente, no existen biomarcadores séricos útiles en el cribado del ACDP, y los biomarcadores conocidos en líquido intraquístico (LIQ) de lesiones quísticas son más útiles para identificar mucinosidad que malignidad, estando aun así lejos de ser perfectos. La Guía de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) desaconseja el uso del **Ca 19.9** por su incapacidad para detectar pacientes asintomáticos (117). Además, ya se ha comentado que no es tumor-específico y que la población con grupo sanguíneo Lewis-negativo no lo sintetiza, siendo esta condición responsable de los más habituales falsos negativos (112). Sin embargo, existen estudios de calidad que están actualmente revisando su valor para el diagnóstico precoz, como el publicado recientemente por Fahrman et al, en el que describen que los niveles de Ca 19.9 comienzan a elevarse 2 años antes del diagnóstico clínico, e incluso especifican una

hoja de ruta para su utilización en poblaciones de alto riesgo. Incluso en LQP, Fahrman et al han comprobado el rendimiento clasificador del Ca 19.9 para distinguir quistes benignos y malignos, con un área bajo la curva de 0,76 y una sensibilidad modesta, pero una especificidad del 99%, generando la esperanza de que, en combinación con otros biomarcadores, pueda ayudar a estratificar estas lesiones de forma exhaustiva y eficaz (173,174).

En la actualidad se están investigando nuevos biomarcadores proteómicos como la *Leucine-rich alpha-2 glycoprotein 1 (LRG1)*, *Matrix metalloproteinases (MMPs)*, *Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)*, *Osteoprotegerin (OPG)*, *Chemokines*...etc. (175). También existe progresivamente más información sobre la utilidad de la detección de micro-RNA (miRNA), que son fragmentos de RNA sin función codificadora de proteínas, pero que sí intervienen en el desarrollo y división celular, y que por tanto pueden estar implicados en la progresión e invasión tumoral del ACDP (176). La expresión de miRNA se produce por alteración del DNA como ocurre en deleciones, amplificaciones o translocaciones que se producen en la carcinogénesis, pero también se puede detectar el propio DNA circulante, que puede ser liberado por necrosis, apoptosis o lisis de células tumorales o las propias células tumorales circulantes (177).



Otras estrategias basadas en paneles de mutaciones, anticuerpos, metabolitos, ADN metilado y exosomas, se están investigando (figura 11), pero hoy en día, adolecen de falta de aplicación en el cribado longitudinal de individuos asintomáticos y aún no están listos para su uso clínico (178).

Figura 11. Algunos de los biomarcadores en investigación para la detección precoz del ACDP, en suero y en líquido intraquístico. Imagen tomada de Modi et al, 2021 (173).

El desarrollo e implantación clínica de estas técnicas puede significar un avance en el diagnóstico precoz del ACDP, pero se requieren estudios más amplios que validen los incipientes resultados experimentales. Por esta razón en esta tesis no se desarrollan exhaustivamente, aunque se tratará algún aspecto de los mismos durante la discusión.

Técnicas de imagen.

La USE y la RM pancreática con CPRM constituyen los exámenes propuestos con más frecuencia para la detección precoz de lesiones sospechosas en estos pacientes. El estudio multicéntrico *Screening for Early Pancreatic Neoplasia (CAPS 3 Study)* (179) en el que se comparaban USE, RM y TAC multidetector (TAC-MD), demostró la superioridad de las dos primeras técnicas, que además de evitar la radiación del paciente, pueden ser complementarias entre sí. Sin embargo, el TAC-MD también puede desempeñar un papel en casos seleccionados, especialmente para el estudio de lesiones sólidas.

En general, la RM se considera mejor para identificar pequeñas lesiones quísticas, dilataciones de los conductos pancreáticos o atrofia pancreática, que pueden asociarse al ACDP, mientras que la USE parece ser superior en la visualización de pequeñas lesiones sólidas (180).

Las GPC más recientes (83,101) recomiendan que determinados grupos de pacientes portadores de alteraciones genéticas o con riesgo familiar sean controlados periódicamente mediante USE o RM. Los resultados aportados por ambas técnicas son equivalentes, por lo que la decisión de solicitar una u otra vendrá condicionada por la disponibilidad del hospital de referencia o la capacitación técnica de su personal, teniendo también en cuenta la preferencia del paciente.

No obstante, en determinados casos puede recomendarse una técnica sobre otra. Así la USE se prefiere como test inicial en pacientes con riesgo muy elevado, como el Síndrome de Peutz-Jeghers y el

FAMMM, o cuando se deben asociar otras técnicas endoscópicas (gastroscopia, colonoscopia) como en el síndrome de Lynch, por poder realizarse ambas en tándem con una única intervención de sedación profunda/anestesia del paciente. Igualmente se prefiere la USE en caso de contraindicación para la RM, como en situaciones de claustrofobia, alergia a contraste, material magnetosensible o insuficiencia renal (83,101,172). En el caso de paciente con PC subyacente, de etiología hereditaria u otras, se recomienda sin embargo el uso de TAC-MD o RM, ya que tumores muy precoces pueden pasar desapercibidos en la USE por el contexto de inflamación, fibrosis y calcificación, que disminuyen su sensibilidad. También por este motivo, se recomienda su valoración en centros especializados en patología pancreática (58).

En general, la frecuencia recomendada de realización de estas técnicas sería anual, comenzando a las edades indicadas previamente según el síndrome genético asociado (101), y finalizando en el momento que el paciente deje de ser candidato quirúrgico, por edad, comorbilidades asociadas, o por su expreso deseo de no someterse a cirugía pancreática. Ambas pueden realizarse de forma simultánea o intercalada. Si en algún control anual se identificasen lesiones sospechas (habitualmente lesiones quísticas), y según el riesgo de las mismas, este intervalo podría acortarse a 6 o incluso 3 meses, siguiendo las GPC internacionales (181–185), valorando siempre cada caso en el seno de comités multidisciplinares, mientras no se decida una estrategia quirúrgica.

LESIONES QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.

El término de Lesión Quística Pancreática (LQP) es un término convencional que se refiere a una lesión ocupante de espacio bien definida, con contenido líquido, localizada en el páncreas. Este concepto incluye un conjunto amplio y heterogéneo de quistes pancreáticos que, sin embargo, presentan características demográficas, morfológicas, histológicas y clínicas variables. Suelen ser asintomáticas, por lo que habitualmente se identifican de forma incidental en estudios de imagen (TAC-MD, RM, USE) realizados por indicación ajena a enfermedades pancreáticas.

La clasificación propuesta por la World Health Organisation (WHO) en su 5ª y más reciente edición, publicada en el año 2019, las clasifica según su naturaleza epitelial y neoplásica tal y como se muestra en la siguiente tabla:

| Clasificación de las LQP según criterios WHO (186) | |
|---|---|
| Epiteliales Neoplásicas | Epiteliales No Neoplásicas |
| Tumor Mucinoso Papilar Intraductal (TPMI) Neoplasia Quística Mucinoso (MCN) Cistoadenoma Seroso (CAS) Neoplasias intraductales pancreáticas* Cistoadenocarcinoma Seroso Tumor quístico neuroendocrino G1-2 Neoplasia Sólida Pseudopapilar Quiste epidermoide esplénico accesorio Hamartoma quístico Teratoma quístico (quiste dermoide) Adenocarcinoma ductal quístico Pancreatoblastoma quístico Neoplasia epitelial metastásica quística Otras | Quiste Linfoepitelial Quiste Mucinoso No neoplásico Quiste enterogénico Quiste de retención/quiste disontogénico Quiste periampular de la pared duodenal Quiste Endometrial Quiste congénito (síndromes malformativos) Transformación quística acinar del páncreas** |
| No epiteliales Neoplásicas | No epiteliales No Neoplásicas |
| Neoplasias Benignas no epiteliales (ej. linfangiomas) Neoplasias Malignas no epiteliales (ej. sarcomas) | Pseudoquistes asociados a pancreatitis Quiste parasítico |

Tabla 9. Clasificación de las diferentes LQP según criterios WHO en su 5ª y más reciente edición publicada en el año 2019 Modificado de Nagtegaal et al 2020 (186). * La neoplasia papilar oncocítica intraductal y la neoplasia tubulopapilar intraductal se diferencian de las TPPI por ser KRAS negativas. ** Previamente denominado cistoadenoma de célula acinar, han demostrado ser lesiones no neoplásicas por análisis de clonalidad molecular.

Su frecuencia de diagnóstico viene experimentando en las últimas décadas una tendencia creciente (187), condicionada por el mayor conocimiento de su naturaleza, el desarrollo y mayor accesibilidad de las técnicas de imagen, y el aumento de la esperanza de vida poblacional (188). Sin embargo, las cifras exactas de incidencia y prevalencia son difíciles de establecer. Muchos estudios se fundamentan en cohortes quirúrgicas con el consiguiente sesgo de selección, y cuando se utilizan modalidades de imagen, hay que tener en cuenta la diferente rentabilidad diagnóstica de cada técnica, con incidencias descritas muy variables, entre 2,4- 49,1%, incluso en estudios realizados con RM (189). En un estudio clásico basado en hallazgos de autopsias, se describió una prevalencia en la población general del 24% (190). Estudios más recientes basados en TAC describen prevalencias en torno a 2,1-2,6% (191), que suben hasta un 13,5-

45% en estudios retrospectivos con RM (182,192,193). Sin embargo, en un metaanálisis muy reciente que incluyó 15 estudios y 65.607 pacientes con estudio por RM, se describe una prevalencia global de entre 13%-18% (187). La mayoría de las publicaciones sí coinciden sin embargo en afirmar que, tanto incidencia como prevalencia aumentan con la edad (189,194). En un estudio de 2024 que analizó la prevalencia de LQP mediante RM, se describió un incremento de la prevalencia según la edad, con un 9% entre los 50-59 años, un 18% entre los 60-69 años, un 26% entre 70-79 años y un 38% a partir de los 80 años (187), con evidencia reciente de una posible relación directa con la presencia de síndrome metabólico (195). No se han descrito diferentes incidencias entre las distintas regiones geográficas (187).

Según su naturaleza, frecuencia y potencial de malignización, las LQP podrían clasificarse en los siguientes grupos (196) :

- **Lesiones Quísticas Inflammatorias:** Son las más frecuentes, entre el 50-70% del total de LQP, según algunas series hasta el 75-80% (197). Son colecciones de líquido inflamatorio con cubierta fibrosa no epitelial, en el contexto de una patología pancreática inflamatoria preexistente (PA y/o PC). A su vez se clasifican en:
 - Pseudoquiste Pancreático (PQ).
 - Walled-off Necrosis (WON): Necrosis encapsulada.
- **Neoplasias Quísticas:** Las segundas más frecuentes, constituyen aproximadamente el 10–15% del total de LQP (188). Son lesiones quísticas inicialmente benignas, pero con cubierta epitelial, que les confiere diferente potencial neoplásico, es decir, capacidad de crecimiento por proliferación celular y/o malignización. Dependiendo del tipo de célula que conforme dicha cubierta epitelial, se dividen en 2 grandes grupos:
 - Neoplasias Quísticas Pancreáticas No Mucinosas (NQP-NM): Con bajo potencial de malignización.
 - Cistoadenoma Seroso (CAS).
 - Neoplasias Quísticas Pancreáticas Mucinosas (NQP-M): Con moderado/alto potencial de malignización. Se subdividen en:
 - Tumor Papilar Mucinoso Intraductal (TPMI).
 - Cistoadenoma Mucinoso (MCN).
 - Quiste mucinoso simple (SMC, simple mucinous cyst según sus siglas en inglés) (198–201).
- **Otras Neoplasias pancreáticas con posible degeneración quística:** Infrecuentes en general, los más habituales son pancTNE con degeneración quística (pancTNEq), ACDP con degeneración quística (ACDPq) o el TSSP con degeneración quística (TSSPq).
- **Otras Lesiones Quísticas sin potencial maligno:** También muy infrecuentes, muchas son lesiones congénitas y epiteliales, aunque no todas. Su comportamiento en general es benigno sin riesgo de malignización. Entre ellas se encuentran:
 - Quiste linfoepitelial. Algo más frecuente en comparación con el resto (0,5% del total de LQP).
 - Otras lesiones quísticas congénitas: quistes por duplicación, quistes simples, transformación acinar quística, quiste hidatiforme, quiste endometrial, quiste enterogénico.
 - Otras lesiones quísticas adquiridas: Quistes de retención, linfangioma, etc...

Aunque son lesiones fisiopatológicamente muy diferentes entre sí, inicialmente pueden ser indistinguibles mediante pruebas de imagen, especialmente cuando son inferiores a los 2cm. La TAC suele ser la modalidad más utilizada y normalmente la primera en identificar la LQP, pero la RM (en particular las imágenes ponderadas en T2) y la CPRM proporcionan información valiosa que mejora su caracterización (202).

Al tratarse de lesiones oligosintomáticas, incluso asintomáticas, su relevancia clínica radica en la capacidad que tienen algunos subtipos, concretamente las de estirpe mucinosa (NQP-M), para malignizar, desarrollando un ACDP. Esta característica convierte a estos pacientes en población de alto riesgo para

ACDP y, por tanto, objetivos potenciales de programas de seguimiento que permitan identificar precozmente una eventual transformación maligna (*screening*), que posibilite plantear resecciones curativas.

Por esta razón, es mucho más útil clasificar las LQP en dos únicos grupos:

- **LQP mucinosas (LQP-M)**, todas ellas NQP-M.
- **LQP no mucinosas (LQP-NM)**, donde se incluirán algunas neoplasias quísticas, pero también quistes inflamatorios y congénitos.

Esta es la distinción que tratamos de establecer los pancreatólogos en nuestra práctica clínica habitual, y por tanto es la que se utilizará durante el desarrollo de esta tesis doctoral.

A continuación, se describirán brevemente las características demográficas y morfológicas más relevantes de cada tipo y subtipo de LQP, así como la gravedad de su potencial de malignización. Continuará esta introducción resumiendo las diferentes estrategias diagnósticas disponibles y su rendimiento, para finalmente concluir comentando las principales nociones de su manejo terapéutico.

a. Lesiones quísticas MUCINOSAS

Dentro de este grupo se encuentran los TPMI y los MCN, tanto benignas como malignas, el SMC y el ACDPq.

Tumores Papilares Mucinosos Intraductales (TPMI)

Suponen en torno a un 20-30% del total de LQP y hasta el 70% del total de NQP, siendo responsables del 10-20% del total de resecciones pancreáticas. Se calcula que hasta el 1% de los ACDP pueden estar originados a partir de TPMI (203).

Son frecuentes en ambos sexos, quizá con ligera predominancia masculina (55-60%), y se diagnostican a cualquier edad, con una edad media en torno a los 65 años. Su localización también es variable, pudiendo ser únicas o multifocales, y en ese caso afectar de forma difusa a la totalidad de la glándula pancreática (181).

Se originan a partir de células columnares productoras de mucina de la superficie ductal, y presentan un crecimiento papilar característico, afectando tanto al conducto principal como a sus ramificaciones secundarias. Por eso, en las distintas pruebas de imagen se describe habitualmente su “comunicación” con el conducto pancreático principal (CPP) en forma de dilataciones saculares ductales, centrales o periféricas.

La mayoría de ellas son asintomáticas, siendo su diagnóstico incidental. Su verdadera relevancia clínica radica en su potencial de malignización, siguiendo una secuencia adenoma-carcinoma que comparten con el ACDP, aunque no exactamente con las mismas mutaciones germinales (ver figura 12) (204). Pese a ello, las TPMI pueden producir también síntomas obstructivos, como veremos más adelante, y cuando esto ocurre, el riesgo de malignización es mayor.

Una de las clasificaciones más utilizadas de las TPMI se desarrolló en las guías de consenso internacional del año 2012 (205). Se basa en el conducto pancreático del que depende la lesión, que no solo implica una información estructural, sino también pronóstica. Los criterios de clasificación, según la actualización de estas guías en el año 2017 (185) son inicialmente morfológicos, basados en los hallazgos de las pruebas de imagen, y en un segundo tiempo anatomopatológicos, para aquellos que son finalmente intervenidos. Se distinguen tres subtipos:

- **TPMI de rama secundaria (TPMI-RS):** Se considera a cualquier quiste pancreático de más de 5mm de diámetro que comunica con el CPP (sin depender del mismo), aunque en pacientes con historia de pancreatitis o trauma abdominal habría que descartar un PQ. Son los más frecuentes, hasta el 40-65% del total de TPMI identificadas (206), y algunas series describen que suponen hasta el 80% de todos los quistes incidentales pancreáticos identificados (193). Pueden ser únicos o múltiples,

y en este caso presentar una morfología característica “en racimo de uva”. **Su tasa media de displasia de alto grado/carcinoma invasor (DAG/CI) es del 1-38%, y de forma más específica para CI, de un 19% (6-38%)** (181).

- **TPMI de conducto principal (TPMI-CP):** Se identifican como una dilatación del CPP de más de 5mm, segmental o difuso, sin otras causas obstructivas. Su tasa media de DAG/CI es del 62% (33-85%), y de forma más específica para CI, de un 43% (11-81%), superior a los TPMI-RS. Además, teniendo en cuenta la elevada prevalencia de TPMI-RS indolentes y no resecaados, el riesgo real de DAG/CI en TPMI-CP es probablemente mucho mayor (181).
- **TPMI mixtos (TPMI-Mx):** aúnan criterios de los dos subtipos anteriores. Tradicionalmente se ha considerado que **su potencial de malignización es intermedio**, inferior al de TPMI-CP, pero superior al de TPMI-RS por la implicación del CPP, y su manejo recomendado se aproxima más al de las TPMI-CP. Sin embargo, en las publicaciones más recientes se considera cierta incertidumbre en su significancia real: algunos TPMI-Mx podrían ser en realidad TPMI-RS en los que la dilatación del CPP se debe a la viscosidad de la mucina hipersecretada, mientras que algunos TPMI-RS intervenidos, han demostrado afectación neoplásica del CPP en el estudio AP posterior sin dilatación significativa en las pruebas de imagen, siendo en realidad TPMI-Mx. De momento no hay evidencia suficiente para resolver esta discrepancia, y por lo tanto se seguirá considerando este tercer subtipo como tradicionalmente (181).

Existe una segunda clasificación basada de forma específica en el subtipo histológico, que distingue 4 categorías según la distribución y morfología de las formaciones papilares: gástrico-foveolar, intestinal, pancreatobiliar y oncocítico. Esta clasificación no se desarrollará de forma pormenorizada, por ser de interés limitado en la práctica clínica habitual y en el desarrollo de esta tesis doctoral.

Cistoademoma Mucinoso (MCN).

Suponen un 10% del total de LQP y hasta el 25% de las NQM (207).

Son prácticamente exclusivas del sexo femenino (> 95%) con un rango de edad al diagnóstico entre los 40-50 años. Habitualmente son de localización distal en cuerpo-cola pancreáticos y NO comunican con el CPP, aunque un estudio multicéntrico japonés describió comunicación hasta en el 18% de los casos (208). Suelen ser lesiones solitarias y macroquísticas multiloculares (lo más frecuente) o uniloculares. En un 15% de los casos, pueden presentar calcificaciones periféricas a lo largo de su cápsula (209).

Histológicamente presentan su epitelio columnar productor de mucina característico, pudiendo apreciarse las células caliciformes, pero su rasgo prácticamente patognomónico es la presencia de estroma de tipo ovárico en las paredes y tabiques del quiste, con expresión de receptores hormonales como progesterona, y estrógenos en menor medida. Se han propuesto diferentes hipótesis acerca de su posible origen, una de las más aceptadas postula que estroma ovárico ectópico incorporado al páncreas durante la embriogénesis podría liberar hormonas y factores de crecimiento, causando la proliferación y formación de quistes del epitelio adyacente. Existe evidencia de su sensibilidad hormonal, habiéndose demostrado mayor crecimiento y malignización durante el embarazo, que incluso puede conducir a la ruptura del quiste. Por esta razón se recomienda estrechar su seguimiento en pacientes embarazadas (207,210).

Aunque lo más frecuente es que se diagnostiquen de forma incidental, pueden llegar a alcanzar amplios diámetros, por lo que el síntoma más relacionado es el dolor abdominal inespecífico. Este rápido crecimiento puede favorecer pequeñas hemorragias intraquísticas que, junto con acúmulos de mucina, pueden producir cierto hiperrealce del contenido intraquístico en pruebas de imagen, a veces difícil de diferenciar de contenido sólido real.

Se ha descrito que las MCN presentan un riesgo de malignización de entre el 10-37% según las series (211,212). En un estudio publicado recientemente, la tasa de malignización observada aumentó con el tiempo de seguimiento, siendo del 0,8% en 1 año, del 5,6% en 5 años y de hasta el 36,5% en 10 años (213). En los escasos casos reportados en varones, se ha observado un posible peor pronóstico (214).

Quiste Mucinoso Simple (SMC)

El concepto de SMC se propuso en el Consenso de Baltimore en 2014 (215). Se definió como un quiste mayor de 1 cm, con un revestimiento mucinoso (célula productora de mucina), plano (no papilar), de tipo gástrico y atipia mínima, sin estroma de tipo ovárico subyacente y sin comunicación con el CPP. Diferentes autores revisaron posteriormente sus características clínico-patológicas (198,200,216). Sin embargo, sus cambios morfológicos siguen sin estar claros y la literatura es escasa, por lo que resulta difícil establecer su incidencia y su prevalencia, comparativamente con otras LQP (201).

Según Schechter et al., la media de edad de estos pacientes es de 64 años, siendo más frecuente en el sexo femenino, con una proporción 2,8 : 1 (198). Suelen ser uniloculares en casi un 60% de los casos, y no muestran comunicación con el CPP. En más del 50% de los casos son de localización distal (cuerpo-cola) (198). Generalmente sus paredes son finas, aunque en algunos casos se observa una notable proliferación fibrótica del estroma circundante y sus paredes se ven engrosadas, siendo más difíciles de diferenciar de las MCN (200), y confundiendo muchas veces con cambios displásicos.

Suelen identificarse de forma incidental, por tratarse de lesiones oligosintomáticas.

Krasinskas et al. han descrito a los SMC como posibles verdaderos precursores neoplásicos (216). Sin embargo, otros informes han considerado que se tratan de entidades benignas (217,218), de hecho, en la clasificación de la WHO (186), se utiliza la nomenclatura Quiste Mucinoso No neoplásico (Mucinous Non-neoplastic Cyst) para referirse a ellos.

Normalmente, la sospecha preoperatoria confunde estas lesiones con otras NQP-M más habituales, como las TPMI o las MCN, por superposición de varias características clínicas, radiológicas y bioquímicas (219), y el enfoque terapéutico se plantea según las guías de manejo de estas lesiones.

ACDP con componente quístico.

Histológicamente, el ACDP típico muestra estructuras ducto-glandulares que infiltran el parénquima pancreático, provocando una respuesta estromal fuertemente desmoplásica (220,221). Las células neoplásicas son columnares y productoras de mucinas diversas, según la diferenciación y los histotipos. Varias alteraciones genéticas como *KRAS*, *SMAD4*, *CDKN2A* y *TP53* son responsables de su desarrollo (222,223) que evoluciona de neoplasia pancreática intraepitelial (PanIN) de bajo grado, a PanIN de alto grado y finalmente ACDP invasivo, siguiendo una secuencia adenoma-carcinoma (ver figura 12) (224,225). Su aspecto es normalmente el de un tumor sólido, aunque en un 4-8% de casos puede presentar un componente quístico (226). En esos casos, es difícil distinguir radiológicamente si nos encontramos ante un ACDP con componente quístico, o ante una LQP (normalmente NQP-M) con un componente sólido asociado.

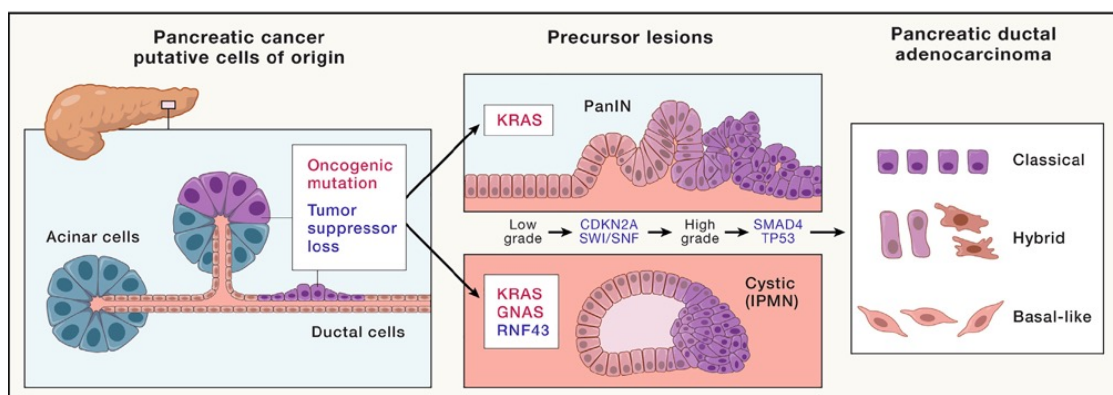


Figura 12. Iniciación y progreso del ACDP. Células exocrinas pancreáticas (acinares y ductales) son el origen del ACDP mediante la adquisición de mutaciones oncogénicas y/o la pérdida de la función supresora de tumores. Las mutaciones activadoras del oncogén *KRAS* se encuentran en las dos lesiones precursoras más frecuentes: PanIN y TPMI. Otras mutaciones como *GNAS* y *RNF43* se asocian también a los TPMI. A medida que estas lesiones precursoras progresan de bajo a alto grado, se observa la pérdida del supresor tumoral *CDKN2A* o de componentes de los complejos de remodelación de la cromatina *SWI/SNF*. Además, la delección o inactivación de mutaciones de los genes supresores de tumores *SMAD4* o *TP53* acompañan el avance de las lesiones precursoras a ACDP. Se han

definido diferentes subtipos de ACDP transcriptómicos basados en el ARN: el clásico, el basal y el "híbrido" que engloba aquellos con características que se solapan. Tomado de Halbrook et al, 2023 (204).

Están descritos en la literatura ACDP poco diferenciados en los que se producen fenómenos degenerativos intratumorales en forma de necrosis y/o hemorragia, como ocurre en otros tumores (pancTNE o TSSP). Igualmente, el ACDP puede ser causa de una PA y presentar colecciones inflamatorias (PQ) adyacentes a la masa tumoral (226), que le den un aspecto sólido-quístico.

Por otro lado, existe un subtipo de ACDP llamado carcinoma coloide, que se caracteriza por la presencia de acúmulos extracelulares de mucina, y que morfológicamente suele ser una lesión quística grande y bien delimitada. Según la literatura, este subtipo coloide de ACDP se origina, al menos en parte, a partir de una TPMI (227–229).

En la última década, la literatura viene describiendo un subtipo histológico de ACDP con características quísticas, denominado ACDP con *patrón de conducto grande o large-duct pattern* (230). En general es considerada una variedad poco frecuente. Microscópicamente se describe como un ACDP invasivo que forma glándulas dilatadas de entre 5 y 10 mm en más del 50% de las glándulas totales (231), pero que no suelen presentar un patrón de crecimiento papilar. Como el ACDP clásico, su revestimiento epitelial es generalmente positivo para CEA (83%), presenta con frecuencia invasión perineural (88%) y su estroma tiene una apariencia desmoplásica rica (232). Una de sus principales características descritas es su similitud en pruebas de imagen con otras LQP, como los TPMI-RS, por su morfología de masa sólida con múltiples quistes de pequeño tamaño que asemejan elementos ductales "en racimo de uva". En el estudio genético, comparte sin embargo más mutaciones con el ACDP clásico que con las TPMI, presentando una mayor probabilidad de comportamiento invasivo, y un pronóstico paralelo al ACDP clásico.

Para el diagnóstico diferencial con las TPMI, las inmunotinciones, concretamente la tinción de mucina puede resultar de gran utilidad. En la tabla 10 puede verse el patrón de tinción de mucinas descrito por diferentes autores para el ACDP con *patrón de conducto grande*.

| Perfiles de tinción de mucinas en el ACDP con patrón de conducto grande | | | | |
|---|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
| Referencia | MUC 1 | MUC 2 | MUC 5AC | MUC 6 |
| Kelly et al, 2012 (230) | 10/10 (100%) | 1/10 (10%) | 9/10 (90%) | 8/10 (80%) |
| Kosmahl et al, 2005 (226) | 17/24 (70,8%) | 2/24 (8,3%) | 17/23 (73,1%) | 12/23 (52,2%) |
| Total | 27/37 (73%) | 3/37 (8,1%) | 26/36 (72,2%) | 20/36 (55,6%) |

Tabla 10. Perfiles de tinción de mucina más habituales en el ACDP con patrón de conducto grande. Tabla adaptada de Sato et al. (231). Abreviaturas: ACDP: adenocarcinoma ductal pancreático.

En el estudio realizado por Kosmahl et al (226) sobre un total de 438 ACDP intervenidos, un 8% (38/438) presentaron componente quístico en pruebas de imagen. El grupo más numeroso (24/38) eran ACDP con *patrón de conducto grande*, el segundo (8/24) eran ACDP poco diferenciados con cavidades quísticas degenerativas de diámetros comprendido entre 1 y 6 cm, el tercer grupo (4/38) eran ACDP con quistes de retención relacionados con el tumor (coloides, NQP-M...) y el último (2/38) eran ACDP clásicos con PQ adheridos a la masa tumoral por pancreatitis asociada. Los resultados indican que un número considerable de ACDP y sus variantes presentan características quísticas, y dentro de estos, los más frecuentes eran los ACDP con *patrón de conducto grande*.

b. Lesiones quísticas NO MUCINOSAS

Dentro de este grupo se incluyen las lesiones quísticas inflamatorias, las NQP-NM (CAS) y otros quistes sin potencial de malignización (quistes linfopiteliales, lesiones congénitas, quistes de retención, linfocelos... etc).

Lesiones Quísticas Inflamatorias Pancreáticas:

Como hemos comentado, son las LQP más frecuentes (75-80%) (197). No presentan potencial neoplásico por ser consecuencia de un proceso inflamatorio pancreático preexistente. Por tanto, son colecciones conformadas por líquido inflamatorio, limitado por una cápsula fibrosa (no epitelial) que se desarrolla en torno a la 4ª semana de evolución desde el inicio de la inflamación aguda, como parte de su proceso fisiológico de “maduración” natural. La nomenclatura para clasificar estas colecciones fue establecida en el año 2013, fecha de publicación de la revisión de los criterios de Atlanta (196) según los cuales, entre las colecciones inflamatorias encapsuladas, se pueden diferenciar dos tipos diferentes:

- Pseudoquistes (PQ): son colecciones inflamatorias de contenido exclusivamente líquido, que se forman normalmente en el contexto de pancreatitis edematosas intersticiales, a partir de colecciones agudas y difusas (sin cápsula), que acaban reagrupándose y encapsulándose. También pueden aparecer como consecuencia de disrupciones del árbol ductal pancreático en pancreatitis necrohemorrágicas, PC o traumatismos pancreáticos. Suelen ser peripancreáticas, aunque también pueden estar incluidas total o parcialmente en el parénquima glandular.
- Walled-off Necrosis (WON) son colecciones inflamatorias con contenido líquido y sólido, este último constituido por necrosis tisular procedente del propio parénquima pancreático o de la grasa circundante (necrosis peripancreática). Su fisiopatología es similar a la de los PQ, pero en el contexto de pancreatitis necrohemorrágicas, y su localización es, indistintamente, parenquimatosa o peripancreática.

Con mayor frecuencia, estas colecciones inflamatorias son lesiones únicas y de morfología ovalada, pero también pueden ser irregulares y multiloculadas, y hasta en un 10% de los casos pueden ser múltiples. Su diámetro oscila de los 2 cm a superar los 20 cm (233). Su origen inflamatorio, hace que su contenido líquido sea rico en enzimas pancreáticas y habitualmente estéril, aunque una de las complicaciones más graves es su sobreinfección, por fenómenos de traslocación bacteriana, siendo más frecuente en el caso de las WON (234).

Análogamente a los procesos inflamatorios que las originan (PA o PC), estas LQP son más frecuentes en varones adultos, muchas veces en el contexto de consumo perjudicial de alcohol, y algo menos en mujeres de edad media-alta con litiasis biliar. Suelen diagnosticarse en el escenario clínico inequívoco de enfermedad pancreática subyacente en pacientes con los factores de riesgo descritos, con una presentación sintomática más evidente en la PA, y generalmente más insidiosa en la PC, pero dejando poco lugar a la duda sobre su origen.

Una vez superado el episodio agudo, los síntomas asociados a PQ o WON suelen ser leves, y se relacionan directamente con su tamaño y el tiempo de persistencia. Normalmente los síntomas son consecuencia de la compresión de estructuras vecinas como dolor, saciedad precoz, náuseas e incluso ictericia, y raramente fiebre, haciéndonos sospechar su sobreinfección (235).

Pero no siempre el contexto clínico ni las características del paciente son tan evidentes, existiendo imágenes dudosas en las pruebas de imagen, como la RM o la USE, en las que su rentabilidad diagnóstica puede verse afectada por el proceso inflamatorio subyacente.

Neoplasias Quísticas no mucinosas:

Su característica común frente a las NQP-M, es que están conformadas por diferentes epitelios, todos ellos de características no mucinosas. Entre ellas se pueden diferenciar:

Cistoadenoma Seroso (CAS):

Suponen en torno al 1% del total de LQP (236,237), y entre el 10-16% de todas las NQP (238). Son más frecuentes en el sexo femenino (75%), entre los 50-70 años, no tienen una localización preferente a lo largo de la glándula pancreática, y no comunican con el árbol ductal.

Su revestimiento epitelial está constituido por células cuboideas ricas en glucógeno. En la mayoría de los casos presentan un patrón morfológico microquístico (quistes < 2 cm), que puede dar una falsa imagen de consistencia sólida, con una cicatriz central que puede estar calcificada. El elevado VPP (100%) de esta imagen es tal, que se considera patognomónica. Sin embargo, existen otros patrones no tan específicos, en los que los quistes son de mayor tamaño “en panal de abeja”, o incluso pueden ser macroquísticos, sin identificarse ninguna cicatriz central. En estos casos, diferenciarlos de otras neoplasias quísticas, especialmente de las MCN puede ser complicado (238).

Con mayor frecuencia son lesiones asintomáticas de diagnóstico incidental. Los síntomas son infrecuentes, y cuando aparecen suelen ser consecuencia de la compresión mecánica por contigüidad en lesiones de gran tamaño, como el dolor, la ictericia o incluso la diabetes (238).

Aunque clásicamente está descrito que su potencial de malignización puede alcanzar hasta el 1% (239), un estudio retrospectivo, internacional y multicéntrico más reciente, que analizó 2622 casos de CAS, describió tasas de malignización muy inferiores, en torno al 0,2% (238). En la práctica clínica se consideran lesiones benignas, e incluso la mayoría de las GPC están de acuerdo en recomendar que no precisen de ningún tipo de seguimiento (182,240). Sólo cuando son sintomáticas o cuando su diagnóstico quirúrgico es incierto, está indicada la resección quirúrgica.

Tumor Sólido Pseudopapilar con degeneración quística (TSSPq):

Los pancTSSPq son lesiones infrecuentes, que suponen en torno a un 5% del total de NQP. Son más frecuentes en el sexo femenino (> 90%) y en edad joven entre 20-40 años (241). Pueden localizarse a lo largo de toda la glándula pancreática, con una ligera mayor incidencia en la cola, y no comunican con el árbol ductal.

Tienen un aspecto bien delimitado y heterogéneo con componente sólido y en algunos casos, calcificaciones irregulares (242). Su infrecuente apariencia quística corresponde a fenómenos de necrosis o hemorragia intratumorales.

Su potencial de malignización es bajo (10-15%) con baja capacidad de metastatización (243). No obstante, dada la juventud habitual de las pacientes, suele indicarse su resección quirúrgica, y su pronóstico posterior es excelente (supervivencia > 98% a los 5 años)

Tumor Neuroendocrino con degeneración quística (TNEq).

Los pancTNEq son también lesiones infrecuentes (entre 6-36% de todos los TNE pancreáticos que ya de por sí tienen una baja incidencia, de 0,48 por 100.000 habitantes y año (244). Son ligeramente más prevalentes en el sexo masculino y en edad media (50 años). No tienen una localización preferente a lo largo de la glándula pancreática, y no comunican con el árbol ductal.

Se originan en las células endocrinas pancreáticas y son esencialmente una degeneración quística por fenómenos de necrosis y hemorragia intratumoral a partir de un pancTNE sólido. Presentan paredes gruesas que realzan en pruebas radiológicas.

La mayoría de ellos (80-90%) son tumores no funcionantes, por lo que su sintomatología suele ser inespecífica, e incluso inexistente, lo que contribuye a dificultar su diagnóstico diferencial con el resto de LQP. En torno al 10% surgen en pacientes con síndrome MEN-1 (245). Hasta un 80% pueden expresar receptores de somatostatina y ser detectados mediante Gammagrafía.

Algunos autores defienden clasificarlos como un subtipo independiente, por presentar características morfológicas típicas y un mejor pronóstico a largo plazo, con menor tendencia a la invasión linfovascular y perineural y a la metastatización (246). A pesar de ello, su comportamiento suele ser más agresivo a mayor tamaño (> 2cm), a medida que aumenta su componente sólido (247) o cuando aparecen síntomas,

y a nivel histológico, cuando presentan un grado histológico alto, el índice de proliferación Ki-67 es del 3% o superior, o presentan invasión linfovascular (248).

Otras Lesiones Quísticas benignas.

Son lesiones intrínsecamente benignas que no requieren seguimiento a largo plazo. La mayoría de las veces su diagnóstico es casual, excepto en contadas excepciones, generalmente cuando alcanzan un tamaño importante, en las que pueden llegar a producir síntomas por sobreinfección o compresión. Por su escasísima incidencia, no se describirán de forma individual, a excepción de las lesiones linfoides por interés de este estudio.

Quiste Linfopitelial.

Suponen el 0,5% de todas la LQP. Son más habituales en varones con una proporción 4 : 1, y a la edad media de 56 años. No tienen una localización preferente a lo largo de la glándula pancreática, aunque algunos estudios describen cierto predominio distal. No comunican con el árbol ductal (249).

Histológicamente son lesiones quísticas revestidas por un epitelio escamoso estratificado anucleado rodeado de tejido linfoide denso con folículos linfoides.

Suelen ser asintomáticos o causar síntomas inespecíficos (dolor abdominal), detectándose de forma incidental.

No tienen capacidad de malignización, aunque algunos autores describen que pueden elevar determinados marcadores tumorales serológicos como el Ca 19.9 y el CEA (250), que pueden conducir a errores diagnósticos.

Si no produce síntomas y el diagnóstico es firme, pueden tratarse de forma conservadora.

Linfangiomas.

Los linfangiomas quísticos pancreáticos son poco frecuentes, suponen menos del 1% de todos los linfangiomas y el 0,2% del total de LQP (251). Son lesiones congénitas, por lo que suelen diagnosticarse durante la infancia, aunque cuando son indolentes, circunstancia habitual en los linfangiomas pancreáticos (252), pueden detectarse a edad adulta, más frecuentemente en el sexo femenino (253).

Fisiopatológicamente son malformaciones congénitas benignas que se originan en el sistema linfático, de origen no aclarado. Están constituidas por una proliferación de cavidades linfáticas revestidas por epitelio cuboidal y obstrucción del flujo linfático, que les da un aspecto multiloculado. La pared del quiste contiene con frecuencia células musculares lisas, linfocitos e histiocitos espumosos.

Como ya se ha comentado, con mayor frecuencia serán asintomáticos, aunque pueden alcanzar un gran tamaño (tamaño medio: 12,7 cm) (254) y causar una masa palpable o dolor abdominal.

Aunque son lesiones benignas, si crecen, existe indicación de resección quirúrgica, que no siempre se consigue de forma radical.

c. Diagnóstico de las Lesiones Quísticas Pancreáticas

En líneas generales, el diagnóstico de las LQP se fundamenta en el análisis conjunto de la información derivada de diferentes fuentes:

- el contexto demográfico y clínico del paciente.
- los hallazgos morfológicos en pruebas de imagen (TAC-MD y RM/CPRM) y USE.
- el análisis de marcadores en LIQ obtenido por USE-PAAF, incluyendo citología, análisis bioquímico o análisis genómico.

- otros estudios avanzados, principalmente endoscópicos, como la USE con contraste harmónico (CH-USE), la USE- TTNB (*trough the needle biopsy*, a través de la aguja de biopsia según sus siglas en inglés) o la Endomicroscopía confocal.

Hoy en día no existen marcadores serológicos disponibles que hayan demostrado utilidad en su diagnóstico, más allá del Ca 19.9 como marcador de malignidad. Además, no todas estas técnicas diagnósticas están disponibles en muchos centros hospitalarios, como ocurre en el caso de este estudio, especialmente la endoscopia avanzada o los estudios de genómica.

A continuación, se describirán brevemente cada una de estas herramientas, junto con su rendimiento diagnóstico. Posteriormente, en la discusión de esta tesis doctoral, se analizará su eficacia, siendo este uno de los principales objetivos de este estudio de investigación.

Contexto demográfico y clínico.

Determinadas características demográficas del paciente, junto con la localización de la LQP y el contexto clínico, pueden ayudar a establecer una primera sospecha diagnóstica y a estratificar el riesgo.

Como ya se ha descrito previamente de forma individual, el diagnóstico de cada subtipo de LQP puede ser más frecuente en un sexo concreto y en una determinada franja de edad, pudiendo también presentarse con mayor asiduidad en localización distal (cuerpo-cola) o variable, dentro de la glándula pancreática.

Así, las colecciones inflamatorias derivadas de PA y PC son más habituales en varones, de mediana edad y con hábito enólico y/o tabáquico. Las TPMI también son ligeramente más frecuentes en varones, entre los 50-60 años, sin que en este caso se asocie con consumos perjudiciales. Algo similar ocurre con los pancTNEq, ligeramente más prevalentes en el sexo masculino, en torno a los 50 años de edad.

El resto de LQP suelen ser más habituales en el sexo femenino, con las siguientes especificaciones:

- Los pancTSSPq son muy características de mujeres jóvenes (> 90%).
- Los MCN son prácticamente exclusivos de mujeres (98%) perimenopáusicas (40-50 años).
- Los CAS también predominan en el sexo femenino, pero con mayor edad media al diagnóstico, entre la 6ª-7ª décadas de la vida.
- Los SMC predominan en mujeres de mediana edad, con una proporción 2,8 : 1.

Con relación a su localización en la glándula pancreática, la tendencia suele ser la siguiente:

- Localización distal (cuerpo-cola): más frecuente en colecciones inflamatorias, MCN, pancTSSPq, SMC, quiste linfoepitelial.
- Localización variable: habitual de TPMI, CAS, pancTNEq o linfangioma.

Con relación al contexto clínico, es importante recordar que la mayoría de las LQP son asintomáticas e incidentales. A pesar de ello, podemos definir determinados escenarios clínicos en algunos casos.

Si la LQP se identifica en el contexto de una PA, en un paciente varón y con consumo perjudicial de alcohol es muy sugestivo de colección inflamatoria. También esta opción es característica de pacientes con PC y factores de riesgo para su desarrollo (alcohol y tabaco, PA recidivante...) aunque hay que tener en cuenta en este escenario, que su presentación puede ser insidiosa, y que el paciente puede no describir episodios previos compatibles con reagudizaciones de su PC, o incluso esta puede no estar diagnosticada previamente.

Sin embargo, el contexto inflamatorio de un paciente no descarta al 100% que una LQP pueda tener un origen diferente. Algunas LQP no inflamatorias, más frecuentemente mucinosas como la TPMI, pueden producir síntomas obstructivos en forma de dolor abdominal o PA (hasta 15-21% según las series (255)), pero también ictericia, insuficiencia pancreática endocrina (DM) y exocrina (IPE). El mecanismo fisiopatológico en estos casos es doble: por un lado, en su crecimiento colapsan el conducto pancreático del que dependen, y por otro, la hipersecreción mucinosa puede condicionar su obstrucción. Así, estas lesiones se convierten en origen y no consecuencia del proceso inflamatorio subyacente y pueden ser confundidas con colecciones inflamatorias en los estudios radiológicos (256).

Además, cuando las LQP-M son sintomáticas, su riesgo de malignización es mayor. La PA, el debut diabético, o el peor control glucémico de una diabetes preexistente, se consideran signos preocupantes (*worrisome features*, WF según sus siglas en inglés) de riesgo intermedio, cuando están relacionados con el quiste. E incluso la ictericia se considera un signo de alto riesgo (*high risk stigmata*, HRS según sus siglas en inglés) (181).

En el caso de las MCN, el síntoma más frecuentemente relacionado es el dolor abdominal inespecífico, sin olvidar que en general, lo más frecuente es que sean lesiones asintomáticas. Este dolor se atribuye normalmente a lesiones de gran tamaño, debido a su localización preferiblemente distal. El crecimiento rápido de la lesión durante el embarazo, puede ser también un dato sugestivo (207,210).

Los CAS, también con gran frecuencia asintomáticos, pueden presentar dolor abdominal inespecífico en un 27% de los casos, seguidos de lejos por síntomas pancreatobiliares (9%) y DM (5%). La frecuencia de estos se relaciona directamente con el tamaño de la lesión, especialmente a partir de los 4-5 cm (238), y su presencia es el principal motivo que justifica su resección quirúrgica.

El resto de LQP comentadas no presentan síntomas característicos, siendo la mayoría de pancTSSPq, pancTNEq (80% no funcionantes), quistes linfopiteliales y linfangiomas lesiones asintomáticas, excepto en casos de gran tamaño.

Los síntomas constitucionales como la pérdida de peso inexplicada o la anorexia, deben hacernos descartar la naturaleza maligna de la lesión, y en su ausencia, la posible existencia de una IPE subyacente por obstrucción ductal.

Pruebas de imagen.

Normalmente son el primer estudio diagnóstico a realizar, y su rendimiento es diferente según se considere su capacidad para identificar específicamente el tipo de LQP, o su capacidad para identificar malignización subyacente.

Diagnóstico diferencial entre las distintas LQP

El TAC-MD, la RM/CPRM o la USE, suelen ser el primer paso en el proceso diagnóstico. Permiten identificar características morfológicas típicas de cada lesión que pueden orientar hacia su diagnóstico específico, como el tamaño, la localización, el grosor o ecogenicidad de su pared, la comunicación con el CPP, la presencia de calcificaciones o septos, etc... Algunas de las más frecuentes pueden verse resumidas en la tabla 11.

Según datos publicados en la literatura, en la actualidad, con las modalidades de imagen más avanzadas, la exactitud diagnóstica ante una LQP se sitúa en torno a un 47-78% (181). Esta precisión sigue siendo relativamente baja, utilizando una sola modalidad de imagen o combinándolas, tanto para identificar el tipo específico de LQP (257), como para diferenciar ante LQP pequeñas los verdaderos quistes epiteliales del resto, o para identificar la conexión con CPP (189).

Analizando individualmente cada modalidad, se puede ver como el rendimiento descrito es variable entre las distintas series y, además, se ha ido modificando con el tiempo y los avances experimentados por estas técnicas.

Para el TAC-MD, en un estudio ya clásico publicado por Procacci et al. en 1999 (258), se describió una exactitud diagnóstica para cualquier LQP del 60%. Unos años más tarde, en 2008, Fisher et al. redujo la eficacia de esta técnica a solo el 39% (259). En un metaanálisis reciente de 2020, ya con TAC-MD, se describió una exactitud diagnóstica del 39-45% (260). En otras publicaciones también recientes, la precisión descrita para identificar el tipo específico de LQP oscilaba entre el 40-81% (261).

| Demografía morfológica y clínica | PQ (262) | CAS (238) | TPMI-CP/Mx (181) | TPMI-RS (181) | MCN (214) | TSSPq (241) | TNEq (244) | Quiste linfopitelial (263) | Linfangioma (264) |
|----------------------------------|--|--|---|------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| Edad | 6ª-7ª década | 5ª-7ª década | 5ª-7ª décadas | 5ª-7ª décadas | 4ª-5ª décadas | 2ª-3ª décadas. | 5ª-6ª década | 6ª década | Infancia |
| Sexo | 75% Varón | 70% Mujer | 55-60% Varón | 55-60% Varón | >95% Mujer | 90% Mujer | 60% Varón | Varón | Mujer |
| Localización | 65% Distal | Indiferente | Indiferente | Indiferente | Distal | Distal | Indiferente | Distal | Indiferente |
| Solitario vs multifocal | Variable | Solitario | Solitario/variable | Variable | Solitario | Solitario | Solitario | Solitario | Solitario |
| Síntomas | Dolor, PA, incidental | Incidental, dolor abdominal pancreatobiliar 5%DM | Incidental, ictericia, pancreatitis IPE | Incidental, pancreatitis IPE | Incidental, dolor abdominal, crecimiento durante embarazo | Incidental, dolor abdominal | Incidental, 80% no funcionante | Incidental dolor abdominal | Incidental, dolor abdominal |
| Potencial maligno | No | 1% | 35-85% | 1-38% | 10-37% | 10-15% | 10% | No | No |
| Radiología | | | | | | | | | |
| Morfología | Redondo, ovalado Detritus (WON) alta atenuación | Panal de abeja | Dilatación tubular | Ovalado o tubular | Redondo ovalado | Sólida-quística | Sólida-quística | Redondo, ovalado | Redondo, ovalado |
| Pared, Septos | Unilocular, Pared gruesa | Micro-quístico | Variable | Variable | Micro-quístico | Cápsula engrosada | Pared hipervasculosa | Unilocular | Multiloculado cápsula hipercaptante |
| Calcificación | No. En PC, ductales y parenquimatosas | Cicatriz calcificada estrellada central 40% | No | No | Curvilínea en pared del quiste. Infrecuente | Periférica | Periférica | +/- | No |
| CPP-Com | Si/variable | No | Si | Si | No | No | No | No | No |
| RM | T1 hipo, T2 hiper. Cápsula hiperecólica | T1 hipo, T2 hiper | T1 hipo/hiper, T2 hiper | T1 hipo/hiper, T2 hiper | T1 hipo, T2 hiper | T1 hiper, T2 hiper | T1 hipo, T2 hiper | T1 hiper, T2 hipo | T1 hiper, T2 hipo |

Tabla 11. Características morfológicas y radiológicas típicas de diferentes LQP. **Abreviaturas:** CAS: Cistoadenoma seroso; CPP-Com: comunicación con el Conducto pancreático principal; IPE: Insuficiencia pancreática exocrina; MCN: Cistoadenoma mucinoso; PA: Pancreatitis Aguda; pancTNEq: Tumor Neuroendocrino pancreático quístico; pancTSSPq: Tumor sólido pseudopapilar pancreático quístico; PC: Pancreatitis Crónica; PQ: pseudoquiste; TPMI-CP: Tumor Papilar Mucinoso Intraductal de Conducto Principal; TPMI-Mx: Tumor Papilar Mucinoso Intraductal Mixto; TPMI-RS: Tumor Papilar Mucinoso Intraductal de Rama Secundaria.

En general, aunque existe poca bibliografía que las compare, la TAC-MD realizada con protocolo pancreático y la RM/CPRM se han considerado técnicas de rendimiento equiparable para la caracterización de LQP (265,266). A pesar de ello, la prevalencia de LQP notificada en estudios con TAC se sitúa en torno a un 2,1-2,6% (191), frente al 13,5-45% descritas en estudios mediante RM (182,192,243). Esto probablemente es debido a la mayor resolución de contraste de la RM, que le confiere una mayor sensibilidad, pero no mayor especificidad (182).

La TAC-MD normalmente se prefiere para la detección de calcificaciones parenquimatosas, murales o centrales, y especialmente para diferenciar los PQ asociados a PC del resto de LQP (267). La RM/RMCP tiene mejor resolución de tejidos blandos y es más sensible para identificar la comunicación con el CPP y la presencia de nódulos murales o septos internos, así como la presencia de detritus o hemorragia intraquística. También identifica mejor la presencia de LQP multifocal (268).

En general, la RM es la modalidad de imagen indicada para un primer diagnóstico y caracterización de las LQP, y para su seguimiento, ya que cuenta con la ventaja de no exponer al paciente a radiación

ionizante. Su precisión notificada para identificar el tipo específico de LQP es de 40-95% (261). Sin embargo, la RM cuenta con inconvenientes importantes como su menor disponibilidad y su mayor coste.

Estas desventajas las comparte también con la USE que aporta algún inconveniente más, como el hecho de ser una prueba invasiva, con necesidad de sedación profunda, y también ser una técnica muy operador-dependiente (269). Con cierta variabilidad entre series, la precisión notificada de la morfología de la USE por sí sola para diferenciar la LQP-M de LQP-NM es relativamente baja (48-94%), con una sensibilidad del 36-91% y una especificidad del 45-81% (182,270). En general, es mejor que el TAC-MD y la RM para detectar lesiones multifocales y para identificar nódulos sólidos. A pesar de todo, su principal ventaja es que su realización permite la toma de muestras mediante PAAF o BAG para su análisis bioquímico o histológico posterior. Por esta razón, las GPC la recomiendan como suplemento a las anteriores, siempre que su realización pueda suponer un cambio en la estrategia diagnóstico-terapéutica (182), es decir, cuando la LQP presente características clínicas o radiológicas preocupantes identificadas durante la investigación inicial o el seguimiento (síntomas, HRS/WF). Contraindicaciones relativas para la realización de USE-PAAF son una distancia >10 mm entre el quiste y el transductor, o un alto riesgo de hemorragia por la existencia de alguna coagulopatía o el uso de anticoagulantes/antiagregantes. Con estas precauciones, la USE-PAAF es un procedimiento seguro con un riesgo bajo de complicaciones en torno al 2-3% (182). El LIQ extraído puede remitirse para citología, para análisis de marcadores bioquímicos, o para estudios genómicos. El rendimiento de todos ellos de forma individual se analizará individualmente más adelante. En lo que sí se ponen de acuerdo los distintos autores es en afirmar que la combinación de diferentes pruebas y análisis como la USE, la citología y los marcadores bioquímicos del LIQ, proporcionan una mayor precisión diagnóstica para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM que cualquiera de ellas por sí solas (271,272).

Diagnóstico de malignidad

Según datos publicados en la literatura, en la actualidad, la capacidad predictiva de DAG/CI en las LQP, de las modalidades de imagen más avanzadas es variable, y se sitúa en torno a un 73-97% (273).

TAC-MD, RM y USE se han descrito como equivalentes en el diagnóstico de TPMI con DAG/CI (274), aunque el TAC-MD suele ser la técnica indicada cuando se sospecha malignidad, para valorar la afectación vascular, peritoneal o metastásica.

En el estudio clásico de Fisher et al. la tasa de precisión referida para el TAC-MD en la predicción del potencial maligno de las LQP fue del 60% (259). Publicaciones posteriores, le conceden una precisión diagnóstica superior, del 74-78% (275). En el metaanálisis reciente de Abraham et al. se especifica una sensibilidad de 36-71% y una especificidad de 64-100% (260).

En el caso de la RM, las precisiones publicadas son similares al TAC-MD, entre el 74-75% para identificar malignidad (275). Otro metaanálisis actual mostró para la RM una sensibilidad del 76% y una especificidad del 80%, con un aumento de la precisión diagnóstica de malignidad hasta un 81% cuando se combinan ambas técnicas (TAC-MD y RM) (276). Un estudio publicado en 2018 por Hwang et al. sugirió que la RMN/CPRM tiene un mejor rendimiento diagnóstico incluso que la USE para diferenciar los TPMI y los MCN pancreáticos malignos de los benignos (277), pero faltan pruebas concluyentes.

Los datos sobre la capacidad de la USE para diferenciar entre LQP benignas y malignas son contradictorios (278). La modalidad HC-USE (USE con contraste armónico, *harmonic contrast-USE* por sus siglas en inglés) consiste en utilizar contrastes ecográficos simultáneamente a la realización de una USE. Estos contrastes proporcionan información sobre la microvascularización, mejorando especialmente la caracterización de nódulos murales con sospecha de malignidad. La presencia de hiperrealce de un nódulo mural, de una masa sólida o de tabiques intraquisticos aumentan la probabilidad de transformación maligna, por lo que debe considerarse la realización de una USE-PAAF/BAG.

En una revisión sistemática reciente, se comparó la rentabilidad diagnóstica de ambas modalidades (USE convencional y HC-USE) en la detección de nódulos murales con sospecha de malignidad. La USE estándar demostró una sensibilidad de 88,2%, una especificidad de 79,1%, y una precisión diagnóstica de 89,6%, mientras que la HC-USE mostró una sensibilidad de 97%, una especificidad de 90,4% y una precisión diagnóstica de 95,6% (279). Como inconveniente, se ha observado cierta discordancia entre observadores con los diferentes contrastes disponibles (270). En conclusión, la HC-USE parece superior a la USE estándar y a la TAC-MD para la identificación de nódulos murales sospechosos de malignidad (280).

Las distintas GPC describen, además de los nódulos murales, otros signos de alarma que aumentan la probabilidad de transformación maligna en una TPMI. Aunque están descritos concretamente para el manejo de este tipo de LQP, es habitual que también se considere su presencia en el manejo de otras lesiones, especialmente mucinosas. Se clasifican en signos de riesgo muy alto (HRS) o signos de riesgo intermedio (WF), y estos pueden ser clínicos o radiológicos. Se resumen en la siguiente tabla:

| High Risk Stigmata (HRS) | Worrisome Features (WF) |
|--|--|
| <p>Clínicos:</p> <p>Ictericia obstructiva</p> | <p>Clínicos</p> <p>Pancreatitis Aguda</p> <p>↑ Ca 19.9 en sangre</p> <p>Debut diabético o exacerbación de DM previa</p> |
| <p>Radiológicos:</p> <p>Nódulo mural ≥ 5mm o componente sólido</p> <p>CPP dilatado ≥ 10mm</p> <p>Citología + (o sospechosa)</p> | <p>Radiológicos</p> <p>Tamaño quiste ≥ 30mm*</p> <p>Nódulo mural < 5mm</p> <p>Engrosamiento paredes</p> <p>CPP dilatado ≥ 5mm y < 10mm</p> <p>Cambio abrupto de calibre del CPP con atrofia pancreática distal</p> <p>Linfadenopatías</p> <p>Crecimiento ≥ 2,5mm al año</p> |

Tabla 12. Descripción de signos de riesgo alto (HRS) y moderado (WF) según las principales GPC. * Según las Guías de Fukuoka (185). La guía europea establece un tamaño de 40mm (182).

La presencia de HRS tiene un alto VPP para neoplasia avanzada, que oscila entre 56 y 89 %. La presencia de WF también tienen un alto VPP, aunque menor en comparación con la presencia de HRS. La ausencia de estos hallazgos de imagen, por el contrario, es consistente con un bajo riesgo de malignización (281). Es difícil encontrar en la literatura datos concretos sobre la precisión diagnóstica de cada uno de estos signos por separado. En un estudio de cohortes realizado en más de 367 LQP-M con confirmación histológica, la dilatación del CPP y la presencia de nódulos murales fueron predictores independientes de malignidad, con la siguiente rentabilidad (282):

- El CPP dilatado (> 5mm) presentó una exactitud diagnóstica de 73,3%, una sensibilidad de 63,3%, y una especificidad 78%.
- La identificación de nódulos murales presentó una exactitud diagnóstica de 77,7%, una sensibilidad de 59%, y una especificidad 86,4%.

Lo que sí parece claro, es que el riesgo de DAG/CI es mayor si se identifican simultáneamente 2 o más de estos signos de riesgo en una misma LQP, y que este riesgo aumenta exponencialmente, conforme lo hacen el número de HRS/WF (181)

Citología

Aunque la citología es muy específica (83-100%) (283,284), es relativamente insensible (27-48%), lo que da lugar a una precisión diagnóstica baja (8-59%) (271,272,284). En un metaanálisis reciente, el análisis citológico del LIQ mostró una sensibilidad del 42% y una especificidad del 99% para diferenciar la LQP-M de LQP-NM (285).

El estudio citológico permite identificar epitelio mucinoso y también mucina que se tiñe fuertemente con eosina. Su presencia se interpreta a favor de neoplasias mucinosas (TPMI, MCN, ACDP y carcinomas

coloides) y permite descartar neoplasias no mucinosas como (pancTNEq, pancTSSPq, CAS y carcinomas de células acinares) (286).

Cada tipo y subtipo de LQP puede mostrar hallazgos citológicos que orienten hacia su diagnóstico. Así, las colecciones inflamatorias mostrarán abundantes células inflamatorias, histiocitos y microcristales. En las LQP-M, además de la mucina abundante, es posible identificar el epitelio mucinoso con incluso diferentes grados de atipia si la celularidad es suficiente, pero la citología no permite diferenciar TPMI de MCN. Los CAS tienden a presentar citologías paucicelulares con fondo claro o hemorrágico y macrófagos cargados de hemosiderina en un líquido seroso y amarillo de baja viscosidad (287).

Otras neoplasias menos frecuentes que pueden degenerar a formas quísticas como los pancTSSPq y los pancTNEq suelen presentar citologías más características. Los primeros presentan una citología hipercelular de papilas fragmentadas con tallos fibrovasculares y matriz mixoide perivascular, revestidos por células cuboidales monomórficas (287). Los segundos presentan la morfología endocrina clásica que incluye grupos poco cohesionados de células redondeadas o poligonales que ocasionalmente formarán pseudorosetas, con núcleos redondeados y prominentes, de punteado fino “en patrón de sal y papel”. La USE-PAAF se considera el método más preciso para diagnosticar los pancTNEq en comparación con el diagnóstico por imagen y el análisis bioquímico del LIQ. Hallazgos citológicos compatibles con la morfología endocrina clásica descrita, junto con las inmunotinciones características (cromogranina y b-catenina citoplásmica), puede proporcionar una confirmación definitiva (288).

En el quiste linfoepitelial, la PAAF mostrará un líquido de distinta viscosidad según los restos de queratina, con un aspecto variable de seroso a blanquecino-caseoso, más típico de estas lesiones. Su análisis citológico mostrará las células epiteliales escamosas maduras o anucleadas, restos de queratina, linfocitos, macrófagos y cristales de colesterol (289). La presencia de epitelio escamoso acelular y linfocitos en el contenido del quiste es el rasgo característico diagnóstico de un quiste linfoepitelial (287). Si no se identifican las células escamosas, el diagnóstico diferencial con otras lesiones linfoides es difícil, aunque sus niveles de triglicéridos no son característicos ni marcadamente elevados, por lo que podría servir para diferenciarlos de los linfangiomas (290).

En el linfangioma, el aspecto lechoso del líquido aspirado también es muy sugestivo de su diagnóstico por su elevado contenido en grasas, aunque su aspecto también puede ser seroso o serohemático. La citología mostrará características inespecíficas, como linfocitos e histiocitos espumosos dispersos en un fondo de material proteináceo amorfo. El alto contenido en triglicéridos en el análisis bioquímico del LIQ puede confirmar el diagnóstico de linfangioma; sin embargo, no siempre está presente (287).

Para la detección de malignidad, la citología puede añadir también valor diagnóstico. Obviamente, en caso de observar células con DAG y considerarse positiva para malignidad, es una indicación directa para plantear cirugía. En un metaanálisis reciente se le concede una sensibilidad limitada del 50%, pero una elevada especificidad de entre 83-100% (285). En centros con gran experiencia, la simple detección de “atipia epitelial de alto grado” (sin necesidad de confirmar cambios displásicos) puede ser un importante predictor de malignidad (185), que según un estudio presentó un 80% de exactitud diagnóstica, superando incluso el valor de los WF (291).

String-sign (signo de la cuerda)

Se define *como* la formación de un filamento superior a 1 cm de longitud al contacto del LIQ con dos dedos que se separan, y debe permanecer íntegro por más de un segundo.

Su precisión diagnóstica se sitúa en torno al 70%, con una sensibilidad para categorizar correctamente una LQP-M del 59%, y una especificidad mucho mayor, de hasta un 95%, un VPP de 94%, y un valor predictivo negativo (VPN) de 60% (292). Sin embargo, se ha descrito una gran variabilidad en su definición y en la evaluación entre 2 observadores diferentes, por lo que se acepta únicamente como una característica complementaria al resto del análisis (293). Su precisión diagnóstica aumenta, cuando se utiliza en combinación con otras técnicas.

Marcadores bioquímicos en líquido intraquístico

Son una de las herramientas diagnósticas más utilizadas en práctica clínica, aunque no siempre presentan una adecuada precisión. Los más frecuentes son:

CEA (antígeno carcinoembrionario):

Uno de los datos más importantes en el diagnóstico diferencial entre LQP-M y LQP-NM consiste en saber si la lesión produce o no mucina. Esto es lo que indica el nivel de CEA en LIQ, sin haberse comprobado hasta el momento ninguna relación con la malignización del quiste (294–296)

Un nivel de CEA en LIQ ≥ 192 ng/mL puede distinguir LQP-M vs. LQP-NM con una precisión diagnóstica en torno al 80%, una sensibilidad del 52-78% y una especificidad del 63-91% (294). En una reciente revisión sistemática y metaanálisis, se describió una sensibilidad de 58% y una especificidad del 87% (297). En algunas LQP infrecuentes, como los quistes linfoides, los niveles de CEA pueden variar ampliamente y no tienen utilidad como marcadores diagnósticos. Si el CEA está elevado, debe considerarse junto con los resultados citológicos para evitar un diagnóstico erróneo como neoplasia quística mucinosa (263).

Amilasa:

Un nivel elevado de amilasa permite inferir de forma indirecta que existe comunicación con el CPP. No es un marcador de mucinosidad, pero permite diferenciar LQP-M entre sí, por ejemplo, TPMI vs MCN, o descartar lesiones como el PQ (un nivel de amilasa < 250 U/L permite excluirlo con una sensibilidad del 44% y una especificidad del 98%) (296). Como su objetivo no es el diagnóstico diferencial entre LQP-M y LQP-NM, el análisis de su precisión diagnóstica no será objetivo de esta tesis doctoral, aunque sus niveles si se han considerado en el estudio para establecer el diagnóstico de subtipo concreto de LQP. Tal y como ocurre con el CEA, en algunas LQP infrecuentes como los quistes linfoides, el nivel de amilasa puede ser variable y dar lugar a confusión, por lo que tampoco tiene valor diagnóstico en dicho contexto (263).

Glucosa:

Estudios recientes han venido demostrando que niveles de glucosa en LIQ menores de 50 ng/dL se encuentran en lesiones productoras de mucina. Inicialmente se consideraba que la sensibilidad de este hallazgo era alta (95%), pero su especificidad era mucho menor (57%), lo que indicaba un número nada despreciable de falsos positivos. Sin embargo, un metaanálisis reciente le ha atribuido una sensibilidad y una especificidad para identificar LQP-M de hasta 93% y 89% respectivamente (297), y otros estudios también muy actuales indican una precisión diagnóstica del 89% con un AUC de 0.87 y 0.91 (298), con un rendimiento superior al CEA para identificar LQP-M (299). Su determinación requiere menos volumen de líquido y puede realizarse con un glucómetro junto al paciente, aunque a veces puede verse afectada por su viscosidad (298).

En la tabla 13 se resume la información obtenida del análisis de LIQ para las principales LQP.

| | PQ | CAS | TPMI | MCN | pancTSSPq | pancTNEq | Quistes LINF |
|--------------------|-----|-------------|------------------------|------------------------|-----------|----------|--------------|
| CEA | ↑ ↓ | < 5 ng/ml | ≥ 192 ng/ml (80%) | ≥ 192 ng/ml (80%) | Variable | Variable | Variable |
| Amilasa | ↑ ↑ | ↓ | ↑ | ↓ | ↓ | ↓ | Variable |
| Glucosa | ↑ | ↑ | < 50 mg/dl | < 50 mg/dl | Normal | Normal | ¿? |
| String-sign | — | — | + | + | — | — | — |

Tabla 13. Resumen de la información diagnóstica obtenida del análisis bioquímico del LIQ y el signo de la cuerda, para las principales LQP.

Marcadores bioquímicos en suero sanguíneo:

Ya se ha comentado en varias ocasiones que no existen marcadores bioquímicos en suero que nos permitan realizar un diagnóstico diferencial entre LQPs o detectar precozmente su riesgo de malignización. Sin embargo, ante la identificación de HRS/WF en pruebas de imagen, el Ca 19.9, conocido marcador tumoral del ACDP, se recomienda por algunas GPC (182).

En la sección previa de esta introducción dedicada al ACDP se ha hablado detenidamente de él. Existe poca información publicada sobre el verdadero significado de su elevación en LQP, sin embargo, algunos estudios relativamente recientes lo identifican como factor independiente del riesgo de malignidad en LQP-M, y le atribuyen una sensibilidad limitada en torno a un 34,2%, con una mayor especificidad de 92,4% y una precisión diagnóstica del 73,8%, concretamente en TPMI (282,300).

En algunas LQP infrecuentes, como los quistes linfoides, tanto el CEA como el CA19.9 pueden estar elevados en suero, por lo que debe tenerse precaución para evitar una posible confusión con LQP-M (301).

Estudios Genómicos

Mediante técnicas de secuenciación de nueva generación aplicadas sobre el LIQ es posible identificar mutaciones genéticas que permitan, no solo el diagnóstico diferencial entre LQP-M y LQP-NM, sino también caracterizar los diferentes subtipos de LQP-M, e identificar malignización.

En el diagnóstico diferencial entre LQP, la mayor evidencia se encuentra en relación con las TPMI. Mutaciones en *KRAS* o *GNAS* son muy sensibles y específicas para su diagnóstico. En un estudio multicéntrico prospectivo, la identificación de mutación en *KRAS* presentó una elevada especificidad del 96% pero una sensibilidad bastante baja del 45% (302). En otro estudio, la asociación de *KRAS* y *GNAS* ha demostrado una precisión diagnóstica del 94%, una sensibilidad del 91% y una especificidad del 97% (303). Sin embargo, mutaciones en *KRAS* pueden identificarse también en otros quistes mucinosos, y la mutación *GNAS* es más específica pero infrecuente.

En los CAS, existe bastante evidencia que demuestra que mutaciones en el gen *VHL* se identifican en el 89-100% de los casos (185,304) con elevada especificidad.

Para el diagnóstico de malignización, mutaciones o deleciones en genes como *SMAD4*, *CDKN2A*, *TP53*, *PIK3CA* o *PTEN* presentan una sensibilidad baja de entre el 9-39%, pero con una elevada especificidad del 92-98% (297), y el gen *SPINK1* ha surgido como una nueva herramienta para identificar malignización de LQP-M, con sensibilidad y especificidad elevadas, aunque también presenta cierta utilidad en el diagnóstico diferencial (305,306). Un estudio prospectivo, que incluyó a 595 pacientes, encontró que la combinación de mutaciones de *KRAS* o *GNAS* y alteraciones en *TP53*, *PIK3CA* o *PTEN* tiene una sensibilidad del 89% y especificidad del 100% para detectar neoplasia pancreática avanzada (307).

A pesar de estos prometedores hallazgos, aún se requieren estudios para integrar las pruebas moleculares a las pautas de diagnóstico actual, no todas las LQP tienen un perfil de mutaciones claramente definido, y lo más importante, no es una técnica ampliamente disponible en muchos centros hospitalarios.

Endoscopia avanzada

La utilidad y rendimiento diagnóstico de la USE se incrementa cuando se considera el desarrollo de nuevas tecnologías como el uso de contrastes armónicos (HC-USE), la microscopia confocal (nCLE), o las biopsias con pinza a través de la aguja (USE-TTNB). Sin embargo, todas ellas son técnicas no exentas de inconvenientes, siendo uno de los más relevantes su escasa disponibilidad, que limita su aplicabilidad en la práctica clínica diaria.

Ya se ha comentado brevemente como la HC-USE mejora la detección y caracterización de nódulos sólidos sospechosos en LQP, comparativamente con la USE convencional, pero también con el resto de las pruebas de imagen.

A continuación, se repasarán algunos conceptos importantes del resto de técnicas de endoscopia avanzada, junto con su rendimiento diagnóstico, aunque ninguna de ellas ha podido ser considerada en el estudio realizado en esta tesis doctoral, por falta de disposición en nuestro centro.

La Endomicroscopía confocal (n-CLE: *needle based-Confocal Laser Endomicroscopy*), es una nueva técnica que proporciona imágenes de alta resolución mediante la introducción de una sonda de fibra óptica (0,85mm) a través de una aguja de 19G, permitiendo un análisis histológico de la pared del quiste en tiempo real. En diferentes ensayos clínicos se ha observado su superioridad con respecto al CEA, e incluso a la USE-PAAF en la caracterización de las LQP, con un rendimiento de hasta el 88%, y una precisión diagnóstica de hasta el 96% (291). Sin embargo, es una técnica no exenta de complicaciones como el mayor riesgo de PA o hemorragia intraquística. A esto debe añadirse su coste elevado, que prolonga el tiempo de la exploración, que la curva de aprendizaje del endoscopista es larga y que presenta cierta variabilidad inter-observador. Además, su disponibilidad actualmente es escasa, en determinadas situaciones presenta dificultades técnicas que impiden obtener una imagen adecuada, y no es una prueba totalmente óptima para descartar malignidad, porque únicamente permite visualizar una pequeña parte de la superficie interior del quiste (308).

La TTNB-USE (*USE-Through The Needle Biopsy*) consiste en introducir una minipinza (micropinza de Moray) a través de una aguja de 19 G para realizar una biopsia directa de la pared del quiste. Diferentes publicaciones han demostrado su utilidad en la caracterización de las LQP, con un rendimiento diagnóstico interesante, en torno al 62% para diferenciar LQP-M y LQP-NM, y de hasta el 71,5% para detectar malignidad (309). Su principal inconveniente es su asociación no despreciable con efectos adversos de hasta un 16% (11,5% en series más recientes), la más frecuente la hemorragia intraquística. En una serie publicada recientemente, se identificaron predictores de riesgo asociados a complicaciones en el siguiente orden, de mayor a menor: diagnóstico de TPML, número de pases (a más pases mayor riesgo), la edad (más riesgo a más edad) y la aspiración completa del quiste. Así, se identificó un grupo de alto riesgo (asociado a un 28% de eventos adversos) conformado por pacientes mayores de 65 años, con diagnóstico de TPML en los que se realizan múltiples pases (309). Por tanto, esta es una técnica en la que resulta fundamental la selección adecuada del paciente para asegurar que la ratio riesgo / beneficio es aceptable, y esta circunstancia limita incluso más su rentabilidad diagnóstica.

El futuro nos permitirá conocer su verdadera aplicabilidad e impacto en el proceso diagnóstico de LQP y detección precoz de malignidad.

d. Manejo terapéutico de las LQP

Como ya se ha comentado a lo largo de esta introducción, cuando nos encontramos ante una LQP, la información derivada de las diferentes pruebas diagnósticas sirve para orientar la mejor estrategia terapéutica, que básicamente presenta 3 posibilidades:

1. Cuando el riesgo de malignización es prácticamente inexistente, o bien el paciente no es candidato a seguimiento ni tratamiento, por edad o comorbilidades asociadas, puede ser dado de alta.
2. Cuando se trata de una LQP de aspecto benigno y sin signos de alarma, pero su origen es dudoso o se sospecha origen mucinoso, es necesario establecer un seguimiento preventivo.
3. Cuando se trata de una LQP con signos de alarma y riesgo alto de malignización, hay que plantear al paciente una resección quirúrgica.

Esta decisión suele ser compleja por motivos ya referidos, recomendándose que siempre se tome de forma multidisciplinar en el seno de comités de tumores pancreáticos, y en hospitales de gran volumen.

La evidencia publicada durante los últimos años parece demostrar una baja tasa de transformación maligna de LQP asintomáticas que se diagnostican de forma incidental (0.12% anual), por lo que algunas GPC empiezan a recomendar un seguimiento de “baja intensidad” o bien limitar el período de seguimiento a 5 años en lesiones estables y pacientes asintomáticos (183), con la excepción de pacientes muy jóvenes o con algún tipo de riesgo genético o familiar (181). Sin embargo, no existe un consenso que apoye de forma taxativa esta recomendación y, de hecho, diferentes publicaciones reportan riesgos variables de malignización entre 1-18% en LQP conocidas y estables durante más de 5 años (310–312).

La decisión de continuar o suspender el seguimiento debe siempre individualizarse y tomarse en conjunto con el paciente, que debe estar bien informado de posibles riesgos y beneficios, y haber tenido la oportunidad de resolver dudas. En casos claramente no candidatos a cirugía por edad, comorbilidades asociadas o por rechazo personal, sí parece lógico suspender el seguimiento.

La decisión suele apoyarse en las GPC dedicadas al manejo de diferentes LQP. Sin embargo, existe cierta heterogeneidad en sus recomendaciones, en parte consecuencia de que cada una de ellas plantean escenarios de aplicación diferentes. Entre las GPC más recientemente publicadas se encuentran:

- 2015, guías de la *American Gastroenterology Association* (AGA) (183): LQP asintomáticas e incidentales.
- 2017, guías del *American College of Radiologists* (ACR) (184): LQP asintomáticas e incidentales.
- 2017, última revisión de las guías internacionales de Fukuoka (185): exclusivas de LQP-M (TPMI y MCN).
- 2018, guías del Grupo Europeo de Estudio de Tumores Quísticos del Páncreas (182): extensivas al manejo de la mayoría de LQP en diferentes escenarios clínicos.
- 2018, guías del American College of Gastroenterology (ACG) (240): manejo de LQP en general.
- 2024, guías internacionales de Kyoto (181): manejo exclusivo de TPMI.

En la tabla 14 se muestra una comparativa de sus recomendaciones, poniendo de manifiesto sus discretas discrepancias.

| Seguimiento de LQP de bajo riesgo. Comparativa según diferentes GPC. | | | | | | |
|--|--|---|---|---|-------------------------------------|---|
| Ø Quiste | ACG | AGA | Europa | IAP/Fukuoka ¹ | Ø Quiste | ACR ² |
| < 1 cm | RM / 2 años x 4 años | RM o TC / año. Después / 2 años x 5 años | RM +/- USE/ 6 meses x 1 año, Después/12meses hasta no candidato a cirugía | RM/TC a los 6 meses y después cada 2 años | < 1,5 cm | RM/USE/TC anual x 5 y después cada 2 años x 2 |
| | | | | RM/TC cada 6 meses x 1 año Después anual x 2 años y después cada 2 años | | 1,5 - 1,9 cm con comunicación con CPP |
| 1 - 2 cm | RM / año x 3 años Después RM / 2 años x 4 años | | | USE en 3-6 meses, después RM-USE alternas cada año | 2 - 2,5 cm con comunicación con CPP | RM/USE/TC cada 6 meses x 4, después cada año x 2, después cada 2 años x 3 |
| | | | | USE en 3-6 meses, después RM-USE alternas cada año | | 1,5 - 2,5 cm sin comunicación con CPP |
| 2 - 3 cm | RM o USE / 6-12meses x 3 años, Después RM anual x 4 años | | | | > 2,5 cm | RM/USE/TC cada 6 meses x 4, después cada año x 2, después cada 2 años x 3 |
| > 3 cm | RM-USE alternas / 6 meses x 3 años, después RM-USE alternas anual x 4 años | | | RM-USE alternas cada 3-6 meses | > 2,5 cm | RM/USE/TC cada 6 meses x 4, después cada año x 2, después cada 2 años x 3 |

Tabla 14. Resumen de las recomendaciones de diferentes GPC para el seguimiento de LQP. ¹ dedicadas únicamente a TPMI. ² varían según grupos de edad. Tabla adaptada de Aziz et al, 2022 (236). *Abreviaturas:* ACG American College of Gastroenterology, ACD American College of Radiology, AGA American Gastrointestinal Association, CPP Conducto pancreático principal, GPC Guías de

Así, cada GPC recomienda sus propios esquemas de seguimiento y manejo terapéutico. En el siguiente esquema se muestra el algoritmo de manejo, tanto terapéutico como de seguimiento, propuesto por las guías de Kyoto, por ser las más recientemente publicadas, con el inconveniente de estar dedicadas de forma exclusiva al manejo de las TPMI.

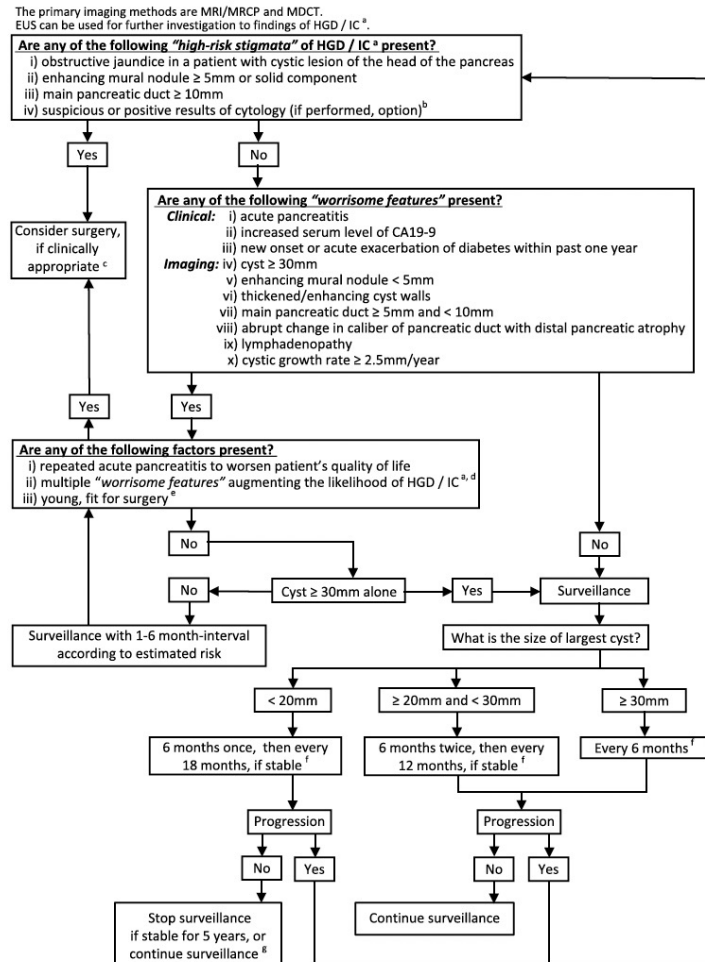


Figura 13. Algoritmo de manejo para TPMI recomendado por la Guía internacional de Kyoto. Imagen tomada de Ohtsuka et al, 2023 (181).

Tras la resección quirúrgica de una TPMI, se recomienda realizar un seguimiento del páncreas remanente de por vida, en tanto en cuanto el paciente sea buen candidato a cirugía. Este seguimiento será más estrecho para TPMI-CP o en caso de haberse identificado DAG/CI en la TPMI resecada (182).

Las recomendaciones para el resto de LQP se pueden resumir como continúa:

- CAS: únicamente se recomienda su resección quirúrgica en caso de ser sintomáticos por compresión de estructuras vecinas (vía biliar, estómago, duodeno, vena porta...). Si el diagnóstico es certero y se mantienen asintomáticos, no requieren de ningún seguimiento específico. En caso de diagnóstico incierto, pueden vigilarse, siguiendo una pauta similar a la recomendada para TPMI-RS (182).
- MCN: se recomienda cirugía en MCN sintomáticas, con algún factor de riesgo (como por ejemplo un nódulo mural) o de tamaño > 40 mm. En caso de no cumplir ninguno de estos requisitos, se recomienda seguimiento, preferiblemente con RM o USE (o una combinación de ambas) cada 6

meses durante el primer año y posteriormente anual, hasta que el paciente deje de ser buen candidato quirúrgico (182). Tras resección quirúrgica, si la resección ha sido completa, no es necesario ningún seguimiento sobre el páncreas remanente.

- pancTSSPq: se recomienda siempre la resección de estos tumores, y su pronóstico postquirúrgico es excelente. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, dada su infrecuencia, las series largas y estudios de calidad son escasos (182).
- pancTNEq: se recomienda su resección quirúrgica cuando su tamaño es > 2 cm. En casos asintomáticos y lesiones < 2cm, se recomienda su seguimiento (182)
- Quiste linfoepitelial: Puede tratarse de forma conservadora cuando es asintomático y el diagnóstico es aceptablemente seguro (lesión de aspecto radiológicamente benigno, citología por USE-PAAF negativa para malignidad en la que se identifiquen células epiteliales, y un CEA en LIQ bajo) (249).
- Linfangioma: suele extirparse quirúrgicamente para evitar síntomas derivados de su crecimiento. No siempre es posible su resección radical, y en caso de resección incompleta la recidiva es frecuente. Sin embargo, tras resecciones completas, el pronóstico es excelente (313).
- Colecciones inflamatorias (PQ y WON): la mayoría se resuelven espontáneamente, especialmente si son pequeñas (< 4 cm). Sólo se recomienda drenaje en caso de síntomas y/o complicaciones, lo que ocurre en menos del 10% de los casos. Una de las más temidas es la sobreinfección, más frecuente en el caso de las WON (en torno al 30%) pudiendo llegar a triplicar la mortalidad del paciente (10-15% si la colección es estéril vs 30-45% si está infectada). La mejor estrategia de drenaje debe decidirse de forma multidisciplinar y seguir la estrategia *step-up approach* (de menor a mayor invasividad), que ha demostrado disminuir la morbimortalidad asociada, así como la estancia hospitalaria y el coste sanitario. Normalmente se comienza por técnicas de drenaje endoscópico guiado por USE, por vía transgástrica o transduodenal, mediante la colocación de stents de aposición luminal (tipo Axios®, Boston Scientific). Cuando este no es posible o es insuficiente, se complementa con técnicas de drenaje percutáneo (*múltiple gateway*), siendo el drenaje quirúrgico el último recurso, por su alta tasa de complicaciones asociadas (314).

Existen alternativas a la cirugía, en casos de contraindicación o rechazo del paciente, mediante técnicas menos invasivas, como la inyección de alcohol y otros quimioterápicos al interior de los quistes o ablación por radiofrecuencia. Sin embargo, son opciones todavía en desarrollo, no muy extendidas en la práctica clínica, salvo casos específicos.

CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.

a. Composición de los líquidos biológicos. Concepto de proteoma y peptidoma. ¿Por qué investigar con calorimetría?

Los diferentes líquidos biológicos, como por ejemplo el suero o el plasma sanguíneos, están compuestos por un conjunto de metabolitos entre los que predominan las proteínas. El conjunto de proteínas que componen un líquido biológico recibe el nombre de *proteoma* (315).

El *proteoma* del suero/plasma humano es utilizado habitualmente en la medicina como indicador de salud y enfermedad, y la medición de sus diferentes concentraciones de proteínas, incluyendo técnicas de electroforesis y otros ensayos inmunoquímicos, se consideran importantes herramientas de evaluación clínica. Las diferencias en su concentración o la interrelación que estas proteínas tienen entre sí, pueden ser un marcador de infección, inflamación o producirse como consecuencia de la progresión de enfermedades y procesos fisiopatológicos. El *proteoma* del suero/plasma humano está constituido en un 99% por un pequeño número de proteínas predominantes (apenas 10 proteínas constituyen el 90%)(315), en mayor o menor concentración (desde pg/mL hasta varios mg/mL). Estas proteínas han sido profundamente analizadas, y sus modificaciones relacionadas con diferentes estados de salud y enfermedad.

Al 1% restante, constituido por componentes minoritarios de los que apenas se tiene información, pero que podrían resultar de cierta utilidad diagnóstica (315), se le ha venido a denominar *peptidoma*. Estas moléculas, numerosas pero presentes en muy baja concentración, pueden combinarse con otras proteínas más abundantes o pesadas, lo que dificultaría todavía más su identificación y estudio. A este concepto se le ha denominado *interactoma*. Según esta teoría, determinados componentes y potenciales biomarcadores de una determinada enfermedad, podrían estar unidos a albúmina o a inmunoglobulinas, formando complejos difíciles de evaluar por las técnicas habituales (316,317).

Si se acepta que los cambios producidos por una enfermedad se manifiestan no solo modificando los niveles de determinadas proteínas individuales, sino también modificando sus interacciones, parece razonable que, para establecer un diagnóstico, se investiguen también determinados patrones de interacción proteica característicos de un proceso patológico determinado, más que un biomarcador concreto. Las técnicas de laboratorio habitualmente empleadas para el análisis biológico (análisis bioquímico para cuantificación de proteínas, electroforesis, espectrometría de masas...), buscan identificar cambios en las concentraciones individuales de determinados componentes y establecer sus valores habituales en individuos sanos y en distintas situaciones de enfermedad. El clínico, posteriormente, podrá comparar estos valores e inferir la presencia de una enfermedad, o incluso su proceso evolutivo. Sin embargo, esta interpretación individualizada de los cambios que una enfermedad induce en un determinado marcador biológico podría ser insuficiente, y ser la razón de muchos falsos positivos y falsos negativos que encontramos en los resultados de los estudios diagnósticos habituales.

Análogamente a lo que ocurre con la sangre, el LIQ es otro líquido biológico también constituido por una mezcla de metabolitos entre los que destacan las proteínas. Por los cada vez más habituales estudios de proteómica realizados en LIQ, sabemos que su composición es diferente entre los diferentes subtipos de LQP, por tratarse de lesiones anatómica y fisiopatológicamente heterogéneas (318,319).

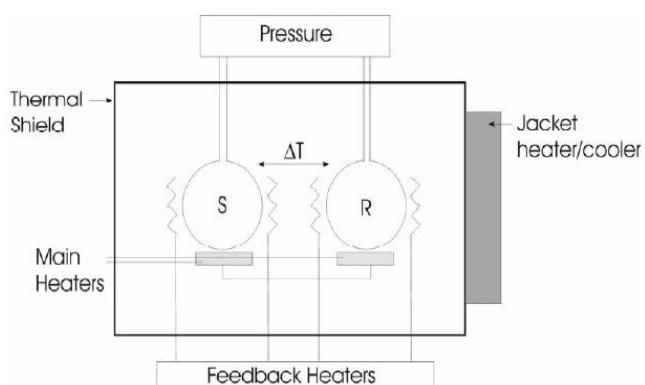
A lo largo del desarrollo de esta tesis doctoral se ha comprobado cómo la exactitud de muchos marcadores biológicos aceptados para el diagnóstico de ACDP y de LQP es insuficiente, identificando imprecisiones relevantes. La situación se ve agravada por el hecho de que ambas enfermedades sean, al menos en sus estadios más precoces, paucisintomáticas, y cuando existen síntomas, estos tienden a ser inespecíficos, tal y como se ha comentado durante la introducción. Esto fundamenta en ambos casos, la necesidad de seguir buscando nuevas dianas diagnósticas que mejoren la rentabilidad de los estudios ya disponibles, en el caso del ACDP para optimizar su diagnóstico precoz, y en el caso de las LQP, para su mejor caracterización y predicción del riesgo de malignización. Esto permitiría mejorar el pronóstico de una enfermedad tan temida como es el ACDP.

El rendimiento de muchos de estos marcadores biológicos mejora, cuando se consideran de forma simultánea dos o más, consiguiendo mejores porcentajes de sensibilidad, especificidad, y precisión diagnóstica. Por esta línea diagnóstica de analizar simultáneamente datos provenientes de diferentes fuentes de información, apuestan cada vez más investigaciones en ACDP y LQP (318,320), pero también en patología inflamatoria pancreática, muchas veces apoyándose en herramientas de inteligencia artificial para la generación de algoritmos de clasificación (321,322).

La idea de buscar nuevos enfoques diagnósticos que analicen simultáneamente diferentes datos, apoyados en herramientas de inteligencia artificial es la base de esta tesis. En este último concepto se basa precisamente nuestra idea de investigar el potencial de la calorimetría como herramienta diagnóstica en patología oncológica pancreática y lesiones quísticas pancreáticas.

b. Calorimetría Diferencial de Barrido. Concepto de Termograma

La Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB o DSC por sus cifras en inglés: *Differential Scanning Calorimetry*) es una técnica termoanalítica utilizada tradicionalmente para estudiar la estabilidad térmica de las proteínas. Surgió en el año 2007 como una herramienta novedosa en biomedicina, cuando por primera vez, Chaires y su equipo, demostraron su potencial diagnóstico realizando un análisis calorimétrico del plasma sanguíneo (315). Su aplicación permite medir los perfiles de desnaturalización térmica de un determinado líquido biológico, habitualmente suero o plasma (aunque no únicamente), y analizar el comportamiento de todos sus componentes simultáneamente, cuando se someten a un barrido de temperatura, es decir, cuando les aplicamos calor.



Específicamente, esta metodología consiste en comparar el comportamiento térmico entre dos celdas con diferentes contenido: la primera con una solución de las proteínas a estudio (suero/plasma u otros, con diluyente) y la segunda, de control, únicamente con diluyente. Ambas celdas son sometidas a un calentamiento constante y controlado, durante el cual, las proteínas de la primera celda sufrirán un progresivo desplegamiento (figura 14).

Figura 14. Esquema de un calorímetro típico. Imagen tomada de Garbett et al, 2007 (315). Notas: S: Muestra a estudio; R: muestra de referencia; ΔT : Diferencia de temperatura. Feedback Heaters: generadores térmicos.

Este proceso químico inducido liberará o absorberá calor, y esto condicionará un desequilibrio térmico entre ambas celdas. Para reinstaurar este equilibrio se utilizan unos generadores térmicos accionados eléctricamente y conectados a las mismas. El comportamiento térmico de cada celda es diferente, dada su diferente composición (desplegamiento de proteínas), y la potencia aplicada por estos retroalimentadores será proporcional a los cambios de la capacidad calorífica (C_p) que acompañan a las reacciones de desnaturalización y disociación inducidas por el calor. La C_p es el cociente entre la cantidad de energía calorífica transferida a un cuerpo o sistema (en este caso, a la dilución de líquido biológico o dilución neutra) y el cambio de temperatura que este experimenta.

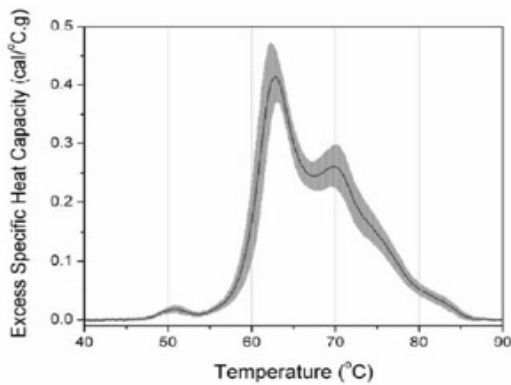


Figura 15. Termograma promedio de plasma de un individuo sano. La línea continua representa el promedio de desnaturalización de cada uno de los componentes del plasma. El sombreado gris refleja la desviación estándar. Imagen tomada de Garbett et al, 2007 (315).

Este comportamiento quedará reflejado en una gráfica ($x = \text{temperatura}$; $y = C_p$), que recibe el nombre de *termograma* y que traduce o refleja todo el proceso de desnaturalización térmica. La curva resultante será el promedio de todas las curvas de desnaturalización de cada uno de los componentes del líquido analizado (figura 15).

En el caso de los líquidos biológicos (suero, plasma, y en esta investigación, LIQ) compuestos por una solución de proteínas y macromoléculas, el termograma proporciona una firma específica para cada muestra, reflejo de su composición proteica (323). Ofrece por tanto una ventana y una base física únicas para analizar el *proteoma* en toda su integridad, incluyendo el denominado *interactoma*. Por ejemplo, un ligando (*peptidoma*) unido a una proteína mayoritaria (*proteoma*), podría estabilizarla y producir un aumento en su temperatura media de desnaturalización. Por el contrario, si un ligando tiene mayor afinidad por la forma desnaturalizada de la proteína, se observará una disminución en la temperatura media de desnaturalización. Estos cambios en el patrón de desnaturalización térmica se pueden detectar a través del termograma que, de esta forma, permite deducir diferencias en la composición del líquido analizado, pero también modificaciones o incluso interacciones entre sus diferentes metabolitos (324).

En los últimos años, este método se encuentra en expansión en el área biomédica para monitorizar el comportamiento calorimétrico de diferentes líquidos biológicos complejos. Así, vienen publicándose investigaciones con calorimetría en suero/plasma sanguíneo (325), pero también en el líquido sinovial (326,327), el líquido cefalorraquídeo (328), la saliva (329), la orina (330), ...etc.

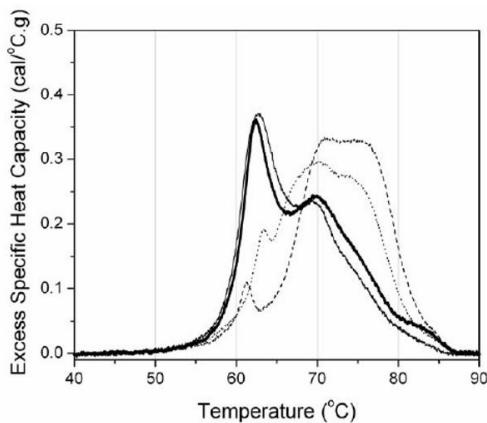


Figura 16. Termogramas obtenidos de muestras de suero de pacientes diabéticos, con enfermedad coronaria leve (líneas continuas) y enfermedad coronaria severa (líneas discontinuas). Imagen tomada de Garbett et al, 2007 (315).

Las diferentes enfermedades inducen modificaciones en la composición e interacciones de las proteínas y macromoléculas que constituyen los fluidos biológicos. Estos cambios modifican por tanto los termogramas, respecto del patrón del mismo fluido en un individuo sano. Las primeras publicaciones en este sentido fueron los resultados Garbett en el año 2007, comparando muestras de suero de pacientes diabéticos con distintos grados de enfermedad coronaria (figura 16).

Así, cambios de décimas de grados de temperatura podrían ser mucho más significativos que los pequeños cambios de tamaño, forma o carga resultante de la unión de una proteína a un receptor observado mediante electroforesis o métodos de espectrometría de masas (331). Desde aquella primera publicación de Garbett, son ya múltiples las investigaciones publicadas que confirman la existencia de cambios en los perfiles de la CDB en diversas enfermedades, respecto de los perfiles de sanos, como por ejemplo en cáncer de piel, cáncer de mama, cáncer de pulmón, glioblastoma o enfermedades neurodegenerativas (332–337).

Si bien la CDB no permite identificar, por el momento, quienes son concretamente los actores intrínsecos entre todos los integrantes del fluido biológico que ocasionan este cambio calorimétrico en el termograma, sí que aporta información relevante sobre la complejidad global del proteoma, el peptidoma y el interactoma, convirtiéndose en una herramienta valiosa para el diagnóstico y la monitorización de muchas enfermedades, mediante la detección de los cambios globales que estas inducen en los diferentes fluidos biológicos (338).

c. Biopsia Líquida Térmica (TLB: *Thermal Liquid Biopsy*)

Nuestro grupo de investigación comenzó a aplicar la CDB a muestras biológicas en el año 2015 (339). En el año 2018, en un estudio en colaboración con la Dra Garbett, pionera en la aplicación diagnóstica de la calorimetría, el grupo acuñó la expresión Biopsia Líquida Térmica (*Thermal Liquid Biopsy* o TLB por sus siglas en inglés) para definir la técnica de la CDB aplicada a muestras biológicas de pacientes con diferentes enfermedades (337,339–342). Desde entonces, venimos desarrollando con éxito esta técnica como marcador biológico “*composite*” de las proteínas y otras macromoléculas que integran diferentes líquidos biológicos en la salud y en la enfermedad.

Inicialmente el grupo desarrolló una metodología de enfoque fenomenológico y análisis multiparamétrico de los termogramas, que recibió el nombre de *TLB-score*, y que permitió publicaciones en adenocarcinoma gástrico (339), melanoma (342), cáncer de pulmón (343), esclerosis múltiple (341), y una primera investigación en una pequeña muestra de LQP con LIQ (337). En concreto, en el estudio en adenocarcinoma gástrico la TLB permitió diferenciar pacientes sanos de enfermos y sus diferentes estadios (339). En el caso del melanoma, el análisis termográfico del plasma fue capaz de correlacionarse con el estadio clínico basado en criterios clínicos y de imagen, aportando información muy útil para detectar cambios en la enfermedad incluso antes de su manifestación clínica (342). En el cáncer de pulmón, la TLB proporcionó un *score* predictivo basado en los termogramas que se correlaciona muy fuertemente con la presencia del tumor, lo que podía situarla como una técnica de cribado de esta grave enfermedad (340). El estudio de 45 pacientes con esclerosis múltiple y 40 pacientes control, demostró que la TLB es capaz de discriminar con una certeza próxima al 80% a los pacientes con estadios iniciales, momento en el que es especialmente relevante diferenciar la enfermedad de otros procesos neurológicos (341).

En los últimos años, se ha investigado la implementación de herramientas de inteligencia artificial (algoritmos de aprendizaje automatizado o *machine learning*), siguiendo líneas de publicaciones recientes (338,344,345) pero desarrollando una metodología propia que se ha denominado i-TLB (*intelligent-Thermal Liquid Biopsy*), y que ha sido recientemente publicada en la revista científica de primer cuartil *Advanced Intelligent Systems* (346). Con esta nueva metodología se han desarrollado las investigaciones más recientes en CCR y ACDP, desarrollando interesantes modelos de clasificación que permiten diferenciar al paciente sano del enfermo. Cuando estos modelos proporcionan un resultado positivo (mayor que cero) el paciente es clasificado como portador de la patología oncológica, mientras que, si el resultado es negativo (menor que cero), la patología oncológica se descarta. Además, estos modelos i-TLB parecen incluso mejorar su sensibilidad, manteniendo la especificidad, cuando se combinan con el análisis de la sintomatología mediante un modelo formado por variables clínicas denominado i-Clin (347).

A partir de estos conocimientos, la hipótesis de esta tesis fue que el análisis calorimétrico del suero en pacientes con ACDP, en diferentes estadios de diseminación, y de LIQ de pacientes con diferentes LQP, podría permitir identificar estas diferencias, facilitando el diagnóstico precoz del ACDP o el diagnóstico diferencial entre LQP, e incluso detectando cambios precoces inducidos por la transformación maligna de una LQP. Las herramientas de inteligencia artificial nos han permitido desarrollar modelos de clasificación más sofisticados que interpretan mejor la información obtenida de los termogramas, y pueden analizar datos con mayor variabilidad como, por ejemplo, los obtenidos en muestras de LIQ (348).

El presente trabajo de investigación constitutivo de tesis doctoral comprende dos estudios independientes, aunque complementarios:

- el primero se centra en una muestra de 122 pacientes con ACDP reclutada de forma prospectiva en dos hospitales terciarios de nuestro medio, analizando el estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico y posibles variables que se relacionen con un diagnóstico más precoz, incluyendo el análisis mediante iTLB de muestras de suero.
- el segundo se centra en una muestra de 35 pacientes con LQP reclutada también de forma prospectiva en un hospital terciario de nuestro medio, analizando la eficacia de las diferentes técnicas diagnósticas disponibles para su diagnóstico diferencial y la detección precoz de malignización, incluyendo el análisis mediante iTLB de muestras de LIQ.

2. Estudio del Adenocarcinoma ductal de páncreas.

HIPÓTESIS.

- Para mejorar la supervivencia de los pacientes con ACDP es necesario optimizar su diagnóstico precoz. Ante la ausencia de biomarcadores serológicos hay que centrar la atención en otros factores que pueden ser clave para sospechar su desarrollo en estadio preclínico.
- El análisis conjunto de datos demográficos, síntomas inespecíficos, factores de riesgo o procesos patológicos que pueden estar relacionados, así como la revisión de las características de los pacientes en los que se consigue cirugía R0, podrían incrementar el índice de sospecha y optimizar el diagnóstico precoz.
- La Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB), permite un análisis global de la composición del suero de estos pacientes, y puede ser una herramienta útil para su diagnóstico precoz, lo que sería especialmente relevante en población de riesgo medio en los que no existen programas de cribado coste-efectivos.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

a. Objetivos principales.

- Realizar un estudio descriptivo de las características demográficas y clínicas, factores de riesgo, biomarcadores analíticos y resultados quirúrgicos de los pacientes con ACDP en nuestro medio, con el objetivo de identificar variables asociadas al diagnóstico en estadios más precoces, preferiblemente resecables.
- Obtener un modelo calorimétrico basado en biopsia líquida térmica (iTLB) a partir de muestras de suero (modelo iTLBcp1) que permita diferenciar entre controles sanos y pacientes con ACDP, analizando además su relación con diferentes variables clínicas y demográficas.

b. Objetivos secundarios.

- Desarrollar un modelo calorimétrico basado en iTLB utilizando muestras de suero de pacientes con ACDP, para clasificarlos según estadios de resecabilidad, identificando de manera preferente aquellos en estadios precoces con mayor probabilidad de resección curativa.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se realizó un estudio descriptivo observacional, de reclutamiento prospectivo y multicéntrico, constituido por pacientes diagnosticados de ACDP siguiendo criterios clínicos, analíticos, histológicos y de imagen. Posteriormente se realizó el estudio calorimétrico del suero de estos pacientes, y para la elaboración del modelo predictivo se incluyeron sueros de pacientes control donantes de sangre sanos.

a. Pacientes con ACDP.

Entre enero de 2014 y mayo de 2023, se reclutaron de forma prospectiva muestras de suero sanguíneo de 125 pacientes con diagnóstico inicial de ACDP por prueba de imagen (TAC-MD), en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (HCULB) y en el Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS) de Zaragoza. Estos son los 2 hospitales terciarios de mayor volumen de la Comunidad Autónoma de Aragón, centros de referencia autonómicos para patología pancreática.

El reclutamiento se produjo durante el ingreso hospitalario en el que se establecía el diagnóstico de ACDP, por lo que los pacientes no habían iniciado todavía ningún tipo de tratamiento oncológico. La recogida de muestras fue largamente interrumpida por la pandemia COVID-19, entre enero de 2020 y abril de 2021. La inclusión de pacientes se realizó tras proporcionar a cada uno información detallada, verbal y escrita, facilitada por la autora de la tesis, sobre el contenido y objetivos del estudio de investigación y tras la obtención de su consentimiento informado verbal y escrito, una vez que el paciente había podido resolver todas sus dudas y tras la firma de los documentos (ver anexos) Este estudio fue aceptado por el Comité de Ética de Investigación de la Comunidad Autónoma de Aragón (CEICA) con fecha 17 de abril de 2013, Acta Nº CP 08/2013 (ver anexos).

b. Pacientes control sanos.

Se consideraron inicialmente 118 muestras de donantes de sangre procedentes de una colección del Banco de Sangre y Tejidos de Aragón y facilitada por el Biobanco del Sistema de Salud de Aragón, integrado en la Red Nacional de Biobancos. De los 118 sujetos, se excluyeron finalmente 3 por no disponer de datos sobre sexo y edad de los mismos.

El grupo estaba constituido por sujetos sanos, caucásicos, sin evidencia de padecer ninguna otra enfermedad oncológica. Se trata de una población de distribución homogénea, balanceada y ajustada en edad con nuestra cohorte de pacientes con ACDP.

c. Criterios de inclusión y exclusión.

El reclutamiento de pacientes con ACDP se realizó conforme a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Ser mayor de 18 años.
- Haber aceptado la participación en el estudio y firmado el consentimiento informado.
- Diagnóstico de ACDP mediante los criterios clínicos, analíticos y de pruebas de imagen indicados en las GPC vigentes (140) en cualquier estadio TNM o de resecabilidad quirúrgica.
- Diagnóstico de ACDP mediante los criterios clínicos, analíticos y de pruebas de imagen indicados en las GPC vigentes (140) con cualquier *performance status* según la escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) (349).
- Haber sido evaluados por el Comité de Tumores pancreatobiliares del HCULB y del HUMS, con toma de decisión diagnóstico-terapéutica multidisciplinar.

Criterios de exclusión:

- Diagnóstico de cualquier otra enfermedad neoplásica, infecciosa o inflamatoria no relacionada directamente con el diagnóstico de ACDP, en el momento de su inclusión en el estudio.
- Presentar deterioro cognitivo que impida entender y firmar el consentimiento informado.
- Ser diagnosticado durante el estudio o posteriormente, de un diagnóstico diferente a ACDP.
- Haber iniciado cualquier tipo de tratamiento relacionado con su proceso oncológico.
- Embarazo.

d. Variables recogidas

Se presentan esquematizadas en las siguientes tablas 15 y 16:

| VARIABLES GENERALES RECOGIDAS PARA EL ESTUDIO DE ACDP | | | | | | | |
|---|---|---|---|--|----------------------------------|---------------------|---|
| Datos Demográficos y Clínicos | Edad | Años | Modalidades diagnósticas | Prueba de imagen | ECO | CPRE | |
| | Sexo | Masculino Femenino | | | TAC | PET/TAC | |
| | ICC (Edad) | Leve (0-2) Moderado (3-4) Grave (≥ 5) | | | RM/CPRM | USE | |
| | ECOG | 1-5 | | | Gammagrafia | | |
| | IMC (kg/m²) | Infrapeso < 18,5 Normopeso 18,5-24,9 Sobrepeso 25-29,9 Obesidad ≥ 30 | | | Biomarcadores Suero | | Colestasis: Brrb Tumorales: CEA Ca19.9 Inflamatorios: PCR Nutricionales: Prot T. Alb |
| | Hábito tabáquico | Fumador Exfumador No fumador | | | Características del tumor | Localización | Cabeza Cuerpo-cola Difuso |
| DM | No diabético Debut diabético* Diabetes previa | TNM | I-II-III-IV | | | | |
| Pancreatitis Crónica (PC) previa | Sí / No | Resecabilidad | Resecable Borderline-resecable Localmente Avanzado Metastásico | | | | |
| Síntomas | Ictericia Pérdida de peso** Dolor abdominal +/- dorsal Pancreatitis aguda Diarrea Prurito Otros | Anatomía Patológica | Adenocarcinoma ductal pancreático | | | | |
| Población de alto riesgo genético | Sí | ACDP familiar Síndrome genético | Supervivencia | Meses | | | |
| | No | | Fallecimiento | Sí / No | | | |
| | | | | Fecha | (dd/mm/aa) | | |
| | | | Causa | Progresión tumoral Cirugía Otros | | | |

Tabla 15. Variables generales recogidas en el estudio de ACDP. * Diagnóstico de DM en los 6 meses previos al diagnóstico de ACDP. ** Pérdida de peso inexplicada y $\geq 5\%$. **Abreviaturas:** AP: Anatomía Patológica, Ca 19.9: Antígeno Carbohidrato 19, CEA: Antígeno Carcinoembrionario, CPRE: Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica, CTPH: Colangiografía Transaparietohéptica, DM: Diabetes Mellitus, DPC: Duodenopancreatectomía cefálica, ECO: Ecografía abdominal, PCR: Proteína C Reactiva, PD: Pancreatectomía distal, PET: Tomografía por emisión de positrones, Prot T.: proteínas totales, PT: Pancreatectomía total, RM/CPRM: Resonancia Magnética/ColangiRM, TAC: Tomografía axial computerizada, USE: Ultrasonografía Endoscópica.

Interpretación ICC corregido por edad: Factores de comorbilidad considerados: Infarto agudo de miocardio, Insuficiencia cardíaca congestiva, Enfermedad arterial periférica, Enfermedad cerebrovascular, Enfermedad Pulmonar crónica, Úlcera gastroduodenal, Enfermedad renal crónica, Leucemia o enfermedades linfoproliferativas, Hepatopatía, Neoplasia sólida (excluido el tumor de piel no melanoma), Enfermedades del tejido conectivo.

Interpretación ECOG: Valores entre 1 y 5

Interpretación Bilirrubina (mg/dL): elevada si $> 1,2$ mg/dL, indicativa de obstrucción del conducto biliar, se considera HRS.

Interpretación CEA (ng/mL): concentración > 3 ng/mL indicativo de malignidad.

Interpretación Ca 19.9 (U/mL): concentración > 37 U/mL: indicativo de malignidad en ausencia de colestasis.

Interpretación PCR: concentración $> 0,5$ mg/dL sugestivo de proceso inflamatorio activo.

Interpretación Proteínas totales: concentración $< 6,4$ gr/dL marcador de desnutrición.

Interpretación Albúmina; concentración $< 3,5$ gr/dL marcador de desnutrición.

| VARIABLES DEL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO RECOGIDAS PARA EL ESTUDIO DE ACDP | | | |
|--|---|--|---|
| Tratamiento quirúrgico | Fecha | dd/mm/aa | Drenaje biliar prequirúrgico |
| | Modalidad | Curativa Paliativa | Sí / No. Fecha dd/mm/aa |
| | Si Curativa | Técnica: DPC PT PD Resección R0: Sí / No | Técnica CPRE CTPH |
| | Si Paliativa | Modalidad: Derivación Gastrointestinal Derivación Biliar Doble derivación Laparoscopia Otras | Prótesis Plástica Metálica |
| Complicaciones quirúrgicas | Escala Clavien-Dindo I – II – III – IV – V * | Bilirrubina a fecha de cirugía | Complicaciones |
| | Tipo de complicación | Fístula pancreática Hemorragia Enlentecimiento vaciado gástrico Fuga/fístula biliar | ≥ 15 mg/dL (Sí / No) Valor en mg/dL |

Tabla 16. Variables del tratamiento quirúrgico recogidas durante el estudio de ACDP. *Complicaciones menores: Clavien-Dindo I-II; Complicaciones mayores; Clavien-Dindo III-V. **Abreviaturas:** ACDP: adenocarcinoma ductal pancreático; CPRE: Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica, CTPH: Colangiografía Transaparietohéptica; DPC: Duodenopancreatectomía cefálica; PD: Pancreatectomía distal, PT: Pancreatectomía total.

e. Procesamiento de las muestras

De cada paciente con ACDP se obtuvieron 5 ml de sangre periférica, recogidos en tubo con gel separador (BD Vacutainer®) en el momento de la inclusión en el estudio. Cada paciente, y sus muestras correspondientes, fueron identificados con un código interno asociado, con objeto de garantizar el anonimato, siguiendo las normas descritas en el protocolo aprobado por el CEICA.

Las determinaciones analíticas, tanto bioquímicas (bilirrubina, PCR, albúmina y proteínas totales), como de los marcadores tumorales Ca19.9 y CEA, se realizaron en muestras frescas, en los laboratorios clínicos del HCULB y HUMS, según protocolo habitual, siguiendo controles internos y externos de calidad.

Para el análisis calorimétrico, las muestras de sangre periférica se dejaron coagular y posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos, dentro de las 3 horas posteriores a la extracción. El suero resultante se distribuyó en alícuotas y se almacenó a -80° C hasta su análisis posterior. Previamente

al análisis en el CDB, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se centrifugaron y se diluyeron en solución salina tamponada filtrada con fosfato (PBS) al 1:25, utilizando 400 μL para el ensayo.

f. Preparación de termogramas

Como se ha detallado en la introducción dedicada a la CDB, los termogramas son gráficas que representan el comportamiento de un líquido biológico al someterlo a un aumento controlado de temperatura. Este comportamiento es consecuencia del desplegamiento o desnaturalización de las proteínas y otras moléculas que lo componen. Esto supone una valiosa fuente de información sobre el proteoma, el peptidoma y el interactoma del líquido analizado, es decir, sobre su composición, pero también sobre las interacciones entre sus diferentes componentes.

Los termogramas del estudio se obtuvieron a partir del análisis de las muestras de suero mediante un calorímetro de barrido diferencial VP-DSC capilar automatizado de alta sensibilidad (*CBD MicroCal, Malvern-Panalytical, Reino Unido*). La línea basal del instrumento fue obtenida rutinariamente antes de cada experimento. Para su análisis, las muestras de suero fueron diluidas según dilución comentada previamente. La velocidad de barrido fue de $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, y el rango de escaneo de los 10°C hasta los 95°C . En caso de que no fuera posible obtener un termograma a partir de una muestra de suero, el paciente se excluía, aplicándose un análisis de caso completo sin valores de imputación.

Posteriormente, los termogramas se procesaron mediante un software desarrollado por el grupo e implementado en Origin 7 (*OriginLab Northampton, MA, USA*), que incluía la sustracción y corrección de la línea de base, la interpolación para obtener puntos de datos distribuidos uniformemente en el intervalo de temperatura ($\Delta T = 0,25^{\circ}\text{C}$) y la restricción del análisis al intervalo entre 40°C y 95°C . Posteriormente, cada termograma se normalizó por su área, previamente al análisis detallado de los cambios observados en los mismos y su correlación con los datos clínicos.

Las temperaturas y su valor de C_p fueron las variables predictoras del modelo de clasificación obtenido, cuatro por cada grado comprendido entre 40°C y 95°C (4×55), por lo que se disponía inicialmente de un total de 221 temperaturas y posibles variables predictoras. Con el objetivo de reducir el número de variables predictoras/temperaturas y evitar el sobreajuste, se redujo la información a cada grado de temperatura (en lugar de cada $0,25^{\circ}\text{C}$), seleccionando la franja de temperatura en el que se detectaron mayores diferencias, que fue concretamente entre 60°C y 80°C . Así se consiguió reducir el número de variables predictoras a 21 (60°C , 61°C , 62°C ...hasta 80°C).

g. Descripción del modelo de aprendizaje automatizado.

La metodología de análisis se basa en la obtención de un modelo de clasificación, a partir de la información obtenida de la forma de los termogramas. Esta información se obtiene, como hemos comentado, al usar como variables predictoras las temperaturas, o más concretamente, parejas de temperaturas (y su valor de C_p), mediante la función *K-Top-Scoring-Pair* (KTSP) (*librería switchBox de R*) (350). KTSP se define como un método robusto de clasificación a partir de datos de alta dimensión basado en un pequeño subconjunto de características, que lo hace menos sensible al sobreajuste y potencialmente fácil de interpretar en términos biológicos. Tradicionalmente se ha planteado este tipo de herramientas para analizar datos basados en *ómicas*. La aplicación de *switchBox* fue la propuesta debido a las características de alta dimensión de los datos obtenidos de los termogramas.

Al aplicar el paquete *switchBox* a los datos de termogramas, la variable predictora cuantitativa continua (valor de C_p) se convierte en una variable dicotómica. El algoritmo de machine learning busca parejas de temperaturas que permitan distinguir entre los termogramas procedentes de controles y los termogramas procedentes de casos. Para ello, identifica parejas de temperaturas para las cuales se cumple que, por ejemplo, en un paciente con ACDP, a la temperatura 1 (T_1) el valor de C_p (C_pT_1) es mayor que el valor de C_p a la temperatura 2 (C_pT_2), es decir $C_pT_1 > C_pT_2$, mientras que ocurre lo contrario en los

pacientes control sano, es decir $C_pT1 < C_pT2$. De esta forma, se obtienen múltiples variables dicotómicas que son parejas de temperaturas, para las cuales $C_pT1 > C_pT2$ se cumple en un grupo, pero no en el otro, permitiéndonos asociar esto a un termograma de paciente con ACDP o de control sano (ver figura 17). Cada termograma de cada paciente podría por lo tanto alcanzar o no la condición de los pares de temperaturas (No/Sí o 0/1).

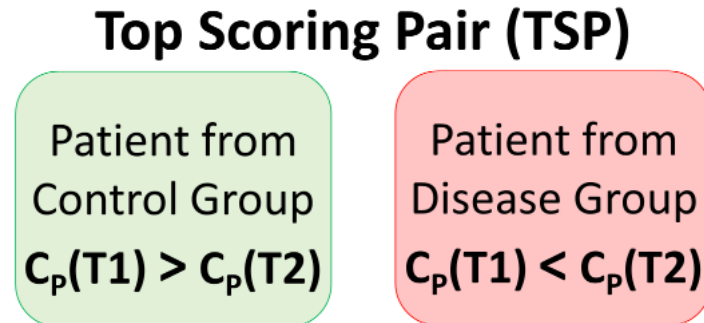


Figura 17: Ejemplo de Top Scoring Pair de la librería `switchBox` de R aplicado a los datos de los termogramas de muestras biológicas. Imagen tomado de Hermoso Duran S., 2024 (347).

A continuación, el modelo de clasificación se ajustó mediante una regresión logística regularizada aplicando el paquete `ncvreg` en R, empleando penalizaciones de Lasso o no convexas, y validación cruzada (351), entrenando en el 70% de los datos, y validando en el 30% restante. Las penalizaciones de Lasso se utilizan para evitar el sobreajuste, o lo que es lo mismo, que el modelo se ajuste demasiado a los datos de entrenamiento, y que su rendimiento sea deficiente al aplicarse a los datos de validación. Este proceso se repite 100 veces seleccionando aleatoriamente las muestras que participan en el entrenamiento y en la validación. Con ello se identifican las parejas de temperaturas más significativas de cada una de las 100 repeticiones.

Para determinar qué pares de temperaturas se seleccionan finalmente como variables predictoras de los modelos, se cuantifica el número de veces que cada pareja de temperaturas aparece seleccionada en el total de 100 repeticiones. Posteriormente se establece un punto de corte manual, que seleccione las parejas de temperaturas resultantes como las más frecuentes.

Considerando ya únicamente estos pares de temperaturas se generan de nuevo 100 modelos a partir de la selección aleatoria de los grupos de entrenamiento y validación. En la generación de estos modelos se asignan coeficientes a cada una de las variables. Estos coeficientes podrán también ser 0, lo que implicaría que esa variable no tendría influencia en la predicción con ese modelo. Se determina la sensibilidad y especificidad obtenidas con cada uno de los 100 modelos, así como el área bajo la curva (AUC) ROC con su intervalo de confianza del 95%. Entre los 100 modelos entrenados, se seleccionará finalmente aquel que presente una mayor AUC en el grupo de validación.

En resumen, el esquema de pasos (step-wise) de la metodología para obtener el modelo fue la siguiente:

1. Generación de una matriz de remuestreo para clasificar 100 veces las muestras en grupos de entrenamiento y de validación, es decir, se generan un total de 100 grupos de entrenamiento y 100 grupos de validación diferentes. En este paso es importante que el muestreo se realice de forma estratificada, manteniendo el porcentaje observado en la cohorte inicial (en nuestro caso ambos grupos, sanos y enfermos, son homogéneos). Tal y como se aconseja en estos procedimientos, el 70% de los casos se utilizaron para el entrenamiento y el 30% para la validación.
2. Establecimiento del rango óptimo del número de parejas de temperaturas necesarias para ser comparadas en el modelo.
3. Como el proceso se repite 100 veces seleccionando las muestras que participan en el entrenamiento y en la validación de forma aleatoria, las parejas de temperaturas identificadas como significativas en cada una de las 100 repeticiones serán distintas (`packages Ncvreg`). Para

determinar qué pares de temperaturas vamos a seleccionar como variables predictoras de los modelos, se cuantifica el número de veces que cada pareja de temperaturas aparece seleccionada en el total de 100 repeticiones, y se establece manualmente un punto de corte.

4. Considerando ya únicamente esos pares de temperaturas como las variables dicotómicas (se cumple que $CpT1 > CpT2$ o no se cumple), se generan 100 modelos a partir de la selección aleatoria de los grupos de entrenamiento y validación. En la generación de estos modelos se les asignan coeficientes a cada una de las parejas de temperaturas seleccionadas. Estos coeficientes determinan la influencia de cada pareja de temperaturas en la predicción del modelo, y su valor también puede ser de 0, lo que implicaría que esa variable seleccionada previamente no tendría ninguna influencia predictiva, y se descartaría.
5. Selección, de entre los 100 modelos entrenados, el que tenga una mayor área bajo la curva (es decir, mejor rendimiento) en el grupo de validación.

El resultado final que ofrece el modelo es un valor numérico (*entre - infinito y + infinito*) para cada suero analizado. De manera estándar, el punto de corte establecido por el modelo es cero. Esto quiere decir que cuando el modelo de clasificación proporciona un número menor que cero, el paciente se clasifica como negativo para la condición estudiada (en este caso no ser un ACDP), mientras que, si el resultado es un número mayor de cero, se clasifica como positivo (en este caso ser un ACDP).

El rendimiento del modelo de clasificación como prueba diagnóstica se evalúa posteriormente mediante el cálculo de índices de rendimiento comunes de una matriz de confusión (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN)), así como la curva característica operativa del receptor (ROC, Receiver Operating Characteristic) y su área bajo la curva (AUC, area under curve) con su intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

h. Análisis Estadístico empleado

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el entorno de software y lenguaje de programación R, concretamente en su versión 4.4.2 (31 de octubre de 2024). Los contrastes de hipótesis llevados a cabo fueron en todos los casos contrastes bilaterales y para considerar un p-valor como estadísticamente significativo se estableció que este debía ser inferior a 0.05.

Para evaluar las relaciones estadísticas entre variables, se empleó principalmente la función *compareGroups()*, del paquete *compareGroups*, la cual facilita la comparación de variables categóricas y numéricas entre distintos grupos definidos por variables de agrupación. En función de la naturaleza de dichas variables, se calculan diferentes estadísticos descriptivos y se aplica la prueba estadística más adecuada.

En primer lugar, se determina si la variable es categórica o cuantitativa y, en caso de ser cuantitativa, se aplica el test de Shapiro-Wilk para determinar si la variable presenta una distribución normal o no. Si se determina que la variable en cuestión es continua con distribución normal y la comparación se lleva a cabo entre dos grupos, se calcula la media y se aplica la prueba t de Student para muestras independientes, mientras que si no sigue una distribución normal se calcula la mediana y se aplica la prueba U de Mann-Whitney (suma de rangos Wilcoxon). En cambio, si la comparación se lleva a cabo entre más de dos grupos y la variable es cuantitativa continua con distribución normal se aplica la prueba ANOVA o análisis de varianza, mientras que si la variable no se ajusta a una distribución normal la prueba de Kruskal-Wallis es la elección. Además, en los casos en los que hay más de dos grupos, se lleva a cabo la comparación por pares y la corrección del p-valor por comparaciones múltiples, siendo el método de Tukey el de elección en caso de que la variable cuantitativa continua presente una distribución normal y el método Benjamini-Hochberg en caso de que no sea así. Por otro lado, si la variable en estudio es categórica y puede presentarse junto con la variable de agrupación en una tabla de contingencia, se aplica la prueba exacta de Fisher cuando la frecuencia esperada en alguna de las celdas es inferior a 5, mientras que se recurre a la prueba de χ^2 de Pearson cuando no se da esta circunstancia.

En el caso de las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier, las comparaciones entre grupos se llevan a cabo aplicando la prueba Log-Rank, o la prueba de Gehan-Breslow en caso de que se produzcan entrecruzamientos tempranos entre las curvas correspondientes a los distintos grupos.

RESULTADOS DEL ESTUDIO ACDP.

a. ESTUDIO DESCRIPTIVO

Características demográficas, tumorales y factores de riesgo.

Demografía de la serie de pacientes con ACDP.

Del total de 125 pacientes reclutados, tres de ellos fueron finalmente excluidos por diagnóstico diferente a ACDP: una PC pseudotumoral, una pancreatitis autoinmune y un pancTNE. **Por tanto, el tamaño muestral definitivo fue de 122 pacientes con ACDP.**

El 51.6% (63/122) fueron de sexo femenino, y el 48,4% (59/122) fueron de sexo masculino.

La media de edad de la serie a estudio fue de 69,25 años, y la mediana de 69,5 años [62 - 78,75]. La edad media fue ligeramente superior en el sexo femenino (71,5 años) en comparación con el sexo masculino (67,1 años).

El mayor pico de incidencia se observó en el rango de edad de los 65 a los 70 años, identificándose un segundo pico más precoz, entre los 58 y los 62 años (ver figura 18). A partir de los 86 años, se observó un claro descenso de la incidencia.

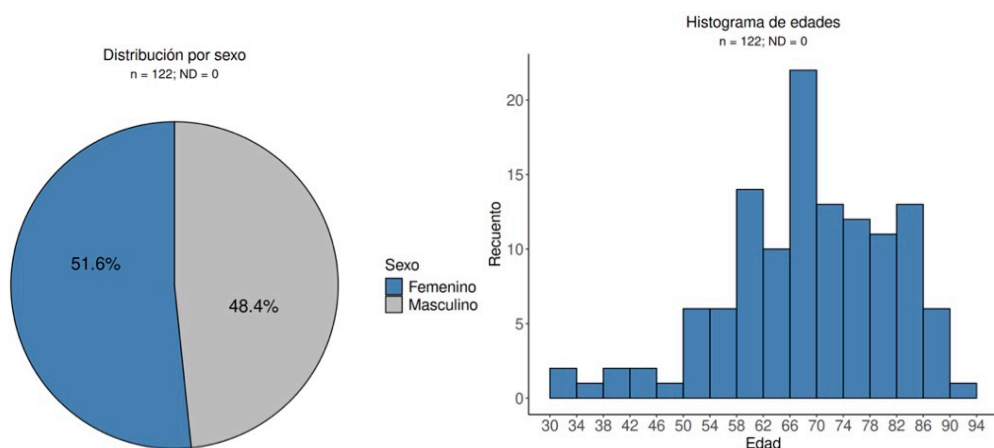


Figura 18. Distribución de la serie de pacientes con ACDP por sexos (izquierda) y edad (derecha).

La capacidad funcional y situación de salud basal de la cohorte, se calculó mediante el Índice de Comorbilidad de Charlson (ICC) ajustado por edad, y la puntuación según la escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) de cada paciente reclutado en el estudio. Un 70,4% de los pacientes presentaban un ICC leve-moderado (entre 0 y 4) y algo más de la mitad (57,3%) tenían una buena calidad de vida al diagnóstico (ECOG 0-1) (ver figura 19).

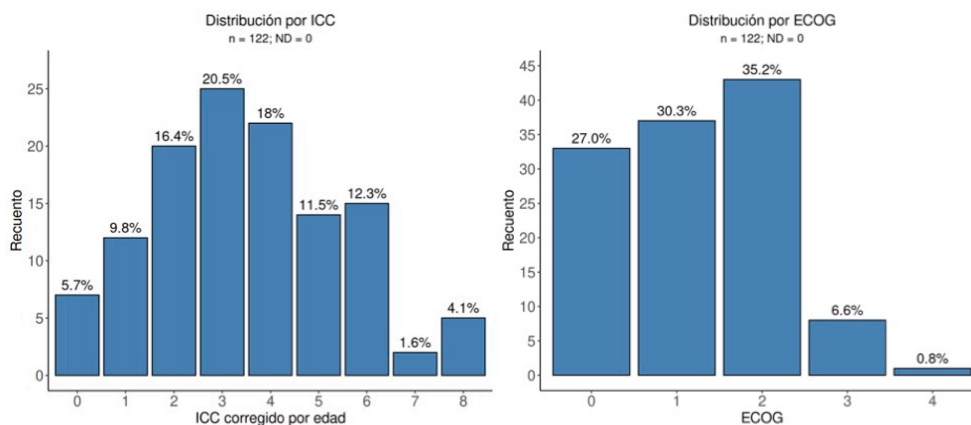
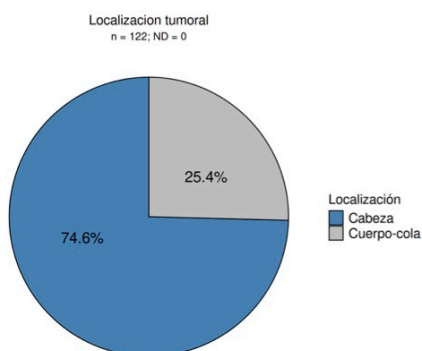


Figura 19. Distribución de la serie de pacientes con ACDP según ICC corregido por edad (izquierda) y puntuación en escala ECOG (derecha).

Características tumorales.



La localización tumoral dentro de la glándula pancreática de los pacientes reclutados se representa en la figura 20. La gran mayoría, un 74,6% (91/122), se localizaron en cabeza pancreática frente al 25,4% (31/122) que fueron de localización córporo-caudal.

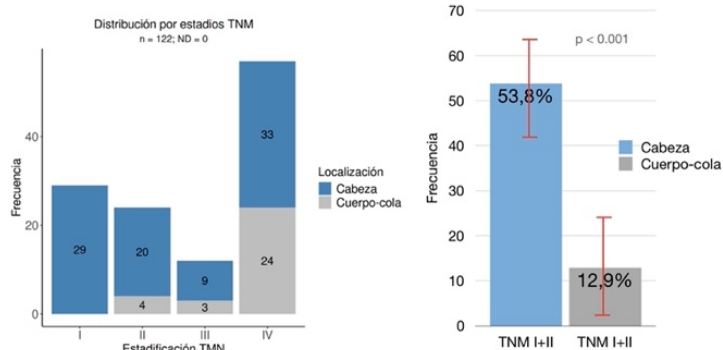
Figura 20. Distribución de la serie de paciente con ACDP según localización tumoral.

La estadificación de la enfermedad al diagnóstico se calculó según la clasificación TNM y según criterios de reseccabilidad. La mayoría de los casos se diagnosticaron en estadios avanzados, y casi la mitad (46,7%, 57/122) ya eran metastásicos al diagnóstico. En la tabla 17 puede observarse en detalle la distribución teniendo en cuenta ambas clasificaciones.

| Distribución de los pacientes de la muestra según estadio TNM y reseccabilidad quirúrgica | | | |
|---|-------|-----------------------|--------|
| TNM | | Reseccabilidad | |
| Estadio I | 23,8% | Reseccable | 29,5% |
| Estadio II | 19,7% | Borderline-Reseccable | 9,01% |
| Estadio III | 9,8% | Localmente avanzado | 14,75% |
| Estadio IV | 46,7% | Metastásico | 46,7% |

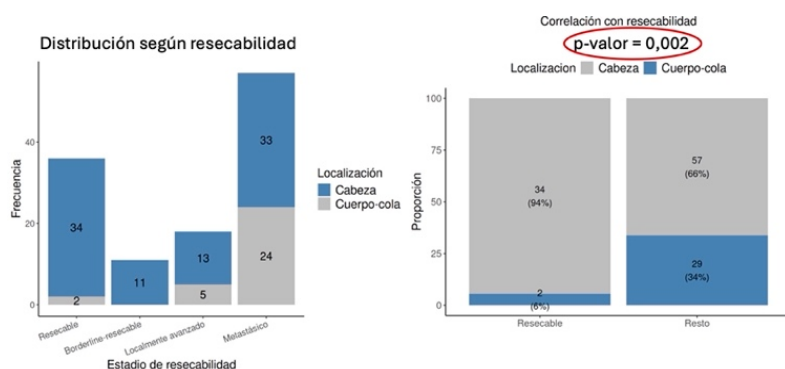
Tabla 17. Distribución de la serie de pacientes con ACDP, por estadios TNM y según criterios de reseccabilidad, en el momento del diagnóstico.

Se analizaron ambas clasificaciones teniendo en cuenta la localización tumoral, para evaluar si el hecho de que el tumor se localizase en cabeza o cuerpo-cola podía relacionarse con un diagnóstico más precoz. Los resultados pueden observarse en las figuras 21 y 22.



Más de la mitad de los tumores de cabeza (53.8%, 49/91) se diagnosticaron en estadios iniciales (TNM I-II), frente a sólo un 12,9% (4/31) de los tumores de cuerpo-cola. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas, con un p valor < 0,001.

Figura 21. Distribución de la localización tumoral (cabeza vs. cuerpo-cola), según estadios TNM (izquierda) y correlación de cada localización con estadíos precoces (derecha).



Análogamente, entre los tumores resecables, el 94% (34/36) fueron cefálicos, y sólo el 6% (2/36) fueron de cuerpo-cola. Entre los tumores no resecables, el 66% (57/86) fueron cefálicos, frente al 34% (29/86) de tumores distales, existiendo diferencias significativas, con un p valor de 0,002.

Figura 22. Distribución de la localización tumoral según criterios de resecabilidad (izquierda) y correlación con diagnóstico en estadio resecable (derecha).

Genética.

En cuanto al riesgo genético de ACDP, en la serie a estudio se identificaron los siguientes casos:

- En 2 pacientes (1,6% del total) se identificaron mutaciones germinales: una mutación en el gen *BRCA 2* y una pancreatitis hereditaria (*PRSS1*)
- Se identificaron 8 pacientes (6,6% del total) que cumplían criterios de posible cáncer de páncreas familiar (antecedentes familiares de primer grado de ACDP)

Factores de riesgo.

Se analizó la distribución de la muestra según los principales factores de riesgo analizados que fueron: tabaco, sobrepeso/obesidad (según IMC), diabetes mellitus (de larga evolución o debut diabético) y antecedente de enfermedad pancreática (PC o PA). No se pudo analizar adecuadamente la ingesta alcohólica al no existir información detallada en la historia clínica electrónica (HCE) a este respecto en una mayoría de casos.

Tabaco.



Hábito tabáquico

Del total de pacientes de la serie de ACDP, el 22,13% (27/122) eran fumadores, el 18,9% (23/122) eran exfumadores, y el resto 59% (72/122) eran no fumadores. Su distribución según el hábito tabáquico puede observarse en la figura 23.

Figura 23. Distribución del hábito tabáquico en la serie de pacientes con ACDP.

Los pacientes fumadores fueron diagnosticados a edad más temprana que los exfumadores y estos, a su vez, a edad más temprana que los no fumadores, como puede observarse en la tabla 18. Las mujeres fumadoras son las que presentaron edad media más joven al diagnóstico (56,3 años). Para identificar si existían diferencias significativas de la edad al diagnóstico de ACDP según el hábito tabáquico, se utilizó la comparación de sus valores medianos, dado que la variable "edad" en dos de los tres grupos es no paramétrica. Se encontró que la diferencia de medianas entre "exfumadores" y "no fumadores", y entre "si fumadores" y "no fumadores", fueron significativas, con un p valor = 0,00091.

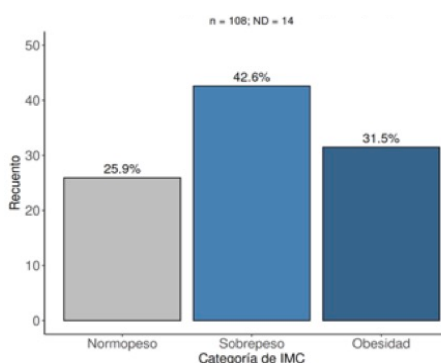
| | Cohorte | No fumadores | Exfumadores | Fumadores | p valor |
|------------------------------|--------------------------|--|-----------------------------------|--|--|
| Edad media | 69,25 años | 74,1 años | 66,2 años | 59,1 años Femenino 56,3 Masculino 59,9 | |
| Edad mediana [Q1; Q3] | 69,5 años [62; 68,75] | 75,5 años [68; 82,25] | 63 años [60; 69] | 63 años [50; 69] | p valor = 0,00091 No fumadores vs exfumadores No fumadores vs fumadores |

Tabla 18. Comparativa de la edad media/mediana al diagnóstico entre pacientes fumadores, exfumadores y no fumadores, y la edad media/mediana de toda la serie de ACDP.

Se realizó un análisis bivalente para comprobar si el hábito tabáquico influía en la resecabilidad del tumor al diagnóstico, comparándola entre los pacientes no fumadores (no fumadores + exfumadores) y los fumadores, pero no se encontraron diferencias significativas (p valor = 0,238).

Obesidad.

Del total de pacientes analizados (n=122), se disponía de información sobre su IMC en 108 casos.



Como se observa en la figura 24, el 25,9% (28/108) presentaron normopeso, el 42,6% (46/108) presentaron sobrepeso y el 31,5% (34/108) presentaron obesidad.

En total, el 74,1% de los pacientes excedió del rango de peso normal.

Figura 24. Distribución según IMC de la serie de pacientes con ACDP.

Un 35,3% (12/34) de los pacientes obesos (IMC ≥ 30 kg/m²) eran además diabéticos, y de ellos, dos, fueron diabéticos de debut.

Se realizó un análisis bivalente para comprobar si el IMC del paciente influía en el diagnóstico tumoral en estadio resecable, comparando el IMC de los pacientes (normopeso vs. sobrepeso + obesidad) considerados resecables frente al resto, sin encontrar diferencias significativas (p valor = 0,093).

Diabetes Mellitus.

El 36,9% (45/122) de los pacientes con ACDP fueron diabéticos, de los cuales, un tercio (33,3%, 15/45) fueron diabéticos de debut (diagnóstico en los 6 meses previos al diagnóstico tumoral). Su distribución detallada se muestra en la figura 25, considerando el total de la serie (izquierda), y sólo el grupo de pacientes diabéticos (derecha).

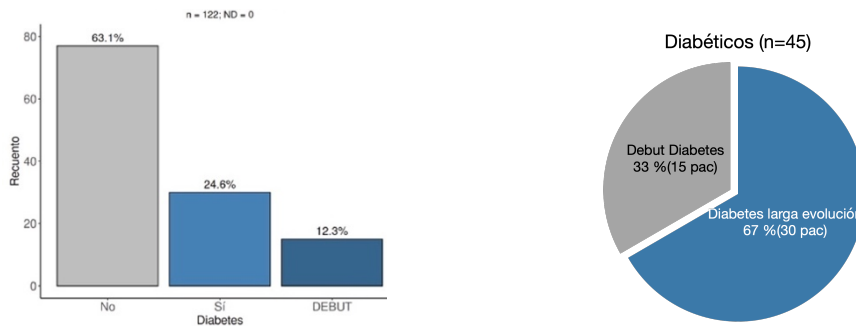


Figura 25. Distribución de nuestra serie, según fuesen diabéticos de larga evolución, diabéticos de debut o no diabéticos.

Para conocer si la aparición de diabetes en un paciente podría condicionar el diagnóstico de ACDP más precozmente, se analizó la relación entre el diagnóstico de DM y el estadio tumoral al diagnóstico, observando la siguiente distribución:

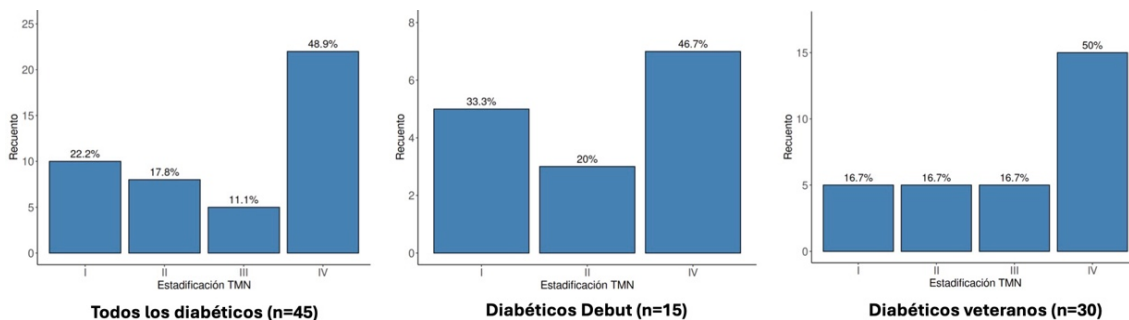


Figura 26. Estadificación TNM al diagnóstico de pacientes diabéticos, diabéticos de debut y diabéticos veteranos.

Se observó que, aunque la mayoría de pacientes diabéticos se diagnosticaban en estadio metastásico, como en la serie general, existía un porcentaje ligeramente mayor de pacientes con debut diabético diagnosticados en un estadio TNM más favorable (TNM I: 33,3%, II: 20%, o combinado I+II: 53,3%) que los pacientes diabéticos veteranos (TNM I: 16,7%, II: 16,7%, o combinado I+II: 33,4%). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (test de Fisher, p valor = 0,2629). Análogamente, el porcentaje de pacientes con debut diabético que cumplían criterios de resecabilidad al diagnóstico fue del 46,6%, frente al 16,6% de los diabéticos de larga evolución, sin alcanzar tampoco significancia estadística.

| | Resecable | No resecable |
|----------------------------|-------------|--------------|
| Diabéticos larga evolución | 5 (16,6 %) | 25 (83,3 %) |
| Diabéticos de debut | 7 (46,6 %) | 8 (53,3%) |
| | Resecable | No resecable |
| Total diabéticos | 12 (26,6 %) | 33 (73,3%) |
| Total no diabéticos | 24 (31,16%) | 53 (68,83%) |

En la comparación de la resecabilidad tumoral entre pacientes diabéticos y no diabéticos no se observaron diferencias significativas (p valor = 0,749) y tampoco cuando la comparativa se realizó entre los 3 grupos (veteranos, diabéticos de debut y no diabéticos) ($p=0,101$). La distribución de los diabéticos de la cohorte según resecabilidad queda reflejada en detalle en la tabla 19.

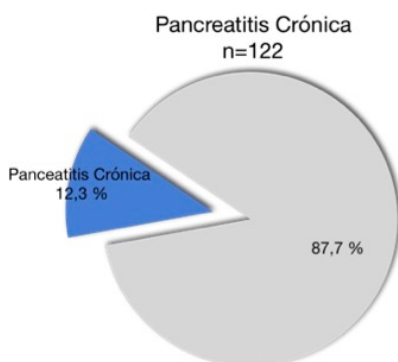
Tabla 19. Distribución de los pacientes diabéticos de la cohorte según resecabilidad al diagnóstico.

Se analizó la posible relación de la DM con la obesidad o la existencia de una PC subyacente en la serie a estudio, y se obtuvieron los siguientes resultados:

Relación DM-Obesidad: En 42 de los 45 pacientes diabéticos de nuestra serie, teníamos datos completos para calcular su IMC. Encontramos que el 13% (2/15) de los pacientes con debut diabético eran obesos, frente al 37% (10/27) de los diabéticos de larga evolución (10/27) Sin embargo estas diferencias no alcanzaron significancia estadística (test de Fisher, $p = 0,158$).

Relación DM-PC: En todos los pacientes diabéticos (45) de nuestra serie, conocíamos su antecedente de PC, identificando a 5 pacientes en total (11,1%): 3 presentaron DM de debut y 2 eran diabéticos ya conocidos, sin encontrar significación estadística.

Enfermedad pancreática previa: pancreatitis crónica y aguda



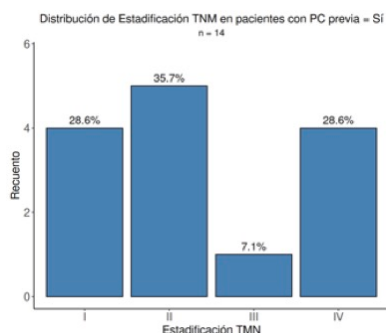
De todos los pacientes de la serie de ACDP, el 12,3% (15/122) cumplían criterios de PC en el momento del diagnóstico, tal y como puede observarse en la figura 27.

La edad media al diagnóstico de ACDP en estos pacientes era de 64,9 años.

El 73,3% (11/15) tenían hábito tabáquico activo y 1 caso fue una pancreatitis hereditaria, con una edad de 38 años al diagnóstico de ACDP.

Figura 27. Porcentaje de pacientes de la serie de ACDP que cumplían criterios diagnósticos de PC.

Se analizó la posible influencia de la presencia subyacente de esta enfermedad en el estadio tumoral al diagnóstico, identificando una mayoría de pacientes diagnosticados en estadios precoces (TNM I-II), comparativamente con el resto de los pacientes sin este antecedente, tal y como se muestra en la tabla de la figura 28. Sin embargo, estas diferencias no resultaron significativas (Chi cuadrado con corrección de Yates; p - valor 0,166). Estos resultados se confirmaron posteriormente en el análisis bivalente, que tampoco encontró correlación significativa entre el diagnóstico en estadio resecable y el antecedente de esta enfermedad ($p = 0,349$).

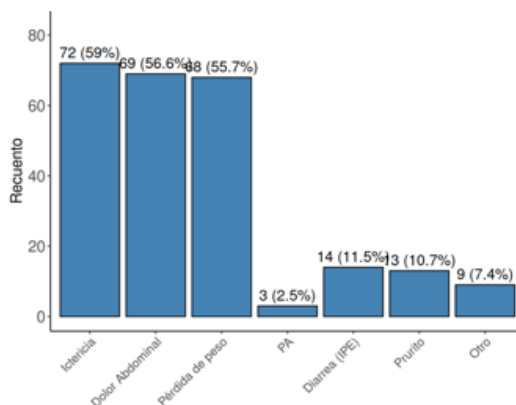


| TNM al diagnóstico según PC | | | | |
|-----------------------------|--------------|--------------|-------------|------------|
| | Estadio I | Estadio II | Estadio III | Estadio IV |
| No PC subyacente | 23,1% | 17,6% | 10,2% | 49,1% |
| PC subyacente | 28,6% | 35,7% | 7,1% | 28,6% |

Figura 28. Estadio TNM al diagnóstico de pacientes con PC subyacente (izquierda). Comparativa con la cohorte general (derecha).

En relación con la pancreatitis aguda (PA), en nuestra serie identificamos a 3 pacientes (2,5%) en los que el brote inflamatorio fue el síntoma de debut del ACDP. En los 3 casos la localización tumoral fue la cabeza pancreática. El estadio TNM al diagnóstico de estos pacientes fue de 2 estadios metastásicos (estadio IV) frente a un único diagnóstico precoz (estadio IIB).

Sintomatología.



La frecuencia de los síntomas descritos por los pacientes con ACDP se presenta en la figura 29. Los tres síntomas más frecuentes fueron la ictericia (59%), el dolor abdominal (56.6%) y la pérdida de peso 55,7%, seguidos de lejos por la diarrea (11,5%) y el prurito (10,7%).

Figura 29. Frecuencia de los síntomas descritos por los pacientes en la serie de ACDP.

Un 7,4% de los pacientes refirieron síntomas infrecuentes, concretamente 1 paciente debutó con un SCASEST, identificando durante el ingreso colestasis analítica, cuyo estudio derivó en el diagnóstico tumoral, 2 pacientes referían haber sido diagnosticados de depresión mayor en los 3-6 meses previos, y 4 pacientes debutaron con un episodio de HDA secundaria a la infiltración gastroduodenal del tumor pancreático. De estos 4 últimos, el 75% (3/4) presentaban un tumor cefálico, y también el 75% (3/4) se diagnosticaron en estadio metastásico.

Se analizó si existía alguna relación entre la localización tumoral y los síntomas descritos por los pacientes. La ictericia se identificó como un síntoma predominante en tumores de cabeza (77,8%), pero apenas presente en tumores de cuerpo-cola (6,5%), en los que predominaba el dolor abdominal (80,6%) y la pérdida de peso (64,5%). La representación gráfica de la frecuencias exactas para cada síntoma según la localización tumoral puede verse en la figura 30.

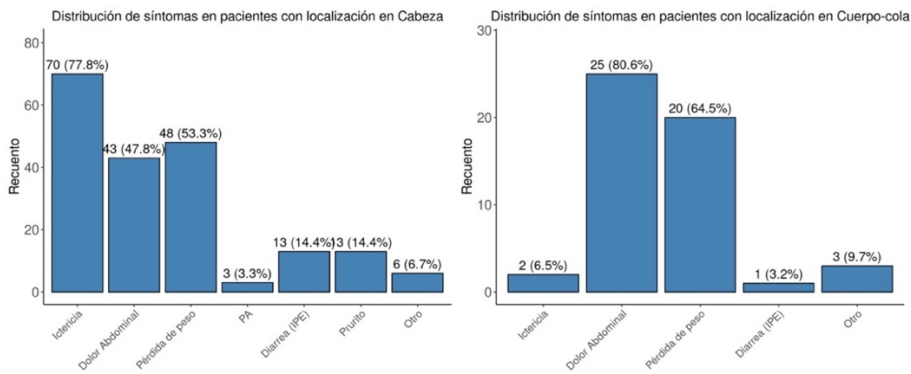


Figura 30. Distribución de los síntomas según localización tumoral en la serie de pacientes con ACDP: cabeza (izquierda) y cuerpo-cola (derecha)

También se analizó si existía alguna correlación entre el síntoma predominante (ictericia, dolor y pérdida de peso) y el estadio TNM en el momento del diagnóstico. La distribución de cada síntoma según el estadio tumoral puede verse en la figura 31.

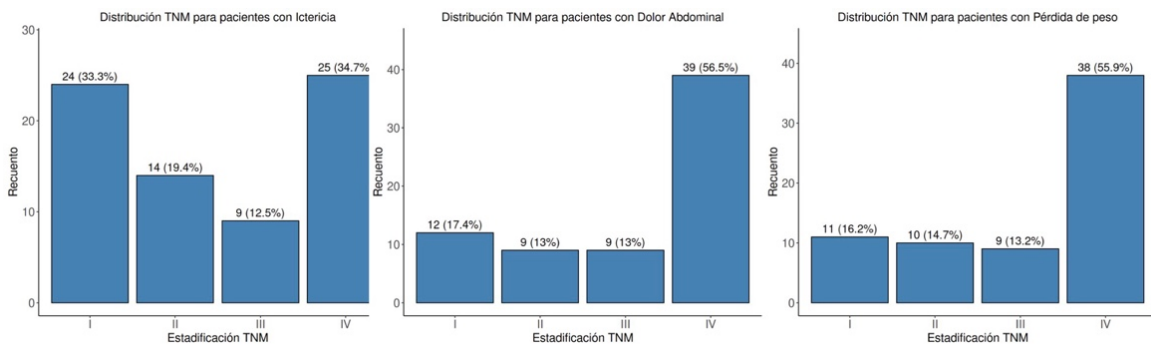


Figura 31. Distribución del estadio TNM al diagnóstico para los 3 síntomas predominantes: ictericia (izquierda), dolor abdominal (centro) y pérdida de peso (derecha).

La ictericia fue el síntoma predominante en los estadios TNM precoces, presente en más de la mitad de los pacientes (52,7% TNM I + TNM II), para volver a repuntar en estadios metastásicos (34,7%). El dolor abdominal o la pérdida de peso eran referidos por menos de un tercio de los pacientes en estadios precoces: 30,4% de pacientes TNM I + TNM II referían dolor abdominal y 30,9% de pacientes TNM I + TNM II referían pérdida de peso. Por el contrario, si se observan las frecuencias correspondientes a los estadios III + IV, la relación se invierte completamente: 69,5% de pacientes en estadios avanzados presentaron dolor abdominal y el 69,1% presentaron pérdida de peso (ver tabla 20). Esta asociación inversa de la ictericia con la progresión del estadio TNM y positiva para los síntomas de dolor abdominal y pérdida de peso, alcanzó significación estadística (Chi-cuadrado, corrección de Yates, p valor < 0,001).

| Estadio TNM | Ictericia | Dolor abdominal | Pérdida de peso |
|-------------|--------------|-----------------|-----------------|
| I | 33,3% | 17,4% | 16,2% |
| II | 19,4% | 13% | 14,7% |
| I+II | 52,7% | 30,4% | 30,9% |
| III | 12,5% | 13% | 13,2% |
| IV | 34,7% | 56,5% | 55,9% |
| III+IV | 47,2% | 69,5% | 69,1% |

Tabla 20. Distribución de los tres síntomas más frecuentes (Ictericia, Dolor abdominal y Pérdida de peso), según estadios TNM.

Biomarcadores.

Bilirrubina.

El 63,1% (77/122) del total de casos presentaron al diagnóstico bilirrubina elevada ($> 1,2$ mg/dL), de los cuales el 93,5% (72/77) eran tumores de cabeza y el 6,5% (5/77) de cuerpo-cola. Se observaron niveles claramente más elevados en localización cefálica, encontrándose diferencias significativas entre las medianas de la bilirrubina en localización cefálica (7,52 mg/dL [2,45 – 15,21]) vs. cuerpo-cola (0,55 mg/mL [0,40 – 0,75]) con un p valor $< 0,001$. Estas diferencias se mantuvieron (entre cabeza y cuerpo-cola) cuando realizamos la comparativa separando por cada estadio tumoral (p valor $< 0,001$), pero perdieron la significación al considerar únicamente el estadio TNM sin tener en cuenta la localización tumoral (p valor 0,073) o los criterios de reseabilidad (p valor 0,122). Las diferencias volvieron a hacerse significativas (p valor = 0,048) al comparar los niveles de bilirrubina únicamente de los pacientes con tumores reseables, frente al resto.

Estos resultados se resumen gráficamente en la figura 32:

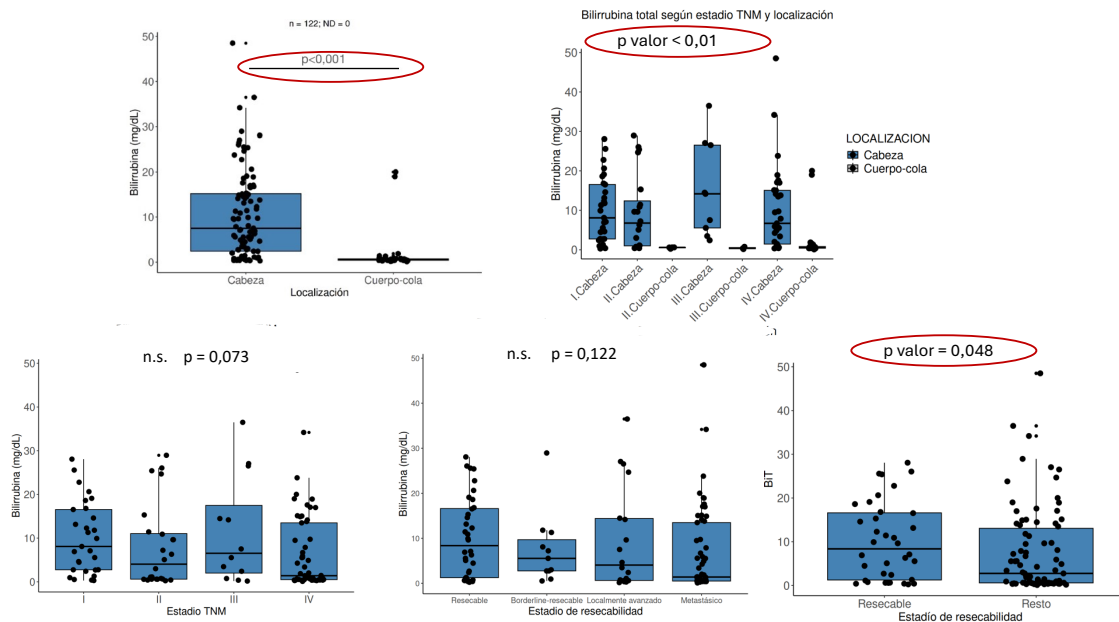
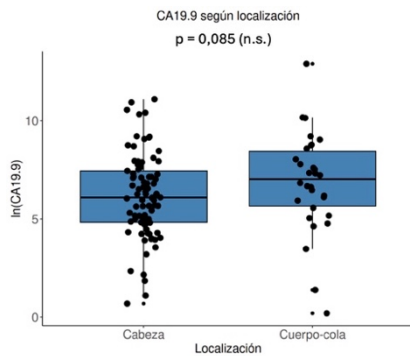


Figura 32. Comparativa de las medianas del nivel de bilirrubina en la serie de pacientes con ACDP, según localización (arriba izquierda), según localización y estadio TNM (arriba derecha), según estadio TNM (abajo izquierda), según criterios de reseabilidad (abajo centro) y reseable frente al resto (abajo derecha).

Ca 19.9

En toda la muestra, el valor de Ca 19.9 al diagnóstico estaba disponible para el 95% (116/122) de pacientes. De todos ellos, el 90,5% (104/116) presentó un valor elevado (Ca 19.9 > 37 U/mL). El valor de la mediana del grupo fue 532,4 U/mL [138,2; 2064]. Sólo el 1,8% (2/118) presentaron un valor de Ca 19.9 compatible con grupo sanguíneo Lewis negativo (< 2 U/mL).



Los valores del Ca 19.9 observados tendían a ser menores en localización cefálica, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de su valor en cada localización (439,3 U/mL [123,4; 3830,9] en cabeza vs 1154,2 U/mL [290,9; 4773,2] en cuerpo-cola) con p valor = 0.085 (figura 33).

Figura 33. Distribución y comparativa de los valores medianos de Ca 19.9 según localización tumoral

Su distribución según los estadios TNM y según criterios de resecabilidad presentó una correlación positiva ascendente, que alcanzó la significación estadística en los estadios más avanzados, y también al comparar la mediana de su nivel entre los tumores resecables frente al resto. Estos resultados se muestran en la figura 34.

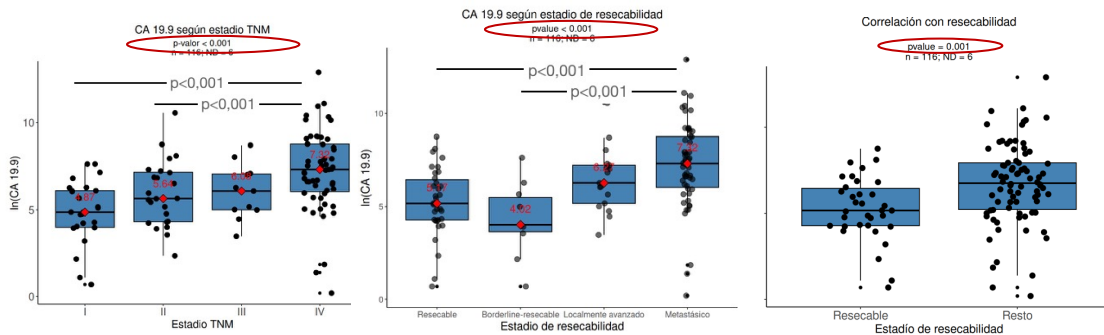


Figura 34. Comparativa del valor de Ca 19.9 según estadio TNM (izquierda) y criterios de resecabilidad (centro y derecha).

Se analizó la correlación entre los niveles de bilirrubina y el valor del Ca 19.9, ya que habitualmente se considera que las situaciones de colestasis producen falsas elevaciones del marcador. Sin embargo, en nuestro análisis no se detectó ningún tipo de correlación, tal y como puede observarse en el siguiente diagrama de dispersión de puntos, tanto en su análisis global (izquierda), como en su distribución por estadios TNM (derecha).

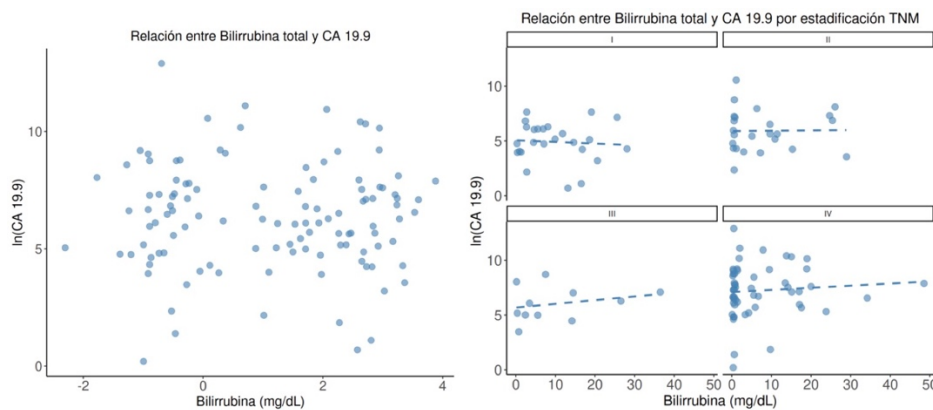


Figura 35. Diagrama de dispersión de puntos en el que se muestra la correlación existente entre los niveles de bilirrubina u los valores de Ca 19.9 en nuestra serie de casos con ACDP, análisis global (izquierda) y análisis por estadios TNM.

CEA

Del total de pacientes analizados, en el 83,6% (102/122) se disponía del valor del CEA. De todos ellos, el 69,6% (71/102) presentó en el momento del diagnóstico un valor elevado (CEA > 3 ng/mL). La mediana de su valor fue de 4,9 ng/mL [2,63; 10,9].

En el análisis de su comportamiento según estadios TNM y criterios de resecabilidad, no se observó una clara relación ascendente entre sus niveles y la progresión tumoral, aunque los valores más altos si se observaron en estadios avanzados (TNM IV o metastásico), alcanzando en ellos significancia estadística. Estos resultados quedan reflejados en la figura 36:

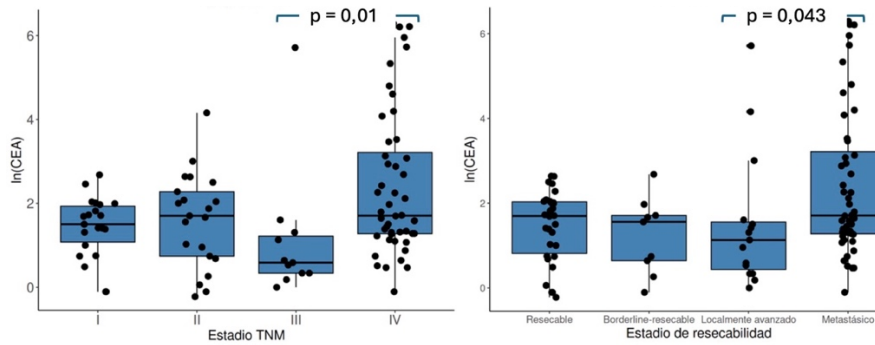


Figura 36. Comparativa de los niveles de CEA según estadios TNM y criterios de resecabilidad.

PCR

Del total de los pacientes analizados, en el 62,3% (76/122) se disponía del valor de PCR. De todos ellos, en el 80,3% (61/76) el valor de PCR se encontraba elevado al diagnóstico (> 0,5 mg/dL). Su valor medio fue 3,79 mg/dL, y su valor mediano de 1,28 mg/dL [0,65; 3,78].

En el análisis por estadios TNM y de resecabilidad, aunque se apreció una tendencia creciente paralela al avance del tumor, no se observaron diferencias significativas entre las medianas de los niveles de PCR entre los diferentes estadios con un p-valor de 0,091. En la tabla 21 se especifican los valores medianos de la PCR en cada estadio TNM y según resecabilidad:

| PCR | | | | | |
|--|-----------|------------|---------------|-------------|-----------|
| TNM | Estadio I | Estadio II | Estadio III | Estadio IV | p-valor |
| Mediana | 1,08 | 0,91 | 1,56 | 2,36 | p = 0,091 |
| Resecabilidad | Resecable | Borderline | Loc. Avanzado | Metastásico | |
| Mediana | 1,1 | 0,81 | 1,56 | 2,36 | p = 0,123 |
| Resecable vs. Resto (Borderline + loc. avanzado + metastásico) | | | | | p = 0,105 |

Tabla 21. Comparativa de los valores de la mediana de la PCR por estadios TNM y según criterios de resecabilidad. (TNM I+II vs TNM III+IV: p valor = 0,091; resecable vs resto: p valor =0,105).

Proteínas totales

Del total de los pacientes analizados, en el 97,54% (119/122) se disponía del valor de proteínas totales. De todos ellos, en el 64,7% (77/119) su valor se encontraba disminuido al diagnóstico (< 6,4 g/dL). La media global del grupo fue de 6,12 g/dL. En la comparativa se trabajó con valores de las medias por ajustarse a una distribución normal.

En el análisis de sus valores según estadios TNM y de resecabilidad, no se observaron diferencias significativas entre las medias de los niveles de proteínas totales entre los diferentes estadios, como puede observarse en la figura 37.

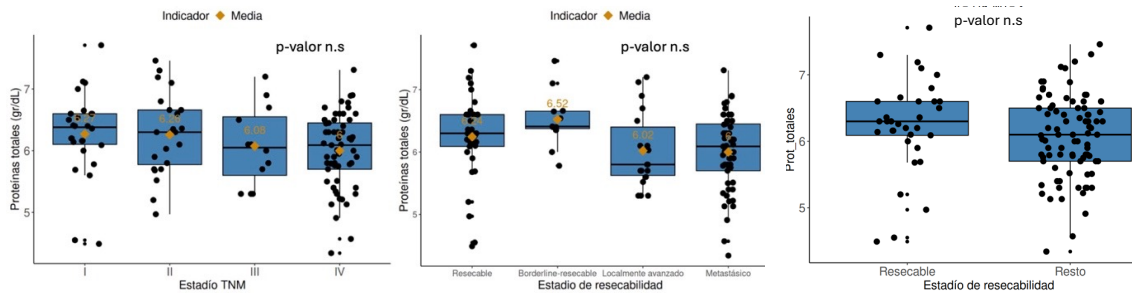


Figura 37. Comparativa de los niveles medios de proteínas totales sin observarse diferencias significativas entre estadios TNM (p valor 0,201) y según criterios de resecabilidad (todos p valor = 0,054; resecable vs. resto p valor = 0,221).

Albúmina

Del total de pacientes analizados, en el 96% (117/122) se disponía de los valores de albúmina. De todos ellos, en el 70,1% (82/117) su valor se encontraba disminuido al diagnóstico (< 3,5 g/dL). La media global del grupo fue de 3,14 g/dL. En la comparativa se trabajó con valores de las medias por ajustarse a una distribución normal.

En el análisis de sus valores según estadios TNM y de resecabilidad, no se observaron diferencias significativas entre las medias de sus niveles como puede observarse en la figura 38.

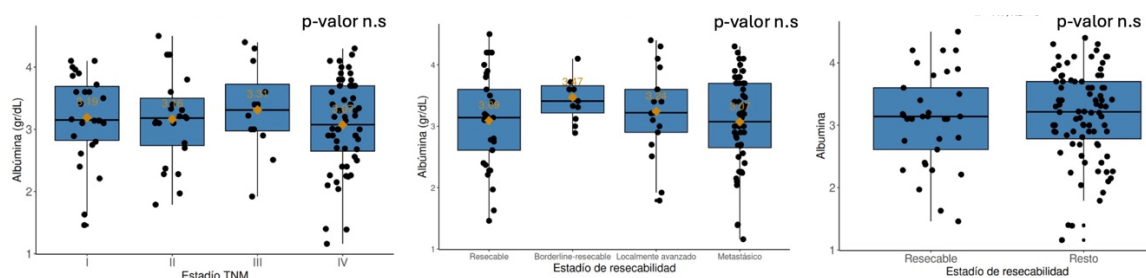


Figura 38. Comparativa de los niveles medios de albúmina sin identificar diferencias significativas entre estadios TNM (p valor 0,759) y según criterios de resecabilidad (todos p valor = 0,34; resecable vs. resto p valor = 0,609)

En la tabla 22 se resumen las variables en las que se ha analizado una posible correlación con el diagnóstico precoz del ACDP, idealmente en estadio resecable. Se observaron diferencias significativas en la localización cefálica tumoral (frente a cuerpo-cola), valores altos de bilirrubina y bajos de Ca 19.9.

| Variable | Comparativa | p-valor |
|-----------------------------|--|------------------------|
| Localización | Cabeza vs. cuerpo-cola | p = 0,002 |
| Tabaco | Fumador vs. exfumador + No fumador Fumador + exfumador vs. No fumador | p = 0,238 p = 0,108 |
| IMC | normopeso vs. sobrepeso + obesidad | p = 0,093 |
| Diabetes: | No vs. Si + debut | p = 0,749 |
| Pancreatitis Crónica previa | No PC vs. Si PC | p = 0,349 |
| Bilirrubina total | Mediana resecables vs. mediana no resecables | p = 0,048 |
| Ca 19.9 | Mediana resecables vs. mediana no resecables | p=0,001 |
| CEA | Mediana resecables vs. mediana no resecables | p=0,421 |
| PCR | Mediana resecables vs. mediana no resecables | p=0,105 |
| Proteínas totales | Mediana resecables vs. mediana no resecables | p=0,221 |
| Albúmina | Mediana resecables vs. mediana no resecables | p=0,609 |

Tabla 22. Correlación entre diferentes variables analizadas y ACDP resecable al diagnóstico.

Tratamiento quirúrgico.

Del total de pacientes con ACDP, únicamente el 30,3% (37/122) de los casos fueron considerados candidatas a tratamiento curativo mediante cirugía radical R0. El 69,7% (85/122) restante se consideraron candidatas a tratamiento paliativo (oncológico + sintomático). De estos últimos, un 25,9% (22/85) también precisó intervención quirúrgica, obviamente con fines exclusivamente paliativos, como tratamiento de síntomas consecuencia de la progresión tumoral. Por tanto, el total de pacientes intervenidos con cualquier intención (curativa o paliativa) supuso un 48,4% (59/122) del total.

La cirugía con intención curativa (n = 37) en la serie total de pacientes supuso un 62,7% (37/59) del total de cirugías. Según la técnica quirúrgica utilizada se dividieron en:

- 83,7% (31/37) Duodenopancreatectomías cefálicas.
- 10,8% (4/37) Pancreatectomías Totales
- 5,4% (2/37) Pancreatectomías Distales
- De todas ellas, el 45,9 % (17/37) fueron R0 según su análisis AP posterior.

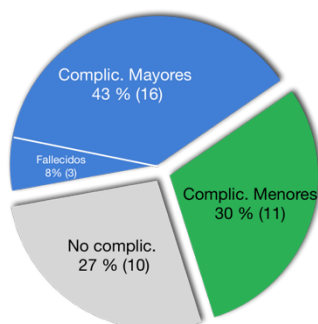
Las cirugías paliativas (n = 22) se realizaron en un 18,1% (22/122) del total de pacientes y supusieron un 37,3% (22/59) del total de cirugías. Según la técnica quirúrgica utilizada se dividieron en:

- 27,3% (6/22) derivaciones biliares
- 18,2% (4/22) derivaciones gástricas
- 18,2% (4/22) dobles derivación (biliar + gástrica)
- 31,8% (7/22) laparotomías exploradoras
- 4,5% (1/22) otras (bypass colo-cólico)

Estos resultados se resumen en la siguiente tabla para su mejor observación:

| CIRUGÍAS TOTALES (48,4% de todos los pacientes) | | |
|--|--|---|
| | CURATIVA | PALIATIVA |
| Frecuencia | 30,3% de la serie 62,7% de las cirugías | 18,1% de la serie 37,3% de las cirugías |
| Técnica quirúrgica | 83,7% DPC 10,8% PT 5,4% PD | 27,3% derivación biliar 18,2% derivación gastroduodenal 18,2% doble derivación 31,8% laparotomías exploradoras 4,5% otras |
| Cirugía R0 | 45,9 % | --- |

Tabla 23. Tipos de cirugías observadas en nuestra cohorte, según intención de tratamiento, técnicas empleadas y porcentaje de cirugía radical R0. Abreviaturas: DPC: duodenopancreatectomía cefálica, PD: Pancreatectomía Distal, PT: Pancreatectomía total.



Complicaciones Clavien-Dindo

Las complicaciones postquirúrgicas observadas tras cirugía curativa según clasificación de Clavien-Dindo fueron las siguientes: el 27% (10/37) no presentó complicaciones (Clavien-Dindo 0), el 30% (11/37) presentó complicaciones menores (Clavien-Dindo I-II), y el 43% (16/37) presentó complicaciones mayores (Clavien-Dindo III-V), de los cuales, 3 fueron fallecimientos como consecuencia de la cirugía, que supusieron el 19% (3/16) del total de complicaciones mayores, y el 8% (3/37) del total de cirugías (ver figura 39).

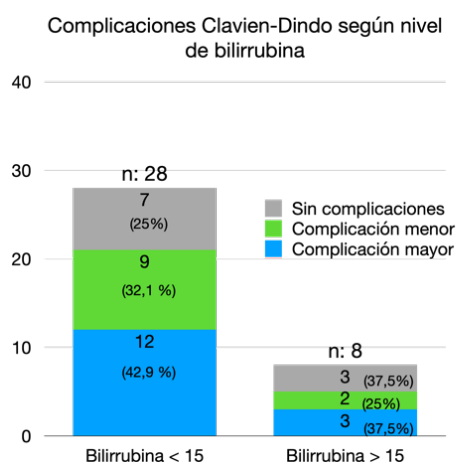
Figura 39. Distribución de los tipos de complicaciones observadas entre las cirugías curativas de la serie de ACDP, según clasificación de Clavien-Dindo.

Por lo tanto, la mortalidad postquirúrgica tras cirugía curativa en la serie analizada fue del 8% y la morbilidad del 73% (27/37). Los tipos de complicaciones más frecuentes observadas fueron un 21% (8/37) de abscesos/colecciones intraabdominales, 19% (7/37) de hemorragias postquirúrgicas, 10% (4/37) de fístulas pancreáticas (una de ellas tras PD) y 8% (3/37) de fístulas biliares.

El análisis y comparación de las complicaciones asociadas a cada técnica quirúrgica (DPC (incluyendo PT) vs. PD) no fue posible, porque el número de PD curativas de la serie fue muy escaso (n = 2). De las dos PD, una no presentó complicaciones postquirúrgicas y la otra presentó una complicación mayor (Clavien-Dindo IVa) que le impidió recibir quimioterapia adyuvante. Los 3 fallecimientos postcirugía se produjeron tras DPC.

Dada la controversia existente con relación a la indicación de drenaje biliar prequirúrgico en pacientes con ACDP e ictericia obstructiva secundaria, se analizó detalladamente esta cuestión. El 50,8% (62/122) del total requirió drenaje biliar con cualquier intención (curativa + paliativa) por ictericia obstructiva secundaria, pero de ellos, solo el 24,2% (15/62) se drenó como paso previo a una cirugía con intención curativa. En ninguno de estos 15 casos se produjeron complicaciones post-CPRE. La bilirrubina media con la que estos pacientes drenados se intervinieron fue de 11,8 mg/dl. No se objetivó un retraso significativo para la cirugía como consecuencia del drenaje biliar, con una media de 21 días para los pacientes drenados, frente a 15 días para los pacientes operados directamente.

En el 97,3% (36/37) del total de cirugías curativas se conocía el valor de la bilirrubina en el momento de la misma. De ellos, el 77,7% (28/36) presentaban cifras de bilirrubina < 15 mg/dL y el 22,3% (8/36) restante se intervinieron con cifras de bilirrubina > 15mg/dL. Las complicaciones postquirúrgicas observadas según estas cifras de bilirrubina se resumen en la figura 40.



Como puede observarse, aun sin encontrar diferencias significativas dado el pequeño tamaño muestral, se observó una tendencia a un mayor número de complicaciones (mayores y menores) en el grupo de pacientes intervenidos con bilirrubina inferior a 15 mg/dL.

Figura 40. Distribución de las complicaciones postquirúrgicas en la serie de ACDP estudiada, según la bilirrubina prequirúrgica fuese inferior o superior a los 15mg/dL.

Supervivencia y causas de fallecimiento.

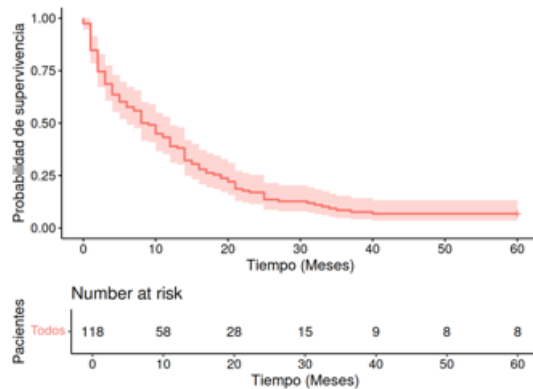
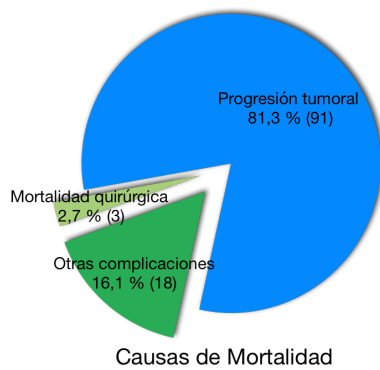


Figura 41. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier a los 5 años, de la serie de pacientes con ACDP. La zona sombreada indica los intervalos de confianza (IC 95%).

Ocho pacientes sobrevivieron más de 5 años (6,8%, 8/122). De los 8 supervivientes, 3 fallecieron meses después de superar los 5 años (supervivencia de 69 meses, 69 meses y 70 meses), y 5 permanecen vivos, encontrándose en seguimiento ambulatorio por el servicio de Oncología Médica, hasta el momento libres de enfermedad pancreática.

La curva de supervivencia de Kaplan-Meier a los 5 años para toda la serie puede verse en la gráfica contigua.



De los 117 fallecidos, en 5 no pudo determinarse la causa del fallecimiento.

Las causas de muerte de los 112 restantes fueron: 81,25% (91/112) por progresión tumoral, 16,07% (18/112) por otras complicaciones sobrevenidas y 2,7% (3/112) por complicaciones de la cirugía oncológica.

Entre las complicaciones sobrevenidas más frecuentes se observaron la sepsis (fundamentalmente de origen biliar) y la hemorragia digestiva. Tres pacientes fallecieron por un ictus, un paciente presentó un tromboembolismo pulmonar y un paciente falleció por COVID.

Figura 42. Distribución de las causas de muerte en la serie de pacientes con ACDP estudiada.

Supervivencia según factores de riesgo.

Se comparó la supervivencia observada en función de distintas variables, mediante curvas de Kaplan-Meier, para comprobar su posible influencia en el pronóstico tumoral. Las variables consideradas fueron sexo, edad, comorbilidad (ICC ajustado por edad), tabaquismo, DM y el IMC. Se encontraron supervivencias significativamente mejores (test de log-Rank) en varones, menores de 65 años, con menos comorbilidad asociada y normopeso. No se encontraron diferencias según hábito tabáquico o DM. Estos resultados se resumen en la tabla 24. En las figuras 43 y 44 se representan las curvas de Kaplan-Meier.

| COMPARATIVA DE SUPERVIVENCIA SEGÚN DIFERENTES VARIABLES | | |
|---|--|--------------------------------------|
| Variable | Comparativa | Significancia |
| Sexo | Hombre vs. Mujer | p = 0,041 |
| Edad | <65 años* vs. 65-80 años / >80 años | p < 0,001* |
| Comorbilidad (ICC ajustado por edad) | 0-I-II* vs. III-IV vs. > V | p = 0,009* |
| Tabaco | Fumador vs. exfumador + No fumador Fumador + exfumador vs. No fumador | n.s. (p = 0,634) n.s. (p = 0,774) |
| DM | No DM vs. DM | n.s (p = 0,92) |
| IMC (kg/m ²) | Normopeso* vs sobrepeso /obesidad | p = 0,005* |

Tabla 24. Comparativa de la supervivencia según diferentes variables analizadas, indicando aquellas en las que se observaron diferencias significativas.

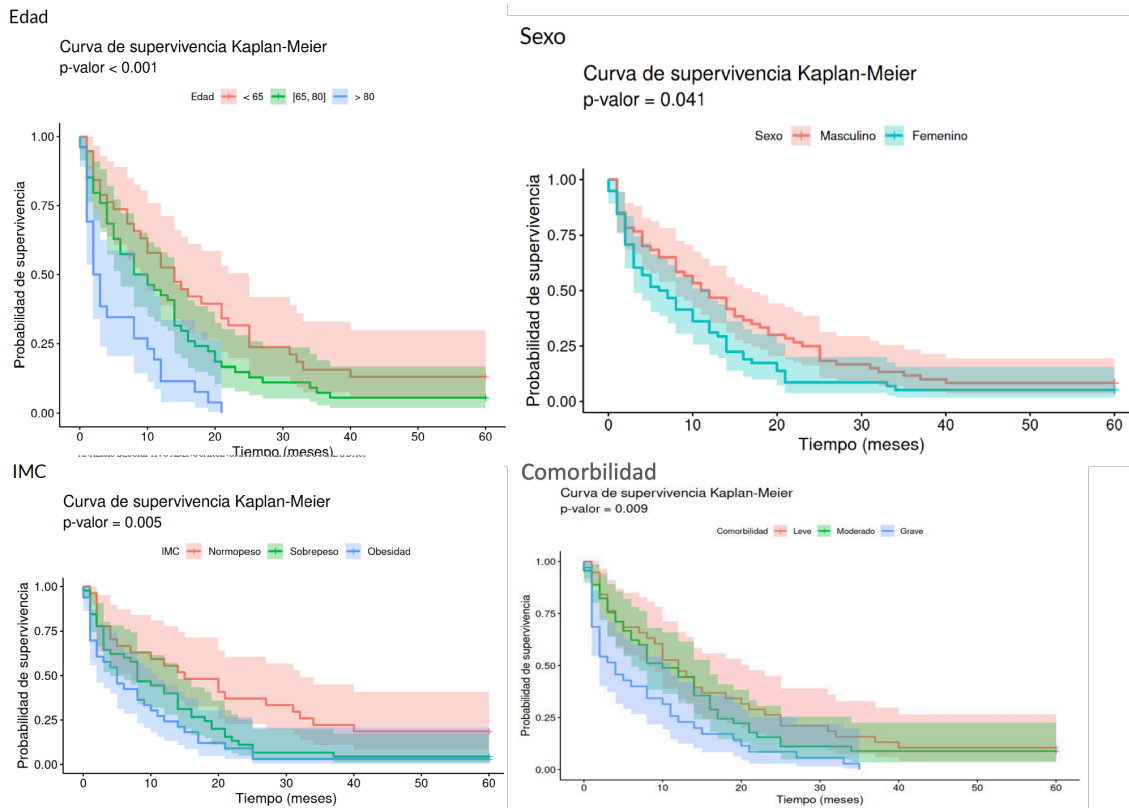


Figura 43. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de las variables entre las que se encontraron diferencias estadísticamente significativas: edad, sexo, IMC y comorbilidad (ICC ajustado por edad). La zona sombreada representa el intervalo de confianza (IC 95%)

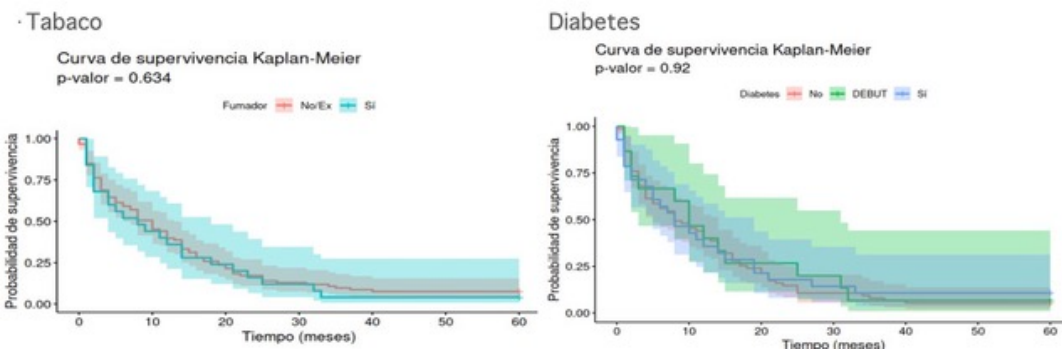


Figura 44. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de las variables entre las que NO se encontraron diferencias estadísticamente significativas: Tabaco (No fumador + exfumador vs. fumador) y Diabetes (de larga evolución vs. debut vs. no diabetes). La zona sombreada representa el intervalo de confianza (IC 95%)

Supervivencia según biomarcadores.

Se realizó una comparativa de supervivencia en los pacientes de la serie según niveles de CEA, Proteínas totales y albúmina:

CEA.

Se observó que los individuos con CEA < 20 mg/dL (n = 81) presentaron una mediana de supervivencia de 10,0 meses [3,00; 21,00], mientras que los pacientes con CEA > 20 mg/dL (n = 17) fue de 5,0 meses [2,00; 12,00]. A pesar de estas diferencias, no resultaron estadísticamente significativas (prueba de Log-Rank: p = 0,140). Aumentando el punto de corte del CEA a 50mg/dL, observamos que los individuos con CEA < 50 mg/dL (n = 86) presentaron una mediana de 10,0 meses [3,0; 20,0], mientras que en los pacientes

con CEA > 50mg/dL (n = 12) fue de 5,5 meses [1,5; 19,5], que tampoco resultaron estadísticamente significativas (prueba de Log-Rank: p = 0,55).

Proteínas totales.

Tampoco comprobamos diferencias significativas entre la mediana de supervivencia en meses de los pacientes con niveles normales de proteínas totales al diagnóstico (mediana de 12 meses [3; 20,5]) comparando con la de los pacientes con niveles de proteínas totales disminuidas (mediana de 7 meses [2; 16,5]).

Albumina.

Igualmente, tampoco se observaron diferencias significativas entre la mediana de supervivencia en meses de los pacientes con niveles normales de albúmina al diagnóstico (mediana de 9,5 meses [3; 19,75]) frente a la de los que presentaron un nivel de albúmina disminuido (mediana de 8 meses [2; 16,25]).

Supervivencia según técnica quirúrgica.

En la siguiente tabla se recogen las técnicas quirúrgicas y las medianas de supervivencia de los grupos de pacientes intervenidos según la técnica empleada:

| Cirugías curativas (n = 37) | n | Supervivencia mediana | Supervivencia > 5 años |
|-----------------------------|----|----------------------------|------------------------|
| DPC | 31 | 21 meses [14; 33 meses] | 5 pacientes |
| PT | 4 | 10,5 meses | 1 paciente |
| PD | 2 | 1 mes. | 1 paciente |

Tabla 25. Supervivencias observadas en los grupos de pacientes sometidos a cada técnica quirúrgica

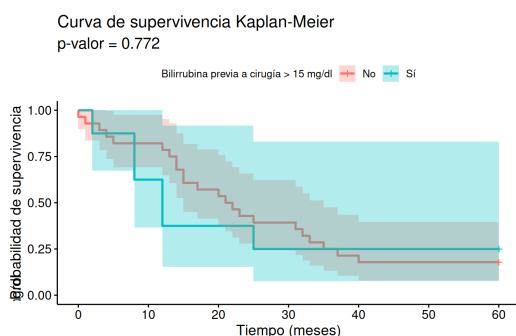
No se observaron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de las diferentes técnicas quirúrgicas (DPC + PT vs. PD, p valor = 0,598), aunque debe tenerse en cuenta que la mayoría de las cirugías fueron de tipo DPC, con un escaso número de PD (n = 2).

Supervivencia según resección R0 frente a R1.

Del total de pacientes con cirugía R0 (n=17), tres son supervivientes, considerados hasta el momento libres de enfermedad. Entre los finalmente fallecidos (n=14) se comparó su supervivencia frente a la cirugía R1 en la serie a estudio. La mediana de la supervivencia de los pacientes R0 fue de 24,0 meses [14,5; 51.0] frente a los pacientes con cirugía R1 (n=20) que fue de 13,0 meses [6,50; 35,00], no observándose diferencias estadísticamente significativas (prueba de Log-Rank: p valor = 0,15)

Supervivencia según nivel de bilirrubina previo a la cirugía.

También se analizó si el nivel de bilirrubina previo a la cirugía fue determinante en la supervivencia postquirúrgica. En la figura 45 puede observarse la comparativa de las curvas de Kaplan-Meier de pacientes intervenidos con bilirrubina superior o inferior a 15mg/dL.



Como puede observarse, no se encontraron diferencias significativas, con un p valor de 0.772. Las medianas de supervivencia de ambos grupos fueron de 21,5 meses [15; 35] frente a 12 meses [8; N.A:].

Figura 45. Curvas de Kaplan-Meier de los pacientes intervenidos con bilirrubina > 15mg/dL (azul) frente a bilirrubina < 15mg/dL (rojo).

b. Resultados de los modelos de clasificación iTLBcp.

A partir del análisis calorimétrico de suero sanguíneo, y mediante la aplicación de herramientas de inteligencia artificial, se entrenaron un total de 4 modelos predictivos con los siguientes objetivos:

| | OBJETIVO DEL MODELO |
|------------------------|---|
| Modelo iTLBcp 1 | Discriminar entre población sana y afecta por ACDP. |
| Modelo iTLBcp 2 | Discriminar tumores resecables vs resto (<i>borderline</i> , avanzado o metastásico) |
| Modelo iTLBcp 3 | Discriminar tumores resecables + <i>borderline</i> vs resto (localmente avanzado o metastásico) |
| Modelo iTLBcp 4 | Identificar a los tumores en estadio metastásico. |

Tabla 26. Modelos calorimétricos predictivos desarrollados en este estudio de investigación, con sus objetivos.

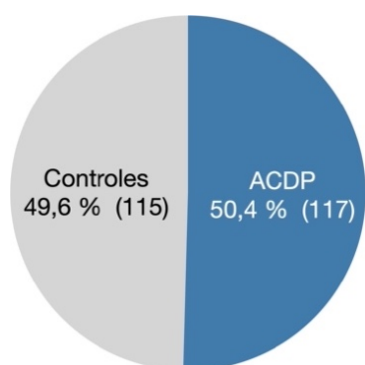
El modelo iTLBcp1 se desarrolló a partir del análisis calorimétrico del suero de pacientes con ACDP (n = 122) y del suero de individuos sanos procedentes del banco de sangre (n = 115).

Los modelos iTLBcp2, iTLBcp3 e iTLBcp4 se desarrollaron a partir del análisis calorimétrico del suero de pacientes con ACDP (n = 122).

Modelo iTLBcp1.

Este modelo predictivo se diseñó para discriminar entre la **población sana** y la **afecta por ACDP**.

Del total de pacientes con ACDP (n = 122), en 5 sueros no fue posible obtener el termograma por problemas técnicos con el análisis calorimétrico. Por lo que el número de sueros de pacientes con ACDP definitivo fue de 117.



Así, el número total de muestras de suero consideradas para el diseño del modelo fue de 232, de las cuales 115 (49,56%) provenían del grupo de donantes de sangre sanos y 117 (50,43%) de la serie de pacientes con ACDP. Esta distribución puede observarse en la figura 46.

Figura 46. Distribución de la población considerada para la elaboración del modelo de predicción iTLBcp1 (inteligence-Thermal Liquid Biopsy cáncer de páncreas 1).

En la figura 47 se muestra la representación media (línea continua) de los termogramas normalizados por el área obtenidos para cada grupo de pacientes (sanos y enfermos), con su desviación estándar (sombreado), así como ambas medias superpuestas, resaltando las diferencias entre los 2 grupos. Para entrenar el modelo de clasificación se utilizó el intervalo de temperaturas de entre 60 - 80°C, que contenía las mayores diferencias, tal y como queda reflejado en la gráfica de la derecha con las líneas verticales discontinuas.

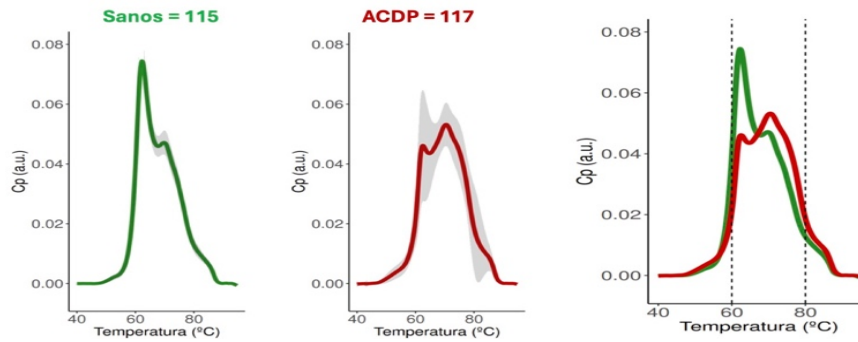


Figura 47. La línea continua representa la media de los termogramas normalizados por el área del grupo de controles sanos (verdes) y el grupo de pacientes con ACDP (rojo), con su desviación estándar representada a través del sombreado. La gráfica de la derecha muestra ambas curvas superpuestas, evidenciando sus diferencias. Con líneas discontinuas verticales se muestra el intervalo de temperaturas (60°C - 80°C) utilizado para el entrenamiento del modelo. Abreviaturas: ACDP adenocarcinoma ductal pancreático. C.p (a.u.): capacidad calorífica (unidades arbitrarias).

Como se detalla en el apartado de material y métodos, con el total de los sueros se generó una matriz de remuestreo para clasificar 100 veces las muestras en grupos de entrenamiento y de validación, es decir, se generaron un total de 100 grupos de entrenamiento y 100 grupos de validación diferentes, manteniendo la proporción 70% / 30% para entrenamiento y validación. El algoritmo de *machine learning* (*swichBox*) buscó parejas de temperaturas que identificasen diferencias entre los termogramas de cada grupo (controles sanos y ACDP). Para ello, identificó parejas de temperaturas para las cuales se cumplía que, por ejemplo, $C_p T_1 > C_p T_2$ en un grupo, mientras que ocurría lo contrario en el otro grupo, es decir $C_p T_1 < C_p T_2$ (ver figura 17). De esta forma, se obtuvieron múltiples variables dicotómicas que eran parejas de temperaturas, permitiéndonos asociar esto a un termograma de tipo control sano o de tipo caso-ACDP.

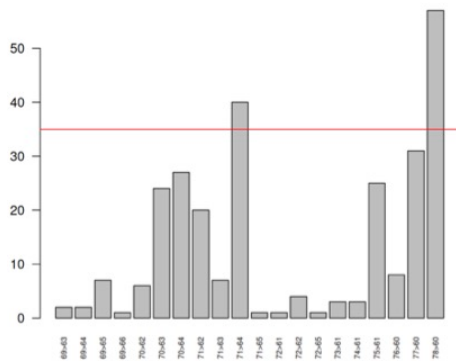


Figura 48. Pares de temperaturas seleccionados durante el entrenamiento del modelo *iTLBcp1*. La línea roja continua indica el punto de corte (frecuencia de repetición) seleccionado, que fue del 35%.

De todos los pares de temperaturas identificados por el algoritmo, se seleccionaron manualmente aquellos que mantuvieron esa condición al menos en el 35% de los 100 pases de entrenamiento.

Los pares de temperaturas seleccionados fueron dos: $71^\circ\text{C} > 64^\circ\text{C}$ y $78^\circ\text{C} > 60^\circ\text{C}$, como puede observarse en la figura 48.

A cada pareja de temperaturas seleccionadas se le aplicó un coeficiente. Como puede observarse en la figura 49, el par formado por las temperaturas $71^\circ\text{C} > 64^\circ\text{C}$ presentó un peso estadístico ligeramente mayor.

Considerando ya únicamente estos 2 pares de temperaturas, se generaron 100 modelos aleatorios a partir de los grupos de entrenamiento y validación, seleccionándose finalmente el que mejor área bajo la curva ROC presentó en el grupo de validación.

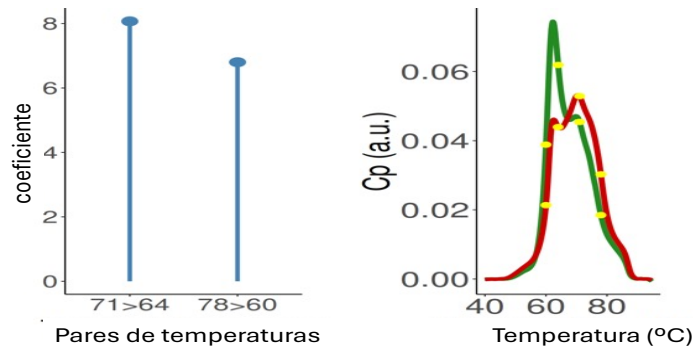
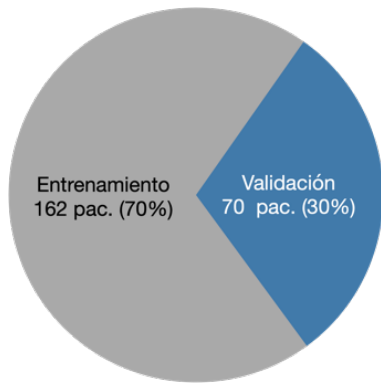


Figura 49: Gráfica izquierda: coeficiente de ambas parejas de temperaturas. Gráfica derecha: se muestra la ubicación de los dos pares de temperaturas a lo largo del termograma medio de cada grupo.

Los resultados obtenidos del modelo iTLBcp1 en el grupo de validación se detallan a continuación:



La población del grupo de validación estuvo constituida por 70 pacientes (30% de toda la población considerada), de los cuales 34 eran controles sanos y 36 pacientes con ACDP (ver figura 50).

Figura 50. Distribución de la población utilizada en la generación del modelo iTLBcp1.

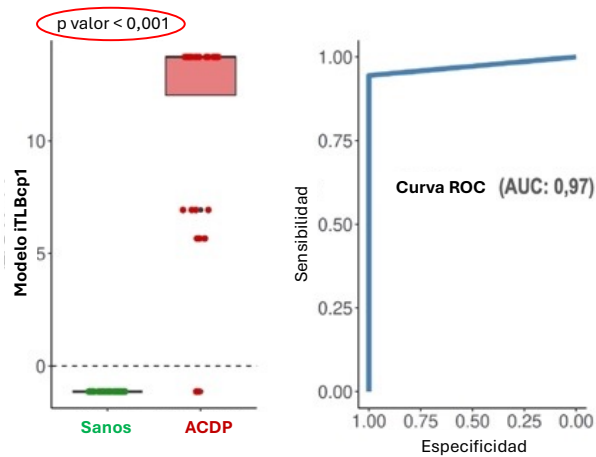
Dado que se consideraron 2 parejas de temperaturas y que la condición $71^{\circ}\text{C} > 64^{\circ}\text{C}$ y $78^{\circ}\text{C} > 60^{\circ}\text{C}$ podía cumplirse o no cumplirse, existían 4 posibles respuestas (si/si; si/no; no/no; no/si), por lo que el modelo predictivo clasificaba cada suero con 4 posibles valores numéricos, que fueron -1,136; 5,664; 6,933 y 13,7333.

Como puede verse en la tabla 27, el modelo clasificó con el valor inferior a 0 (-1,136) al 100% (34/34) de los controles sanos y sólo al 5,6% (2/36) de los pacientes con ACDP. El 94,4% (34/36) restante de pacientes con ACDP fueron clasificados por el modelo con los otros 3 valores superiores a 0 (5,664; 6,933 y 13,7333), con la distribución indicada.

| iTLBcp1 (valor numérico) | -1,136 | 5,664 | 6,933 | 13,7333 |
|--------------------------|--------|-------|-------|---------|
| Controles sanos n=34 | 34 ✓ | 0 | 0 | 0 |
| Pacientes ACDP n=36 | 2 × | 3 ✓ | 4 ✓ | 27 ✓ |

Tabla 27. Clasificación de los pacientes del grupo de validación por el modelo iTLBcp1. La doble línea representa el punto de corte estándar establecido en 0.

Por tanto, estableciendo el punto de corte estándar en 0, los valores de iTLBcp1 negativos (< 0) indicaban una predicción de malignidad NO (sano), mientras que los valores de iTLBcp1 positivos (> 0) indicaban una predicción de malignidad SÍ (ACDP). Esto quiere decir que modelo iTLBcp1 clasificó correctamente al 100% de los pacientes control sanos (34/34) y al 94,4% de los pacientes con ACDP (34/36).



Como puede observarse en la figura 51, al considerar la respuesta del modelo iTLBcp1 como una variable continua, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del resultado obtenido por el grupo de controles sanos (-1.136 [-1,136; -1,136]) y el grupo de pacientes con ACDP (13,734 [12,034; 13,734]) (prueba de Wilcoxon: p-valor < 0.001) con un AUC de 0.97 (IC_{95%} = 0.9306-1).

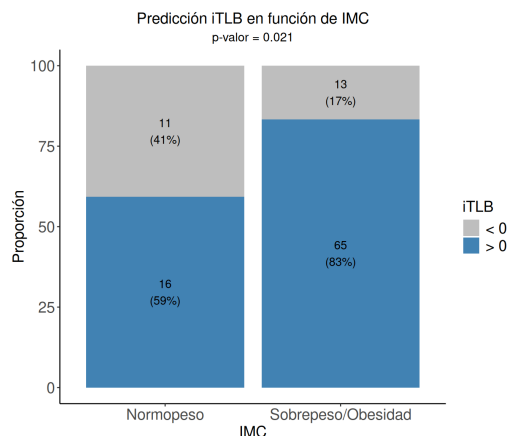
Figura 51. Resultados del modelo iTLBcp1 obtenido para diferenciar los termogramas de suero de controles sanos (en verde) frente a pacientes con ACDP (en rojo). Izquierda: Clasificación del modelo. Diferencia de medianas del modelo iTLBcp1 en cada grupo: controles sanos (verde) y ACDP (en rojo), representando en línea horizontal discontinua el punto de corte estándar de cero; Derecha: Área bajo la curva ROC; Abreviaturas: ACDP: adenocarcinoma ductal pancreático. AUC: area under the curve; : iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy; ROC: receiver operating characteristic.

Posteriormente se calcularon los índices de predicción del modelo, obteniendo los resultados que se observan en la tabla 28:

| Modelo iTLBcp1 | | | | | |
|----------------|--------------|---------------|------|--------|--|
| | | < 0 | > 0 | | |
| Sano | | 34 | 0 | | |
| ACDP | | 2 | 34 | | |
| Precisión | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN | |
| 97,14% | 94,44% | 100% | 100% | 94,44% | |

Tabla 28: Resultados del modelo iTLBcp1 en el grupo de validación, obtenido para diferenciar los termogramas de suero de pacientes sanos y pacientes con ACDP. Arriba: Tabla de contingencia de la predicción. Abajo: rendimiento del modelo iTLBcp1. Abreviaturas: iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy.

Una vez obtenido el modelo iTLBcp1, se analizó si su predicción podía verse influida por diferentes variables relacionadas con características del tumor (localización, estadio TNM y criterios de resecabilidad) o del paciente (IMC, comorbilidad, antecedente de PC, DM).



Para realizar este análisis, el modelo se aplicó al total de pacientes con ACDP (n = 117), y se estudió si existían diferencias significativas en el resultado del mismo (> 0 o < 0) según las variables seleccionadas.

Del total de variables analizadas, únicamente se identificaron diferencias significativas en el caso del IMC, de modo que los pacientes con sobrepeso u obesidad obtenían más resultados > 0 frente a pacientes con normopeso, con un p valor = 0,021, tal y como se observa en la figura 52.

Figura 52. Predicción del modelo iTLBcp1 según IMC. El modelo predice más resultados positivos en los pacientes con sobrepeso/obesidad, siendo estas diferencias estadísticamente significativas con un p valor de 0,021.

En la siguiente tabla se resume el resultado obtenido tras el análisis del resto de variables:

| Variable | Descripción de los grupos (n) | p-valor |
|-----------------------------|--|---------------------|
| Localización tumoral | Cabeza (88) Cuerpo cola (29) | p = 0,779 (n.s.) |
| Estadificación TNM | TNM I (26) TNM II (24) TNM III (12) TNM IV (55) | p = 0,942 (n.s.) |
| Resecabilidad | Resecable n (33) Borderline n (11) Loc Avanzado n (18) Metastásico n (55) | p = 0,975 (n.s.) |
| IMC | Normopeso (27) Sobrepeso/Obesidad (78) | p = 0,021 |
| Pancreatitis crónica | Sin PC (105) PC previa (12) | p = 0,728 (n.s.) |
| ICC | Leve-moderado (82) Grave (35) | p = 0,174 (n.s.) |
| Diabetes (n=38) | Sin DM (79) DM (38) | p = 0,506 (n.s.) |

Tabla 29. Resumen de los resultados obtenidos tras analizar la posible influencia de diferentes variables en los resultados del modelo iTLBcp1.

De igual modo, se analizó si los niveles de diferentes biomarcadores en el suero (Ca 19.9, CEA, PCR, bilirrubina, proteínas totales o albúmina) pudieran influir en el resultado del modelo iTLBcp1, considerando en este caso los cuatro valores numéricos posibles del modelo de predicción. Se observaron diferencias estadísticamente significativas únicamente entre pacientes con niveles de bilirrubina elevados (p = 0,001), en los que el valor adjudicado por el modelo iTLBcp1 tendía a ser positivo. Estos resultados quedan resumidos en la figura 53.

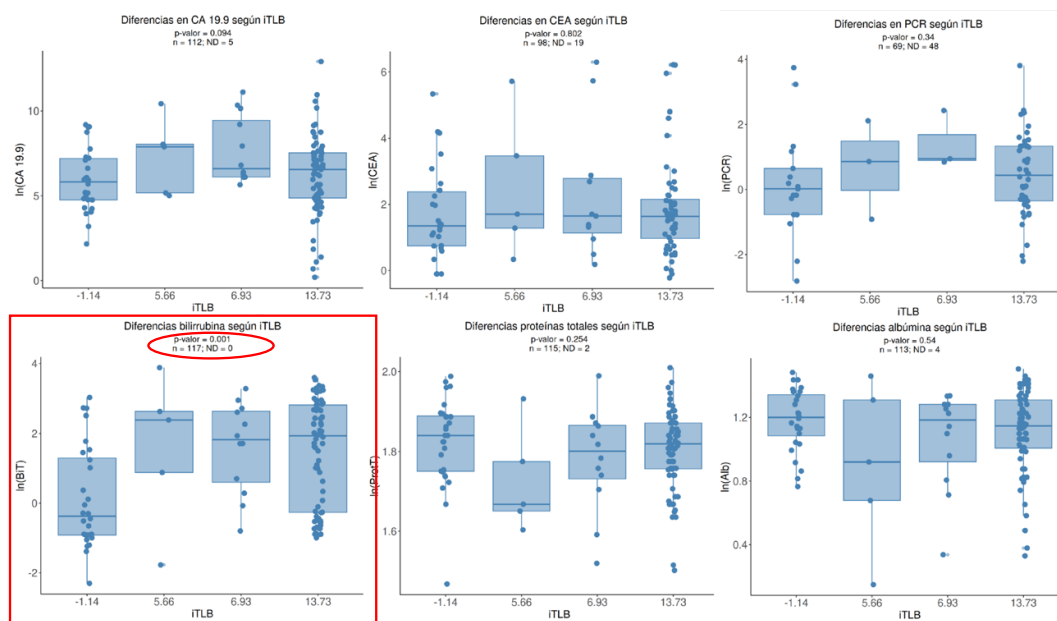


Figura 53. Predicción del modelo iTLBcp1 según diferentes biomarcadores (Ca 19.9, CEA, PCR, bilirrubina, proteínas totales y albúmina). Valores de bilirrubina más elevados inducen un resultados del modelo iTLBcp1 > 0 con un p valor de 0,001.

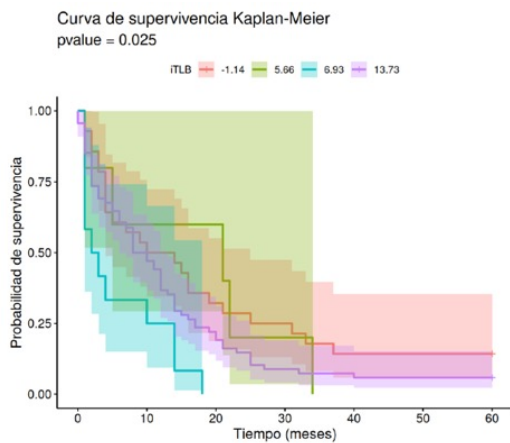


Figura 54. Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de los grupos de pacientes según el valor obtenido con el modelo iTLBcp1. El sombreado indica el intervalo de confianza (IC 95%).

Finalmente, se realizó también un análisis de supervivencia agrupando a los pacientes según el valor numérico que obtenían del modelo iTLBcp1. El resultado se muestra en la figura 54 donde se observan las curvas de Kaplan-Meier para cada grupo, y puede apreciarse que los pacientes clasificados con el valor numérico negativo (-1,14) presentaron una mayor supervivencia, con diferencias que alcanzaron la significancia estadística (test Log-rank p-valor = 0,025).

Modelos iTLBcp 2, iTLBcp 3, iTLBcp 4.

De los resultados presentados previamente del modelo iTLBcp 1 se deduce que, a pesar de ser un buen modelo para discriminar individuos sanos y enfermos, entre los pacientes con ACDP carece de utilidad para discriminar estadios más precoces, o mayor probabilidad de resección radical R0. Por esta razón, se planteó el entrenamiento de otros modelos, diseñados específicamente para este objetivo, que fueron los modelos iTLBcp 2, iTLBcp 3 e iTLBcp 4.

La metodología utilizada es la misma descrita para el modelo iTLBcp1, por lo que no se volverá a desarrollar en detalle especificando cada paso a seguir. Para elaborar los grupos de entrenamiento y validación se consideraron sueros de pacientes con ACDP en los que pudieron obtenerse los termogramas (n = 117). A continuación, se presentan los resultados obtenidos en cada modelo:

Modelo iTLBcp 2: objetivo discriminar ACDP resecable vs. resto.

Este modelo se entrenó para comparar al grupo de pacientes con ACDP en estadio resecable al diagnóstico frente al resto de pacientes con ACDP no resecable, es decir, en estadio *borderline*, localmente avanzado y metastásico. En la figura 55 se muestra la representación media (línea continua) de los termogramas normalizados por el área obtenidos para cada grupo de pacientes (resecables en verde vs. no resecables en rojo), con su desviación estándar (sombreado), así como ambas medias superpuestas, que permiten visualizar gráficamente las ligeras diferencias existentes entre ambos grupos. El intervalo de temperaturas considerado en el entrenamiento del modelo fue 60-80°C, por contener las mayores diferencias, tal y como queda reflejado en la gráfica de la derecha, con las líneas verticales discontinuas.

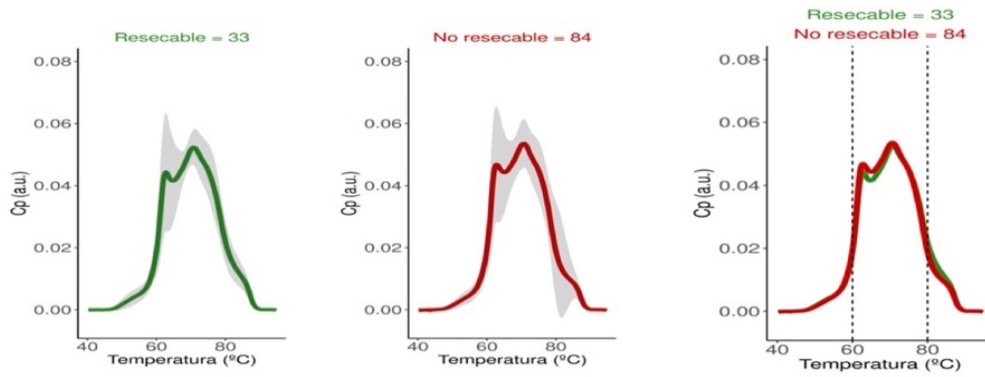


Figura 55. La línea continua representa la media de los termogramas normalizados por el área del grupo de pacientes con ACDP resecable (en verde) y el grupo de pacientes con ACDP no resecable (en rojo), con su desviación estándar representada a través del sombreado. La gráfica de la derecha muestra ambas curvas superpuestas, evidenciando sus ligeras diferencias. Con líneas discontinuas verticales se muestra el intervalo de temperaturas (60°C - 80°C) utilizado para el entrenamiento del modelo. Abreviaturas: C.p (a.u): capacidad calorífica (unidades arbitrarias).

Se generó la matriz de remuestreo con las 117 muestras para clasificarlas en 100 grupos de entrenamiento y 100 grupos de validación diferentes. El algoritmo de *machine-learning* identificó los pares de temperaturas que marcaban diferencias entre los termogramas de ambos grupos (resecables y no resecables). Se estableció el punto de corte para seleccionar las más frecuentes y posteriormente se les aplicaron los coeficientes correspondientes. En este modelo, las parejas de temperaturas seleccionadas fueron 3: 61°C > 70°C; 74°C > 68°C; 66°C > 63°C (ver figura 56).

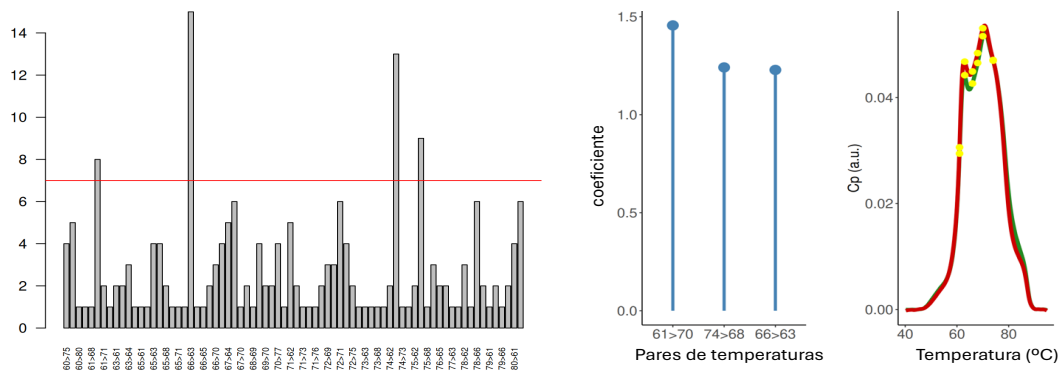


Figura 56. Izquierda: Pares de temperaturas seleccionados durante el entrenamiento del modelo iTLBcp2. La línea roja continua indica el punto de corte (frecuencia de repetición) seleccionada manualmente. Centro: coeficientes correspondientes a los pares de temperaturas seleccionados finalmente. Derecha: se muestra la ubicación de los tres pares de temperaturas seleccionados a lo largo del termograma medio de cada grupo.

Finalmente, considerando ya únicamente estos 3 pares de temperaturas, se generaron 100 modelos aleatorios a partir de los grupos de entrenamiento y validación, seleccionándose el que mejor área bajo la curva ROC presentó en el grupo de validación, y calculándose sus índices de predicción.

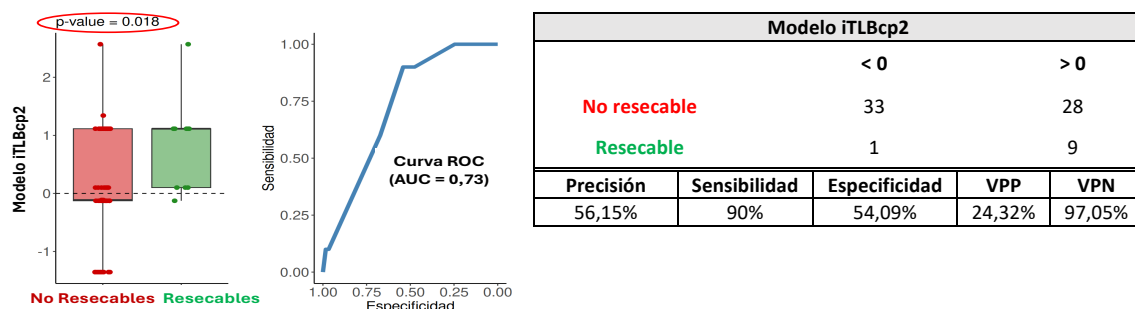


Figura 57. Resultados del modelo iTLBcp2 obtenido para diferenciar los termogramas de suero de ACDP resecables (en verde) frente a pacientes con ACDP no resecables (en rojo). Izquierda: Clasificación del modelo. Diferencia de medianas del modelo iTLBcp2 en cada grupo: resecables (en verde) y no resecables (en rojo), representando en línea horizontal el punto de corte estándar de cero; Centro: Área bajo la curva ROC; Derecha: Tabla de contingencia e índices de predicción del modelo. Abreviaturas: AUC: area under the curve; ROC: receiver operating characteristic.

Por tanto, estableciendo el punto de corte en 0, los valores de iTLBcp2 negativos (< 0) indican una predicción de NO resecabilidad (*borderline* + localmente avanzado + metastásico), mientras que los valores de iTLBcp2 positivos (> 0) indican una predicción de resecabilidad. El modelo iTLBcp2 clasificó correctamente al 90% (9/10) de los ACDP resecables, pero sólo al 54,09% (33/61) de los ACDP no resecables.

Al considerar la respuesta del mismo como una variable continua, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del resultado obtenido por el grupo de pacientes resecables (1.114 [0,1001; 1,114]) y no resecables (-0,114 [-0,126; 1,114]) (prueba de Wilcoxon: p valor = 0,018) con un AUC de 0.73 (IC_{95%} = 0.5975-0,8459) (Figura 57)

Modelo iTLBcp 3: objetivo discriminar entre resecable + *borderline* frente al resto.

Este modelo se entrenó para comparar al grupo de pacientes con ACDP en estadio resecable + *borderline* al diagnóstico frente al resto de pacientes con ACDP en estadio localmente avanzado + metastásico.

En la figura 58 se muestra la representación media (línea continua) de los termogramas normalizados por el área obtenidos para cada grupo de pacientes (resecables + *borderline* en verde vs. localmente avanzados + metastásicos en rojo), con su desviación estándar (sombreado), así como ambas medias superpuestas, resaltando gráficamente las escasas diferencias entre ambos grupos. El intervalo de temperaturas considerado en el entrenamiento del modelo fue 60-80°C, por contener las mayores diferencias, tal y como queda reflejado en la gráfica de la derecha, con las líneas verticales discontinuas.

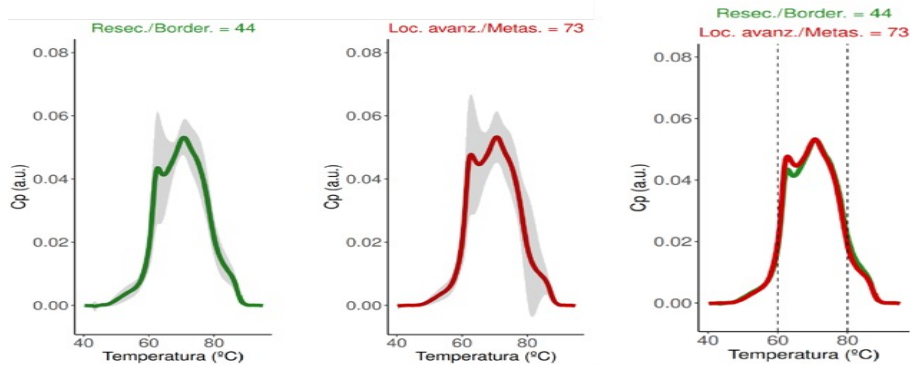


Figura 58. La línea continua representa la media de los termogramas normalizados por el área del grupo de pacientes con ACDP reseccable + borderline (en verde) y el grupo de pacientes con ACDP localmente avanzado + metastásico (en rojo), con su desviación estándar representada a través del sombreado. La gráfica de la derecha muestra ambas curvas superpuestas, evidenciando sus ligeras diferencias. Con líneas discontinuas verticales se muestra el intervalo de temperaturas (60°C - 80°C) utilizado para el entrenamiento del modelo. Abreviaturas: C.p (a.u.): capacidad calorífica (unidades arbitrarias).

Se generó la matriz de remuestreo con las 117 muestras para clasificarlas en 100 grupos de entrenamiento y 100 grupos de validación diferentes. El algoritmo de *machine-learning* seleccionó los pares de temperaturas que marcaban diferencias entre los termogramas de ambos grupos. Se estableció el punto de corte para seleccionar las más frecuentes y posteriormente se les aplicaron los coeficientes correspondientes. En este modelo, las parejas de temperaturas seleccionadas fueron finalmente 2: 72°C > 73°C; 65°C > 64°C (ver figura 59).

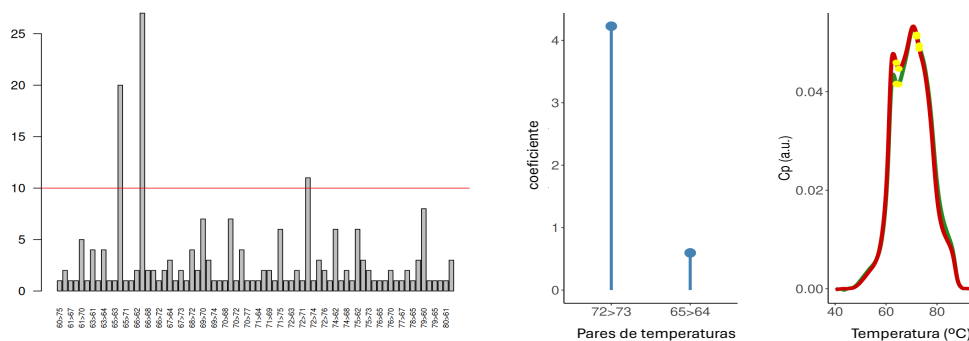


Figura 59. Izquierda: Pares de temperaturas seleccionados durante el entrenamiento del modelo iTLBcp3. La línea roja continua indica el punto de corte (frecuencia de repetición) seleccionado manualmente. Centro: coeficientes correspondientes a los pares de temperaturas seleccionados finalmente (uno de ellos fue de 0). Derecha: se muestra la ubicación de los dos pares de temperaturas seleccionados a lo largo del termograma medio de cada grupo.

Finalmente, considerando ya únicamente estos 2 pares de temperaturas, se generaron 100 modelos aleatorios a partir de los grupos de entrenamiento y validación, seleccionándose el que mejor área bajo la curva ROC presentó en el grupo de validación, y calculándose sus índices de predicción, cuyos resultados se muestran en la figura 60.

Por tanto, estableciendo el punto de corte en 0, los valores de iTLBcp3 negativos (< 0) indicaron una predicción de ACDP localmente avanzado + metastásico, mientras que los valores de iTLBcp3 positivos (> 0) indicaron una predicción de ACDP reseccable + *borderline*. El modelo iTLBcp3 clasificó correctamente al 84,6% (11/13) de los ACDP reseccables + *borderline*, pero sólo al 61,9% (26/42) de los ACDP localmente avanzados + metastásicos.

Al considerar la respuesta del mismo como una variable continua, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del resultado obtenido por el grupo de pacientes reseccables + *borderline* (0,3924 [0,3924; 0,3924]) y el resto (localmente avanzados + metastásicos) (-0,2035 [-0,2035; 0,3924]) (prueba de Wilcoxon: p-valor = 0,015) con un AUC de 0.74 (IC_{95%} = 0.6117-0,8452) (Figura 60).

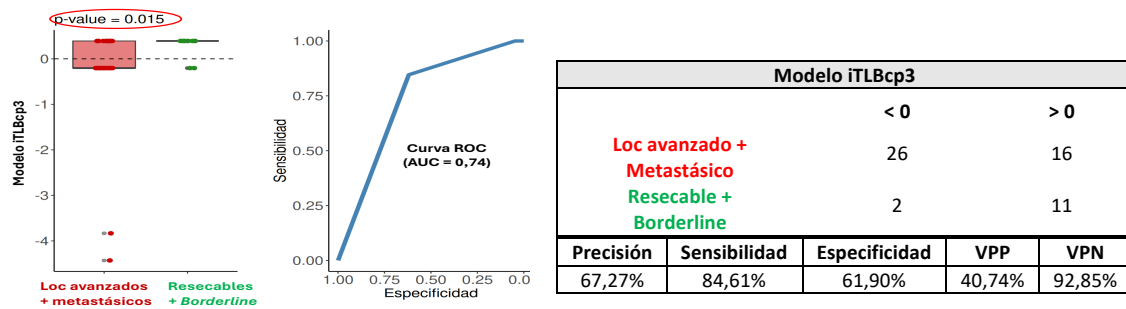


Figura 60. Resultados del modelo iTLBcp3 obtenido para diferenciar los termogramas de suero de ACDP resecables + borderline (en verde) frente a pacientes con ACDP localmente avanzados + metastásicos (en rojo). Izquierda: Clasificación del modelo. Diferencia de medianas del modelo iTLBcp3 en cada grupo: resecables + borderline (en verde) y localmente avanzados + metastásicos (en rojo), representando en línea horizontal discontinua el punto de corte estándar de cero; Centro: Área bajo la curva ROC; Derecha: Tabla de contingencia e índices de predicción del modelo. Abreviaturas: AUC: area under the curve; ROC: receiver operating characteristic.

Modelo iTLBcp 4: objetivo discriminar a los pacientes metastásicos frente al resto.

Este modelo se entrenó para comparar al grupo de pacientes con ACDP metastásico al diagnóstico frente al grupo de pacientes no metastásicos (resecable + *borderline* + localmente avanzado).

En la figura 61 se muestra la representación media (línea continua) de los termogramas normalizados por el área obtenidos para cada grupo de pacientes (no metastásicos en verde vs. metastásicos en rojo) con su desviación estándar (sombreado), así como ambas medias superpuestas, resaltando las escasas diferencias entre ambos grupos. El intervalo de temperaturas considerado en el entrenamiento del modelo fue 60-80°C, por contener las mayores diferencias, tal y como queda reflejado en la gráfica de la derecha con las líneas verticales discontinuas.

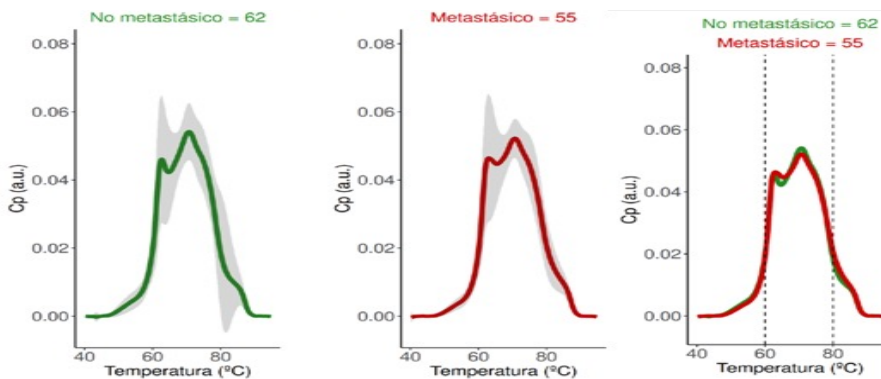


Figura 61. La línea continua representa la media de los termogramas normalizados por el área del grupo de pacientes con ACDP no metastásico (en verde) y el grupo de pacientes con ACDP metastásico (en rojo), con su desviación estándar representada a través del sombreado. La gráfica de la derecha muestra ambas curvas superpuestas, evidenciando sus ligeras diferencias. Con líneas discontinuas verticales se muestra el intervalo de temperaturas (60°C - 80°C) utilizado para el entrenamiento del modelo. Abreviaturas: C.p (a.u): capacidad calorífica (unidades arbitrarias).

Se generó la matriz de remuestreo con las 117 muestras para clasificarlas en 100 grupos de entrenamiento y 100 grupos de validación diferentes. El algoritmo de *machine-learning* identificó los pares de temperaturas que marcaban diferencias entre los termogramas de ambos grupos (metastásicos y no metastásicos). Se estableció el punto de corte para seleccionar las más frecuentes y posteriormente se les aplicaron los coeficientes correspondientes. En este modelo las parejas de temperaturas seleccionadas fueron finalmente 3: 71°C > 61°C; 65°C > 79°C; 67°C > 68°C (ver figura 62).

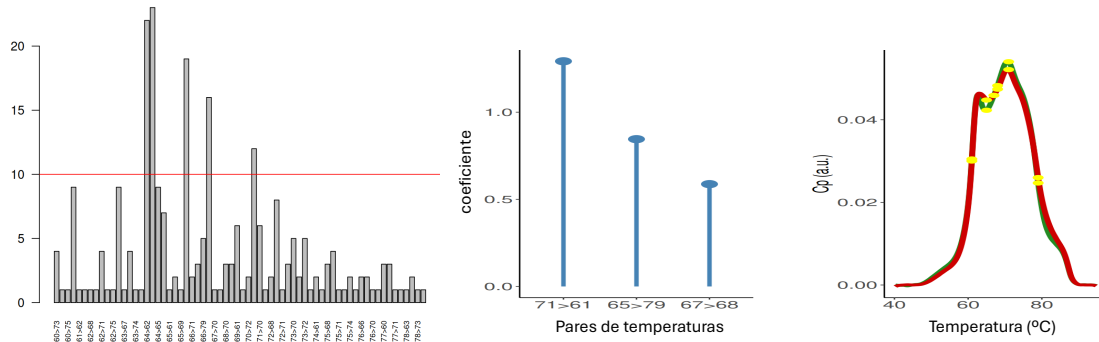


Figura 62. Izquierda: Pares de temperaturas seleccionados durante el entrenamiento del modelo iTLBcp4. La línea roja continua indica el punto de corte (frecuencia de repetición) seleccionado manualmente. Centro: coeficientes correspondientes a los pares de temperaturas seleccionados finalmente. Derecha: se muestra la ubicación de los tres pares de temperaturas seleccionados a lo largo del termograma medio de cada grupo.

Considerando ya únicamente estos 3 pares de temperaturas, se generaron 100 modelos aleatorios a partir de los grupos de entrenamiento y validación, seleccionándose el que mejor área bajo la curva ROC presentó en el grupo de validación, y calculándose sus índices de predicción, cuyos resultados se muestran en la figura 63.

Por tanto, estableciendo el punto de corte en 0, los valores de iTLBcp4 negativos (< 0) indican una predicción de ACDP NO metastásico, mientras que los valores de iTLBcp4 positivos (> 0) indican una predicción de ACDP metastásico.

El modelo iTLBcp4 en el grupo de validación clasifica correctamente sólo al 34,78% (8/23) de los ACDP no metastásicos, y al 81,25% (13/16) de los ACDP metastásicos. Al considerar la respuesta del mismo como una variable continua, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del resultado obtenido por cada grupo (prueba de Wilcoxon: p-valor = 0,074) con un AUC de 0.65 (IC_{95%} = 0.4701-0,8057) (Figura 63).

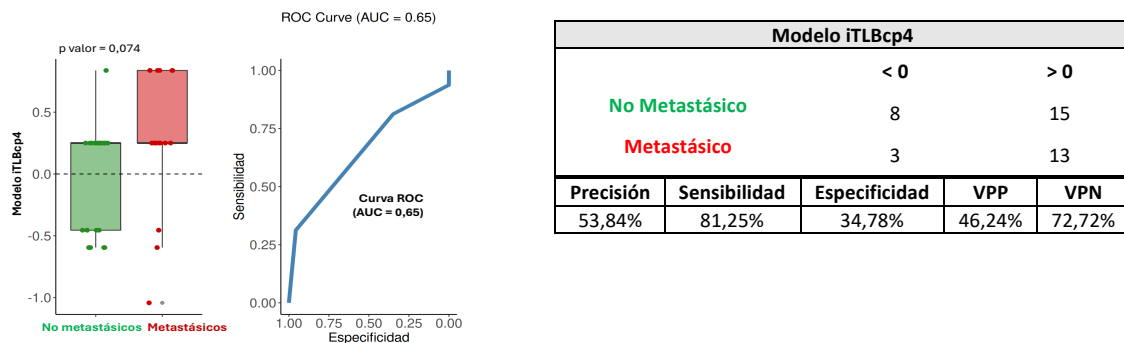


Figura 63. Resultados del modelo iTLBcp4 obtenido para diferenciar los termogramas de suero de ACDP no metastásicos (en verde) frente a pacientes con ACDP metastásico (en rojo). Izquierda: Clasificación del modelo. Diferencia de medianas del modelo iTLBcp2 en cada grupo: no metastásicos (en verde) y metastásicos (en rojo), representando en línea horizontal discontinua el punto de corte estándar de cero; Centro: Área bajo la curva ROC; Derecha: Tabla de contingencia e índices de predicción del modelo. Abreviaturas: AUC: area under the curve; ROC: receiver operating characteristic.

c. CURIOSIDADES

PACIENTES SUPERVIVIENTES.

Del total de la serie analizada, se identificaron 5 supervivientes, que actualmente se encuentran en seguimiento en consultas de Oncología Médica y se consideran libres de enfermedad pancreática. Se contactó con ellos y se les solicitó nuevo consentimiento para una nueva extracción sanguínea y repetir el análisis calorimétrico en las nuevas muestras de suero.

A continuación se muestra la comparativa de los termogramas obtenidos en 3 de ellos que aceptaron participar de nuevo en el estudio. En las gráficas de la figura 64, nivel inferior, se pueden ver ambas curvas superpuestas, en rojo el termograma obtenido al diagnóstico de ACDP y en amarillo el termograma de control.

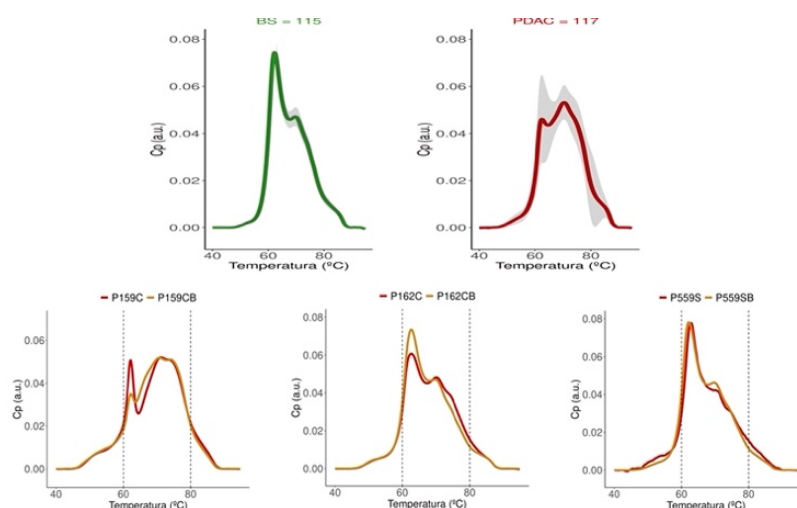


Figura 64. Evolución gráfica de los termogramas de los 3 pacientes supervivientes, al diagnóstico y a la curación. Comparación con las medias de los termogramas de los controles sanos y los pacientes con ACDP. Las 2 gráficas de arriba representan las curvas medias de los termogramas de los controles sanos (en verde) y los pacientes con ACDP (en rojo). En las 3 gráficas de abajo se representan superpuestos los termogramas de los pacientes supervivientes en el momento del diagnóstico de ACDP (en rojo) y una vez superada la enfermedad pancreática (en amarillo).

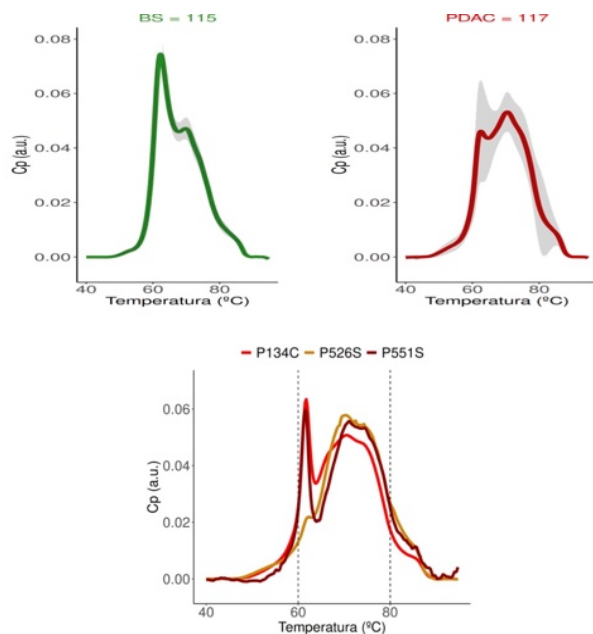
En los pacientes P162C y P559S (gráficas inferiores centro y derecha) se observa como la curva amarilla, que representa el termograma del paciente tras superar la enfermedad pancreática, tiende a recuperar la morfología típica del control sano (curva verde, gráfica superior izquierda).

En el paciente P159C (gráfica inferior izquierda) esta evolución no se observó. A las 2 semanas de la segunda extracción fue diagnosticado de un tumor escamoso pulmonar metastásico.

De estas observaciones se deduciría que la calorimetría también podría jugar un papel en el seguimiento de los pacientes con ACDP, confirmando o no su curación, como una prueba más a favor de que los pacientes han conseguido superar la enfermedad, o bien presentan enfermedad remanente. Aunque no es posible extraer conclusiones a partir de un número tan escaso de casos, sería interesante confirmar estos resultados en una serie con un mayor tamaño muestral

PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DIFERENTE A ACDP

De los pacientes reclutados inicialmente, 3 se excluyeron del estudio por presentar un diagnóstico diferente a ACDP. Los diagnósticos definitivos fueron PC pseudotumoral, pancreatitis autoinmune y pancTNE.



Sus termogramas se representan superpuestos en la gráfica inferior de la figura 65. El paciente P526S fue una PC pseudotumoral con curva en amarillo, el paciente P134C fue una pancreatitis autoinmune con curva en rojo, y el paciente P551S fue un pancTNE con curva en granate.

Como puede observarse, las curvas de estos 3 pacientes son morfológicamente muy diferentes entre sí, pero también en comparación con el termograma medio del grupo control sano (gráfica superior izquierda en verde), y el de los pacientes con ACDP (gráfica superior derecha en rojo).

Figura 65. Comparación gráfica de las medias de los termogramas de los controles sanos y los pacientes con ACDP frente a los termogramas de los 3 pacientes con diagnóstico diferente a ACDP. Las 2 gráficas de arriba representan las curvas medias de los termogramas de los controles sanos (en verde) y los pacientes con ACDP (en rojo). La gráficas inferiores representan las curvas superpuestas de los termogramas del paciente con pancreatitis autoinmune (en rojo), PC pseudotumoral (en amarillo) y pancTNE (en granate)

Análogamente a lo que ocurre con los pacientes supervivientes, de estas observaciones se deduciría que el análisis calorimétrico del suero es capaz de identificar diferencias existentes en pacientes con diferentes enfermedades pancreáticas, sin poder extraer conclusiones relevantes. Su alcance diagnóstico debería analizarse en una serie de pacientes de mayor tamaño, que incluyese patología pancreática diversa.

DISCUSIÓN ACDP.

a. ¿Es posible mejorar la supervivencia del ACDP?

El ACDP es hoy en día una enfermedad que supone un grave problema de salud, con una incidencia creciente a nivel mundial, y muy especialmente en los países más desarrollados. Esta circunstancia puede relacionarse con el aumento de la esperanza de vida, la creciente prevalencia de factores de riesgo conocidos como la obesidad o la diabetes, y ciertos hábitos como el consumo de alcohol y tabaco, asociados a niveles socioeconómicos medios-altos. Su pronóstico hoy en día es infausto y la cirugía sigue siendo el único tratamiento curativo disponible. Pero las opciones quirúrgicas son limitadas (menos del 20% al diagnóstico) (17) y la recurrencia postquirúrgica muy elevada (hasta un 80% en 2 años), incluso tras resecciones radicales R0 (352). Esta nefasta situación se ve favorecida por las limitaciones de las herramientas diagnósticas disponibles, con ausencia de biomarcadores precoces y programas eficaces de cribado (152).

Según las series publicadas, la localización más frecuente del ACDP es la cabeza pancreática (70%), circunstancia que se cumple en la serie de ACDP estudiada, con un 74,6% de tumores cefálicos. En cuanto a la distribución por sexo, generalmente se ha descrito un ligero pero progresivo predominio masculino, que no se ha confirmado en nuestro análisis, que muestra contrariamente una ligera predominancia femenina (51.6% de casos femeninos frente al 48,4% masculinos). La edad de máxima incidencia descrita en la literatura se sitúa entre los 65 y los 75 años con sólo un 20% de diagnósticos en menores de 60 años (4). En la serie a estudio, análogamente, el mayor pico de incidencia se observó entre los 65 y los 70 años, pero también se identificó un pico secundario más precoz, entre los 58 y los 62 años. Sólo un 23,8% de pacientes se diagnosticaron con edad inferior a los 60 años. Esta tendencia al diagnóstico a edades más tempranas ha sido también descrita en otras series en los últimos años, como ya se ha comentado en la introducción de esta tesis doctoral (6,7). La cohorte de pacientes presentó al diagnóstico un ICC ajustado a la edad y una puntuación ECOG acorde con su perfil poblacional (70,4% ICC leve-moderado y 57,3% ECOG entre 0-1). Por tanto, desde el punto de vista demográfico, se puede considerar que la serie estudiada es representativa, y acorde con las características descritas de la población que padece ACDP.

Si algo caracteriza a este tumor es su elevadísima tasa de letalidad. Actualmente se considera el tercer cáncer más mortal en EEUU, y se estima que pronto sobrepasará al CCR, quedando en segundo lugar tras el cáncer de pulmón (353–356). Un escaso porcentaje de pacientes de entre el 3-15% (356–359) supera los 5 años de supervivencia, correspondiéndose el límite inferior con los estadios metastásicos.

La supervivencia observada en la serie analizada ha sido baja, del 6,8% a los 5 años, siendo la supervivencia media de los fallecidos de 12 meses. Este porcentaje se sitúa dentro de la horquilla de supervivencia publicada, probablemente algo penalizada debido a que el reclutamiento del estudio se inició en 2014. En cualquier caso, este mal pronóstico parece principalmente atribuirse a la letalidad de la enfermedad, ya que no se observó una elevada comorbilidad preexistente entre los pacientes analizados. El análisis de supervivencia con curvas de Kaplan-Meier mostró supervivencias significativamente mejores en pacientes varones jóvenes (especialmente por debajo de los 65 años), con normopeso y menor comorbilidad asociada. Sin embargo, no se objetivaron diferencias entre la supervivencia de pacientes con o sin diabetes, o en dependencia de su hábito tabáquico.

Entre los múltiples factores que condicionan la elevada letalidad del ACDP, se ha descrito su evolución silente especialmente en fases precoces, la falta de disponibilidad de biomarcadores con adecuada sensibilidad y especificidad, la resistencia a los tratamientos de quimioterapia actuales, así como su localización anatómica, que dificulta su extirpación quirúrgica, y la propia agresividad biológica del tumor que provoca un rápido y grave deterioro nutricional y del estado general del paciente que lo padece (3). A todo esto, se une que, la mayoría de los casos de ACDP son esporádicos, sin factores de riesgo específicos que permitan establecer sistemas de cribado eficaces.

En resumen, como se ha descrito, el pancreatólogo se enfrenta al reto de diagnosticar un tumor muy letal, de sintomatología inespecífica y tardía, sin ayuda de biomarcadores eficientes y de difícil tratamiento. Resulta pues evidente la necesidad de explorar nuevas herramientas que permitan su diagnóstico más temprano, como se ha pretendido en esta investigación, que constituye esta tesis doctoral.

De modo similar al modelo del CCR, la lesión considerada inicial del ACDP es la neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN) que, tras iniciar una serie de mutaciones y atipias citológicas, se transforma primero en un adenocarcinoma in situ y, posteriormente, en un adenocarcinoma invasor (360,361). Lamentablemente, esta lesión inicial es indetectable para las técnicas diagnósticas disponibles actualmente. Esta forma oculta de desarrollo tumoral esporádico parece ser la responsable del 85-90% de los ACDP (78,79). Sólo en un 3-10% de casos puede identificarse algún tipo de predisposición genética (80), que permite definir a este pequeño grupo como población de alto riesgo. Y en otro escaso 10-15% el ACDP se desarrollará en el seno de NQP-M (TPMI y MCN), que sí se identifican con las técnicas de imagen disponibles (105), y que constituyen otro segundo grupo poblacional de riesgo, también objeto de estudio de esta tesis doctoral.

El ACDP es un tumor con un periodo inicial de desarrollo lento, estimándose en unos **15 años** el tiempo que transcurre entre las mutaciones genéticas iniciales y la aparición de la primera sintomatología (362). Teóricamente, este periodo ventana debería ser utilizado para el diagnóstico en fase óptima de tratamiento, que se considera antes de que el tumor alcance los 3 cm de diámetro (sin afectar a vasos esenciales) y sin que haya provocado metástasis (77). En esta situación se puede llevar a cabo una resección quirúrgica radical R0 (143), accesible hoy en día para solo una minoría de pacientes (15-20%) por el habitual retraso diagnóstico (17). Si se consiguiese anticipar el diagnóstico unos meses o, mejor 1 o 2 años, la mejora estimada en la supervivencia se calcula en torno a un 40%, porque el tumor no habría invadido estructuras vecinas ni desarrollado metástasis, los pacientes no experimentarían un deterioro y desnutrición tan rápidos, y tolerarían mejor el tratamiento quimioterápico y/o quirúrgico (363,364). Por tanto, el objetivo sería detectar y tratar a los pacientes con PanIN de alto grado y tumores en estadio T1 N0 M0 accesibles a resecciones curativas (83).

En la serie estudiada, como sucede en otras publicadas, la mayoría de los pacientes se diagnosticaron en estadios no quirúrgicos (56,5% estadios III-IV; 61,45% localmente avanzados-metastásicos), y casi la mitad (46,7%) eran ya metastásicos.

Para incrementar el porcentaje de pacientes en estadios TNM I o II, se precisaría de un sistema de cribado probablemente dirigido a población mayor de 50-60 años, a la que idealmente deberíamos ofrecer una prueba simple, barata, fiable y no invasiva. Sin embargo, en la actualidad no se dispone de una prueba que reúna estas características, y en caso de existir, dada la baja incidencia de esta enfermedad, tampoco se consideraría coste-efectiva. La *US Preventive Services Task Force*, estimando que aproximadamente el 1,6% de los habitantes de USA sufrirán este cáncer a lo largo de su vida, refiere que incluso una prueba ideal que tuviese un 99% de sensibilidad y un 99% de especificidad, produciría 1.000 falsos positivos por cada 100.000 personas examinadas (365). Por ello, de momento, el esfuerzo debería dirigirse hacia:

1. Población de alto riesgo genético: síndromes genéticos y familiares de primer grado de pacientes afectos, como he comentado en la introducción.
2. Pacientes portadores de NQP-M, que se tratan en otro apartado de esta tesis.
3. Población de riesgo bajo (ACDP esporádico) pero que reúne factores de riesgo conocido para el desarrollo del ACDP, que los convierte en población de riesgo moderado.

Población de alto riesgo genético.

El cribado en población de alto riesgo está bien establecido. El programa más amplio de seguimiento de población de alto riesgo es el denominado "*Cancer of the Pancreas Screening Study*" (*CAPS study*), liderado por la *John Hopkins University* (366), que incluye a más de 2.000 individuos y que se dirige a los portadores de variantes patogénicas de mutaciones germinales, como las que se encuentran en los síndromes genéticos detallados en la introducción, con criterios bastante restrictivos.

Una vía adicional ya explorada ha sido cribar también a individuos con un único familiar de primer grado con ACDP, en ausencia de otros factores de riesgo. Sin embargo, el riesgo estimado de esta población es demasiado bajo (RR aproximado x 4,6), por lo que, de momento, no se recomienda (94). Actualmente la estrategia consiste en seleccionar a individuos con mayor riesgo, como aquellos con dos familiares de primer grado afectos (RR x 6,4) o, como indica la *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*, portadores de mutaciones germinales (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDKN2A*, *LS genes [MLH1, MSH2*,

MSH6, EPCAM, PALB2, STK11, y TP53) en todos los pacientes con diagnóstico de ACDP, mediante la realización de un estudio genético. Si resultan portadores de alguna de ellas, deberá investigarse a los familiares de primer grado y someterlos a seguimiento anual (367).

En la serie estudiada el número de individuos identificados cumpliendo esta condición ha sido tan escaso como únicamente 2 pacientes (1,6% del total): una mutación *BRCA2* y una pancreatitis hereditaria (*PRSS1*). Además, se han identificado 8 pacientes (6,6% del total) con al menos 2 antecedentes familiares de primer grado de ACDP, cifras ligeramente inferiores a los porcentajes publicados (3-5% de riesgo genético y 5-10% de riesgo familiar (81)), aunque es posible que exista cierto sesgo de información en relación con la deficiente recogida de antecedentes familiares en la HCE.

Aunque moderadamente, en la actualidad los criterios tienden a expandirse. Con la experiencia que se va adquiriendo, se considera que un programa de cribado para ACDP resulta efectivo cuando se dirige a individuos con un moderado incremento del riesgo (estimado en al menos el 5%). La guía más reciente de la *American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE)* incluye ya a los portadores de mutaciones patogénicas germinales *BRCA2, BRCA1 o PALB2*, independientemente de su historia familiar de ACDP (101,368), cuando antes requería de la existencia de al menos un familiar de primer grado afecto.

Población de bajo riesgo, pero con condiciones predisponentes para el desarrollo del ACDP (excluido riesgo genético y NQP).

Lograr el diagnóstico precoz en este grupo poblacional es uno de los mayores retos actuales. Uno de los objetivos de esta tesis ha sido analizar la importancia de diferentes factores de riesgo conocidos y otras variables en el diagnóstico de esta enfermedad, y revisar su posible utilidad para facilitar su diagnóstico precoz, junto con diferentes biomarcadores tumorales y marcadores inflamatorios y nutricionales.

Dirigiendo la atención a los factores de riesgo

Tabaco y alcohol.

Múltiples estudios confirman que el hábito de fumar aumenta el riesgo de padecer ACDP entre 1,5-3 veces, y que este riesgo se incrementa con la intensidad y duración del hábito (26–28,30,369). Mientras que hay autores que defienden que los fumadores ocasionales de menos de 10 cigarrillos diarios no presentan mayor riesgo que la población general (30), hay otros que afirman que si se eliminara el hábito de fumar la incidencia de ACDP podría disminuir hasta en un 27% (370). La implicación del alcohol en el riesgo del ACDP es más inconsistente. Hay estudios que estiman que el consumo intenso de alcohol (a partir de 50 g/día) es un factor independiente de riesgo para ACDP (1.69, 95% IC: 1.21–2.37) (32), pero otros no encuentran esta asociación (34,371). También los datos sobre los diferentes tipos de alcohol son contradictorios (32).

En la serie a estudio el 41% de los pacientes eran fumadores o exfumadores, observándose en este grupo un diagnóstico a edad más temprana, con una mediana de 63 años, que presentó diferencias significativas frente a la mediana de edad al diagnóstico de los pacientes no fumadores de 75 años (p valor = 0,0091). Revisando la bibliografía puede comprobarse que esta observación se confirma en otras series (104,372). En concreto Rulyak et al (373), estudiando una población con riesgo familiar, encuentra que el tabaco incrementa el riesgo de ACDP (OR: 3.7), multiplicándose en varones y menores de 50 años (OR: 5.2 y OR: 7.6 respectivamente) y, que anticipa una década la edad de diagnóstico. Entre los fumadores de la serie estudiada, el sexo femenino sin embargo mostró una tendencia al diagnóstico a edad más joven (mediana de 56,3 años frente a 59,9 años en sexo masculino) pero sin encontrar diferencias significativas. No se detectaron diferencias según el hábito tabáquico en términos de supervivencia, probablemente debido a la elevada letalidad de este tumor, que hace muy difícil encontrar variaciones en supervivencia entre aquellos sometidos o no a un factor de riesgo. Tampoco se observaron diferencias en cuanto al diagnóstico en estadios reseccables o no, entre fumadores y no fumadores. No se pudo investigar la

importancia de la ingesta alcohólica de riesgo, dada la dificultad de obtener información fiable en la HCE de forma retrospectiva.

El mecanismo procarcinógeno del tabaco no es bien conocido, pero se cree que componentes como aminas heterocíclicas e hidrocarburos policíclicos aromáticos, pueden ser los causantes de la inflamación crónica y, como consecuencia de ésta, la subsiguiente mutación somática (374). Una vez abandonado el hábito, el riesgo persiste elevado (RR = 1.7) durante 10 años y solo se equipara al de los no fumadores transcurridos 15-20 años (26). Desgraciadamente, no se ha podido analizar esto en la cohorte, por falta de información concreta respecto al tiempo transcurrido desde el abandono del hábito en nuestros pacientes exfumadores. En el caso del alcohol, el mecanismo por el que podría contribuir a la génesis del tumor sería la inducción de una inflamación crónica del tejido pancreático, a través del propio alcohol o ciertos metabolitos como el acetaldehído, que han demostrado experimentalmente provocar inflamación y alteraciones en las *stem cells* y en los genes reparadores del DNA (374–376). Como el tabaco, parece favorecer el diagnóstico a una edad menor y por un mecanismo directo, sin que sea necesario que su consumo se asocie a la aparición previa de PC (377).

Un aspecto que ha despertado el interés de los investigadores es si el riesgo se multiplica cuando se asocian varios factores. Con respecto a la asociación entre tabaco y alcohol, un estudio caso-control realizado por el *Consortium (PanC4)* publicado en 2017, confirmó el mayor riesgo entre fumadores y altos consumidores de alcohol, sin encontrar una clara potenciación entre ambos (377). Sin embargo, otros investigadores confirman que la suma de tres factores resulta especialmente influyente en el diagnóstico a edad más temprana: el tabaquismo, la existencia de PC y antecedentes familiares (378–380).

En conclusión, tabaco y el alcohol deben considerarse factores de riesgo independientes, aunque posiblemente se potencien entre sí y en asociación con otros factores. El tabaco (y probablemente también el alcohol) podría intervenir en un periodo temprano de la enfermedad o acelerar el proceso de carcinogénesis sobre un organismo ya predispuesto genéticamente o sometido a otros factores de riesgo. El hallazgo en nuestra serie de un diagnóstico todavía más temprano en las mujeres fumadoras, aún sin alcanzar diferencias significativas, plantea la incógnita de una posible mayor sensibilidad del sexo femenino. A la luz de estos hallazgos, se podría especular que, si se plantease el cribado en pacientes fumadores debería iniciarse a una edad temprana (especialmente en mujeres), sobre todo si se asocia a consumo elevado de alcohol, antecedentes familiares o PC.

Existen publicaciones que defienden que el deterioro del peso y la masa muscular asociados al hábito tabáquico, así como la presencia de enfermedades broncopulmonares y cardiovasculares relacionadas, puede repercutir negativamente en el pronóstico del ACDP, limitando la tolerancia al tratamiento con quimioterápicos (381) y, en consecuencia, la supervivencia. Sin embargo, nuestro análisis no ha identificado diferencias significativas en la supervivencia de los pacientes en dependencia de su hábito tabáquico (fumador vs. exfumador + no fumador; $p = 0,634$; fumador + exfumador vs. no fumador; $p = 0,774$)

La parte positiva es que el consumo de tabaco parece estar declinando, al menos en los países desarrollados. En el sexo masculino se estima que el pico máximo se alcanzó en torno al año 1986 y desde entonces sufre un lento descenso. En el sexo femenino este pico se alcanzó más tarde, hacia 2014 (382). Estas variaciones en la epidemiología del hábito de fumar deberían traducirse en un descenso en su implicación en el desarrollo de tumores, incluido el ACDP, en las próximas décadas.

Pancreatitis aguda y crónica

Según Korpela et al, hasta un 6,6% de los pacientes con ACDP estaban previamente diagnosticados de PC, y el tabaquismo fue el principal factor asociado. A la inversa, estudios realizados sobre piezas quirúrgicas de ACDP, observaron que el 38.8% presentó histopatología compatible con PC (383). En la serie estudiada, el 12,3% de pacientes tenían antecedente diagnóstico de PC, el doble de lo descrito por Korpela et al, siendo diagnosticados a edad ligeramente más joven (64,9 años vs. 69,8 años en pacientes sin dicho antecedente), aunque sin diferencias significativas. En el 73,3% de los casos el tabaquismo fue un factor asociado, y solo 1 caso fue una pancreatitis crónica hereditaria.

La relación entre PC y ACDP es bien conocida por los clínicos, ya que un porcentaje significativo de pacientes con ACDP (aproximadamente un 5%), son erróneamente diagnosticados de PC, retrasando el adecuado diagnóstico y tratamiento (59). Contrariamente, en nuestro estudio, observamos un porcentaje

mayoritario de diagnóstico en estadios precoces (TNM I-II) en el pequeño grupo de pacientes con antecedente de PC (n = 15) que fue de 64,3%, frente al 40,7% en el grupo de pacientes sin antecedente de PC (ver figura 26), probablemente debido a la especial dedicación en el control de los pacientes con PC en nuestro medio. Sin embargo, el análisis estadístico no demostró diferencias significativas entre ambos grupos, ni para el diagnóstico precoz (p valor = 0.166), ni en estadio resecable (p valor= 0,349), muy probablemente debido al pequeño tamaño muestral.

Según un metaanálisis reciente, se calcula que los pacientes con PC presentan un incremento de riesgo para ACDP de 22,6 (57), aunque guías recientes establecen valores menores, de entre 5 y 10 veces (58). Estas diferencias pueden deberse a que el diagnóstico de ACDP es más frecuente cuanto más reciente es el diagnóstico de PC. En otro amplio metaanálisis de 13 estudios publicados, se ha encontrado un RR de 16,16 en los dos años siguientes al diagnóstico de PC, que desciende a 7,9 a los cinco años del diagnóstico, e incluso hasta 3,5 a los 9 años de seguimiento (59). Si esto significa que el tumor ya estaba presente cuando se diagnosticó la PC no puede asegurarse, pero bien podría ser su causa al provocar una obstrucción ductal. El riesgo de ACDP tampoco es el mismo para todas las etiologías de la PC, siendo mayor en la etiología hereditaria y menor en la alcohólica (60). El *International Pancreatitis Study Group* ha calculado, sin embargo, que el tiempo medio transcurrido entre el diagnóstico de PC y el de ACDP es de unos 20 años y, además, existe una correlación lineal que se incrementa con el paso de los años, desde 1,8% a los 10 años de evolución hasta el 4% después de 20 años (384). De igual modo, se desconoce cuanta de esta asociación entre PC y ACDP se debe a la interferencia provocada por el tabaquismo y el consumo de alcohol, ambos considerados factores de riesgo independientes para ACDP. Otro dato muy interesante es que hasta un 90% de los pacientes con PC presentan mutaciones en el oncogen *KRAS*, que también está presente en el ACDP, lo que sugiere la posibilidad de una fisiopatología común entre las dos enfermedades (59). En todo caso, a pesar de todas estas observaciones, en la práctica clínica habitual apenas un 5% de las PC desarrollarán ACDP (61).

En cuanto a la Pancreatitis Autoinmune (PAI), que puede afectar a otros órganos, y también es una causa de PC, no se ha demostrado que aumente el riesgo de ACDP, aunque los estudios disponibles de momento son de pequeño tamaño muestral (385,386).

La conclusión que se debe extraer de toda esta información es que es importante realizar un estricto proceso diagnóstico de todos los pacientes con PC para descartar con seguridad la existencia de un ACDP subyacente, especialmente en pacientes que asocian otros factores de riesgo, como el tabaco o el alcohol. En toda PC de larga evolución deberá valorarse establecer un algún tipo de seguimiento, aunque hasta la fecha no existe evidencia de que esto contribuya a una mejor supervivencia atribuible a un diagnóstico más precoz (387). Por ello, en el consenso internacional recientemente publicado por las asociaciones americana, japonesa y europea, este seguimiento no se recomienda en pacientes con PC esporádica, aunque sí en casos de pancreatitis hereditaria (58).

También la Pancreatitis Aguda (PA) se asocia con cierta frecuencia al ACDP, y si el diagnóstico es próximo en el tiempo, es posible que el propio tumor sea la causa del brote inflamatorio. Así ocurrió en 3 de nuestros pacientes (2,5% del total) que debutaron con una PA, siendo diagnosticados en el mismo ingreso de ACDP. Los trabajos publicados indican que el porcentaje de pacientes con ACDP y antecedente de PA oscila entre 1,4% y 5,9% (388,389). Lamentablemente el antecedente de episodios previos de PA no fue una de las variables recogidas en la serie estudiada. La asociación más fuerte se ha observado entre las PA idiopáticas que se presentan en pacientes entre la sexta y séptima décadas de la vida (390), entre los que es imperativo el despistaje de un ACDP oculto. Incluso se ha descrito que estos pacientes pueden presentar un estadio más favorable y un mejor pronóstico. De la descripción de los 3 casos identificados en la serie estudiada no pueden sin embargo extraerse todas estas conclusiones: los 3 eran tumores cefálicos de pacientes mayores de 50 años y sin otra etiología que justificase la PA, uno de ellos se diagnosticó en estadio localmente avanzado (IIB) y los otros dos en estadio metastásico (IV). Curiosamente, el primero presentó también un debut diabético.

En base a esta información, ¿debería considerarse la PA como un posible síntoma marcador de ACDP? En concordancia con esta teoría, cabría recordar que la PA también es una forma posible de presentación de los TPMI (WF), consideradas lesiones precursoras del ACDP. En una serie de 326 pacientes con TPMI intervenidos en el *Massachusetts General Hospital* se encontró que el 21% tenían antecedente de PA y presentaron un OR para ACDP de 1,97 (OR 1.97, 95% CI 1.07-3.63) (255). Otros autores, que revisan su casuística encuentran un 23,4% con antecedente de PA y una OR para DAG de 6.29. realizando también

un metaanálisis de cinco casos-control con un total de 930 pacientes, en el que encuentran una OR para HGD de 2.13 (391).

Por tanto, puede concluirse que es lícito afirmar que el padecimiento reciente de una PA, en especial si no se ha identificado un factor etiológico evidente, puede tener capacidad predictiva para ACDP y debe considerarse, también, como una manifestación clínica de alarma.

En el caso de antecedentes más remotos o de PA recurrentes, parece haber acuerdo en que el proceso fisiopatológico subyacente debería ser la inflamación mantenida, quizá en el seno de una PC no diagnosticada. El proceso inflamatorio y la infiltración neutrofílica, matizada por mecanismos de control de la inflamación o epigenéticos, que pueden controlar o estimular su efecto, condicionarían la progresión de metaplasia a displasia ductal y el subsiguiente desarrollo del ACDP (392).

Diabetes Mellitus.

Entre DM tipo 2 y ACDP existe una relación bidireccional (63). Se estima que en torno a un 30-50% de los pacientes con ACDP presentan DM (393) y, a su vez, la población diabética tiene un riesgo mayor de sufrir ACDP, estimado en unas 2-3 veces superior a la población general (394–398). Esta observación se confirma en nuestra serie, en la que se observaron un 36,9% de pacientes diabéticos, situándonos dentro del porcentaje descrito.

Lo más interesante es que la asociación es mayor cuando se trata de diabetes de reciente diagnóstico, por lo que el debut diabético podría ser considerado un marcador del desarrollo tumoral. Sin embargo, tal y como describen algunos estudios, en la práctica clínica, con cierta frecuencia el diagnóstico de diabetes actúa como factor distractor que alarga el intervalo diagnóstico del ACDP (106). En estos casos, la pérdida de peso descrita por el paciente o la presencia de otros síntomas inespecíficos son atribuidos al efecto de la dieta diabética o a efectos secundarios del tratamiento antidiabético, disminuyendo el índice de sospecha del médico.

El nuestra serie de pacientes con ACDP, el 12,3 % de los pacientes había sido diagnosticado de DM en los 6 meses previos, suponiendo el 33,3% del total de diabéticos. Con relación al estadio tumoral al diagnóstico, 33,3% de los diabéticos de debut se diagnosticaron en estadio TNM I frente a únicamente el 16.7% de los diabéticos veteranos (ver figura 24), pero estas diferencias no resultaron significativas (p valor = 0,2629). La tendencia observada fue similar entre los tumores resecables al diagnóstico (ver tabla 19), pero tampoco en este caso se encontró significancia estadística al comparar pacientes diabéticos y no diabéticos (p valor = 0,749) ni en la comparativa de los 3 grupos (diabéticos veteranos, diabéticos de debut y no diabéticos, p valor = 0,101). Por tanto, a pesar de la tendencia observada, no podemos asegurar que el debut diabético se asocie a un diagnóstico más temprano ni con más opciones de resecabilidad.

Es importante considerar que, en nuestro estudio, la diabetes de debut se definió como aquella diagnosticada en los 6 meses previos al diagnóstico del tumor. Sin embargo, otros autores amplían este periodo hasta 2-3 años, lo que podría aumentar considerablemente los porcentajes. Efectivamente, Lee HS et al. (393), en un estudio caso-control sobre una base poblacional de más de 88.000 pacientes diabéticos, encuentran un RR de 3,81 para los diabéticos de debut (hasta 3 años previos al diagnóstico tumoral) frente a 1,53 en los diabéticos de larga evolución y, lo que es muy significativo, con una ventajosa tasa de resección del ACDP entre los diabéticos recientes frente a los de larga evolución (8,09% vs 1,79%).

En un muy reciente estudio de casos y controles inglés realizado sobre 28.137 casos de ACDP y 261.219 controles apareados (399) han encontrado que la hemoglobina glicosilada (HbA1c) comienza a elevarse entre 2 y 3 años antes del diagnóstico del tumor, siendo más precoz en los diabéticos veteranos (33 meses) frente a los debutantes (21 meses). Enlazando esto con la teoría del desarrollo biológico del ACDP, según la cual pueden transcurrir hasta 15 años desde la aparición de los primeros cambios celulares hasta el debut sintomático, la diabetes aparecería como una de las últimas consecuencias del desarrollo tumoral. Las hipótesis etiopatogénicas para el desarrollo de la diabetes en los pacientes con ACDP son varias: bien a través de la destrucción de los acinos pancreáticos, bien por originar resistencia a la insulina (400) o bien por tratarse de una manifestación paraneoplásica secundaria a la liberación de algún metabolito producido por las células tumorales o los mediadores de inflamación inducidos en su entorno. Apoyando esta última teoría de una interferencia paraneoplásica, varios estudios encuentran que la resección del tumor cura o mejora el control diabético (394,401–403), a pesar de incrementar todavía más el déficit de acinos. También apoya esta teoría la evidencia experimental según la cual extractos del medio de cultivo

de líneas celulares cancerosas pancreáticas provocan intolerancia a la glucosa en animales de experimentación y alteran la secreción de insulina en los islotes (401,404–406).

Desde el punto de vista contrario, el posible mecanismo carcinogénico de la DM tipo 2 ha sido analizado en diferentes investigaciones. La hiperinsulinemia compensatoria a la resistencia a la insulina provocaría un aumento de la *insulin-like growth factor (IGF)*, que sería la responsable de estimular la carcinogénesis por su actividad angiogénica, mitogénica y antiapoptótica (407,408). En este sentido, Sascha Rahn et al. (409) han demostrado recientemente que la hiperglicemia promueve la transición epitelial-mesenquimal de las células epiteliales ductales pancreáticas. Otras líneas de investigación analizan la asociación de la DM tipo 2 a la obesidad y al síndrome metabólico, condiciones todas ellas asociadas a la existencia de un estado inflamatorio de fondo que podría inducir la transformación oncológica.

En nuestra serie se analizó la posible relación existente entre DM y obesidad en los pacientes diagnosticados de ACDP, y también entre DM y PC, por ser otra condición inflamatoria subyacente con posible efecto carcinógeno asociado. Los resultados obtenidos pueden ser interesantes, a pesar del pequeño tamaño muestral, que impide extraer conclusiones firmes. Entre los pacientes diabéticos de debut solo identificamos un 13% (2/15) de obesos, frente al 37% (10/27) en el caso de diabéticos veteranos, aunque la diferencia no alcanzó significancia estadística (p -valor = 0,158). Viendo estas observaciones podría aventurarse que la obesidad junto a la diabetes como factores sinérgicos favorecedores del ACDP, requerirían de un tiempo más prolongado de evolución durante el cual actuaría el contexto inflamatorio descrito. Sin embargo, en los diabéticos de debut, la diabetes parece consecuencia directa del proceso tumoral, mientras que la obesidad no supondría un factor tan relevante. En el caso de la PC, solo se observaron 5 pacientes que cumplieren ambas condiciones, por lo que no fue posible realizar ninguna deducción.

Se podría concluir que la DM de reciente diagnóstico puede considerarse una manifestación temprana del ACDP y probablemente un marcador precoz en pacientes asintomáticos. Teniendo en cuenta que se ha demostrado que la hiperglicemia precede en aproximadamente 2-3 años al diagnóstico del tumor, este tiempo ventana podría ser muy útil para su detección precoz (410). En concreto se debe extremar la sospecha entre los nuevos diabéticos de edad avanzada en los que el riesgo puede aumentar hasta 8 veces (411), en especial si no existe historia de diabetes familiar, no son obesos y sufren una evolución desfavorable en su control (65). De hecho, la actual guía del *National Institute for Health and Care Excellence (NICE)* del Reino Unido recomienda la realización sin demora de una prueba de imagen para los pacientes mayores de 60 años con debut DM tipo 2 y pérdida de peso (412).

En nuestra serie, el diagnóstico de diabetes, tanto previo como de debut, no presentó diferencias con los pacientes no diabéticos en términos de supervivencia (p = 0,92) tal y como se observa en la tabla 24 y en la figura 44, aunque ya hemos comentado que, ante un tumor con un índice tan elevado de letalidad, es difícil encontrar estas diferencias.

Obesidad, dieta, nutrición y microbiota.

El riesgo atribuido a personas obesas o con sobrepeso es de 1,34 veces el de la población general y se incrementa en un 20% por cada 5 unidades que aumenta el IMC (413), en tanto que una vida con actividad física activa y una ingesta reducida en calorías, lo reduce (414). En nuestra serie el 74,1% de los pacientes presentaron IMC superior o igual a 25 kg/m², de los cuales, el 42,6% presentaron sobrepeso (IMC \geq 25 kg/m² y < 30 kg/m²), el 31,5% obesidad (IMC \geq 30 kg/m²). Sólo el 25,9% de pacientes presentó normopeso (IMC < 25 kg/m²).

La obesidad y el sobrepeso no solo incrementan la incidencia del ACDP, sino que también penalizan su supervivencia. Efectivamente, en nuestra serie se comprueba una supervivencia más prolongada en los pacientes con normopeso respecto de los pacientes obesos y/o con sobrepeso, de forma estadísticamente significativa (p valor = 0.005).

Ya se ha comentado la conocida relación existente entre DM tipo 2 y obesidad. La obesidad predominantemente abdominal se asocia a resistencia a la insulina, que a su vez provoca hiperinsulinismo secundario incrementando los niveles de *insulin-like growth factor (IGF)*, que puede tener responsabilidad oncogénica (415). Del total de pacientes obesos de la serie (IMC \geq 30 kg/m²), el 35,3% (12/34) fueron

diabéticos, pero de ellos, solo 2 fueron diabéticos de debut. No se observó una relación significativa entre el IMC y la probabilidad de ser diagnosticado en estadio resecable (p valor = 0,093)

También se ha demostrado que la obesidad y la ausencia de ejercicio se asocian a la esteatosis pancreática y que el depósito de grasa intrapancreática se asocia a TPMI y ACDP (416,417).

Los hábitos dietéticos como factores predisponentes al desarrollo de ACDP (76)(ver tabla 5) no solo actuarían mediante la inducción de sobrepeso, sino que también podrían inducir cambios en la microbiota secundarios a dietas hipercalóricas ricas en grasas saturadas, carnes rojas o alimentos procesados. Lamentablemente, no disponemos de datos sobre los hábitos dietéticos de los pacientes de la serie analizada, una información que, como es bien sabido por los epidemiólogos, es extremadamente difícil de obtener con fiabilidad.

Esta hipotética disbiosis relacionada con la obesidad podría contribuir a la resistencia a la insulina, y contribuir al estado de inflamación que puede facilitar la carcinogénesis en diversos tumores (418). Una posible vía patogenética se basaría en el aumento en la producción de productos bacterianos genotóxicos, como especies reactivas de oxígeno, ácidos biliares secundarios y aminas biógenas que pueden dañar el DNA e iniciar la inestabilidad genómica y las mutaciones (419) que, a su vez, podrían conducir a la génesis del ACDP (420). Por el contrario, dietas ricas en frutas, vegetales, legumbres, frutos secos...etc, parecen tener una relación negativa con el riesgo de ACDP (421), atribuida a su contenido en antioxidantes y propiedades antiinflamatorias, aunque no todos los estudios comparten estos resultados (422).

En todo caso, por el momento, la evidencia sobre la posible influencia de la microbiota en el ACDP es muy limitada. Están en marcha estudios sobre población bacteriana característica del conducto de Wirsung, procedente del duodeno, y sobre los géneros y especies bacterianas intestinales que predominan en pacientes con ACDP (423,424), pero todavía no se dispone de información relevante.

Por otro lado, la literatura describe que la desnutrición de los pacientes con ACDP influye notablemente en su supervivencia, bien mediante mecanismos fisiopatológicos directos, o indirectamente, incrementando el riesgo de complicaciones postquirúrgicas o derivadas de los tratamientos quimioterápicos. En nuestra serie tratamos de realizar un análisis indirecto de la situación nutricional mediante el nivel en sangre de proteínas totales y albúmina. Observamos que ya desde el diagnóstico, el 64,7% de los pacientes analizados presentaban valores bajos de proteínas totales (< 6,4 g/dl) y el 70,1% presentaban valores bajos de albúmina (< 3,5 g/dl), sugiriendo una alta frecuencia de posibles déficits nutricionales, que se sitúan en línea con lo publicado (425). Lo esperable hubiera sido que estos valores se hubieran visto progresivamente disminuidos conforme progresaba el estadio tumoral. En nuestra serie, esto se observó de forma más uniforme con los niveles de proteínas totales que con los niveles de albúmina, sin que las diferencias alcanzaran ninguna significancia estadística, aunque en ambos casos, los niveles inferiores se observaron en los estadios metastásicos. Esta observación puede explicarse entendiendo que la albúmina, aun manteniendo una fuerte vinculación con el estado nutricional del paciente, puede verse afectada por muchos otros factores no nutricionales, como la enfermedad, la hospitalización o determinados tratamientos (426). Existen publicaciones según las cuales, niveles disminuidos de ambos parámetros parecen asociarse con una menor supervivencia, tanto en ACDP como en otros tumores (427,428). En nuestra serie sin embargo no se encontró esta asociación, sin objetivarse diferentes supervivencias entre pacientes con valores normales o disminuidos de ninguno de los 2 marcadores nutricionales.

En los últimos años ha crecido el interés investigador por cuantificar la implicación de la nutrición en la respuesta inmune y en la supervivencia de pacientes oncológicos, y se han desarrollado numerosos índices pronósticos que incluyen variables como la relación entre PCR y albúmina (429) y entre fibrinógeno y albúmina o prealbúmina o la relación del recuento de neutrófilos con linfocitos o de plaquetas con linfocitos (430). Este podría ser un objetivo futuro de nuestra investigación, para el que sería necesario ampliar en tamaño muestral y realizar un análisis nutricional más preciso.

Biomarcadores.

En la actualidad no se dispone de buenos biomarcadores, con sensibilidad y especificidad elevadas, que permitan diagnosticar el ACDP en estadios precoces. En la serie de pacientes estudiada se analizó la

precisión que mostraron algunos parámetros analíticos comunes, y especialmente los marcadores tumorales, para conducir a un diagnóstico precoz, comparando estos resultados con datos extraídos de la literatura.

Ca 19.9.

El marcador tumoral Ca 19.9 es el más utilizado en ACDP, a pesar de que algunas guías como la de la *American Society of Clinical Oncology* desaconsejan su uso como test de cribado por su escasa sensibilidad para detectar pacientes asintomáticos (117). En un estudio publicado por Kim et al (431) su VPP para detectar el tumor fue de solo 0.9% en personas asintomáticas y, en un amplio estudio poblacional en el que se asoció con ecografía, no se logró demostrar su eficacia (432).

En nuestra serie a estudio, el 90,5% de los pacientes presentó niveles elevados (> 37 U/mL), siendo su mediana de 523,4 U/mL. Al analizar su valor en los distintos estadios TNM y de resecabilidad observamos un nivel ascendente paralelo al avance del estadio tumoral, alcanzando significación estadística en los estadios más avanzados (p valor < 0.001) (ver figura 34). Estos resultados confirman su utilidad como marcador pronóstico, útil para la toma de decisiones terapéuticas, pero descartan su utilidad para el diagnóstico precoz del tumor. Al analizar su valor según la localización tumoral, se observó una tendencia a valores inferiores en tumores cefálicos, aunque la diferencia de sus medianas no alcanzó significación estadística (p valor = 0,085). Tradicionalmente se considera que su valor puede elevarse en caso de colestasis obstructiva, tal y como muestran diferentes publicaciones (433). Sin embargo, en nuestra serie no encontramos una clara correlación entre sus valores y los valores de bilirrubina total, ni en su análisis global, ni en su distribución por estadios tumorales, como puede verse en la gráfica de dispersión de puntos de la figura 35. Esta aparente contradicción probablemente indica que la elevación del Ca 19.9 está estrechamente relacionada con la progresión tumoral, más que con la colestasis y, en la muestra estudiada, refleja el estadio más precoz de los tumores localizados en cabeza. Por tanto, en cualquier paciente con ictericia obstructiva a estudio, elevaciones relevantes de este marcador deben aumentar el índice de sospecha de un posible ACDP subyacente, incluso cuando se identifique patología benigna que pudiera justificar la ictericia (como por ejemplo la PC).

Su validez para reflejar la progresión tumoral parece confirmarse en diferentes publicaciones (119), que avalan su uso para indicar tratamiento neoadyuvante y valorar la respuesta tumoral a la quimioterapia, antes de intervenir a un paciente con criterios límite de resecabilidad (*borderline*-resecable), así como para monitorizar la recurrencia del tumor tras la cirugía (434–436). En esta misma línea, Emiah et al. (437) en un artículo reciente, encuentran que con un punto de corte de 400 U/mL se podría inferir directamente la existencia de metástasis. No obstante, también pueden encontrarse observaciones discrepantes, como se ha comentado en la introducción, de autores que indican elevaciones muy precoces de este marcador (174).

También es importante recordar que en un 5-10% de la población con grupo sanguíneo Lewis-negativo el Ca 19.9 no se elevará, siendo una de las causas más habituales de falsos negativos (112). Curiosamente, un estudio muy amplio realizado a partir de la *National Cancer Database* inglesa demostró que los ACDP que no lo expresan presentan mayor riesgo de metástasis al diagnóstico, y concretamente los ACDP resecaos presentan menor supervivencia (438). Por lo tanto, es necesario extremar el estudio de extensión a la búsqueda de metástasis en esta población. En nuestra serie, solamente 2 pacientes (1,8% del total) presentaron niveles de Ca 19.9 \leq 2 U/mL, siendo compatibles con grupo sanguíneo Lewis-negativo, aunque de ellos, solo 1 presentó metástasis al diagnóstico, por lo que no podemos extraer conclusiones relevantes. En estos casos Ca 19.9 negativos, su precursor, el antígeno *DUPAN-2* ha mostrado utilidad pronóstica, y correlación con estadio tumoral más avanzado y menor probabilidad de resecabilidad (113,114). Lamentablemente, este marcador no está de momento disponible en la práctica clínica.

CEA

El otro marcador usualmente utilizado es el CEA, a pesar de que, como ya se ha comentado, no es específico de este tumor, su sensibilidad y especificidad son bajas, y también puede elevarse en procesos no neoplásicos como el consumo de tabaco, la cirrosis hepática (122,123) e incluso la PC (126).

En nuestra serie el 69,6% de los pacientes presentó un valor elevado de CEA (> 3ng/mL), siendo la mediana de su valor 4,9 ng/mL. Al analizar su comportamiento en los distintos estadios TNM y de resecabilidad, no se observó una clara relación ascendente entre sus niveles y la progresión de los estadios, aunque los valores más elevados si se correspondieron con pacientes en estadios avanzados, como queda reflejado en la figura 34, alcanzando en ellos significación estadística (p-valor = 0,01 entre estadio TNM III y TNM IV; p-valor = 0,043 entre tumor localmente avanzado y metastásico).

La interpretación de estos resultados indica que el CEA debe considerarse un marcador relevante en estadios tumorales avanzados y probablemente también tiene utilidad como predictor de supervivencia. En la serie a estudio observamos una mediana de supervivencia inferior en los pacientes con CEA > 20 ng/mL (5,00 meses), frente a los pacientes con CEA < 20 ng/mL (10,00 meses). Estableciendo el punto de corte en 50 ng/mL, también observamos estas diferencias (5,5 meses si CEA > 50 ng/mL frente a 10 meses si CEA < 50 ng/mL), pero estas diferencias no resultaron significativas (p valor = 0,140 y p valor = 0,55, respectivamente), probablemente en relación con el insuficiente tamaño muestral.

Estos resultados concuerdan con los descritos por otros investigadores que han analizado la utilidad de este marcador como indicador de ACDP avanzado al diagnóstico (127) y de resecabilidad tras tratamiento neoadyuvante (128). Otros autores también especulan sobre su utilidad como predictor de malignización en TPMI (129).

En conclusión, el CEA se puede considerar un complemento del Ca 19.9 como marcador pronóstico, de modo que su elevación en el momento del diagnóstico nos debe indicar que la enfermedad probablemente esta ya localmente avanzada, en una situación de no resecabilidad o incluso metastásica, y sus valores más elevados pueden predecir menores supervivencias.

Marcadores de inflamación.

En la búsqueda de indicadores precoces para el diagnóstico del ACDP también se ha investigado en esta tesis la capacidad de discriminación de marcadores inflamatorios. En general, su elevación es considerada secundaria al contexto inflamatorio que acompaña al proceso oncológico y, por tanto, es inespecífica. Entre ellos, el más importante es la Proteína C Reactiva (PCR).

PCR

En la serie estudiada se ha revisado su utilidad, observando que en el 80,3% de los casos su valor se encontraba elevado al diagnóstico (> 0,5mg/dL). La mediana de su valor en el grupo fue de 1,28 mg/dL y la media de 3,79 mg/dL, por lo que no se constató, en cualquier caso, una elevación importante. Al revisar sus niveles según los estadios TNM y de resecabilidad, se apreció una tendencia ascendente paralela a la progresión tumoral, pero sin diferencias significativas entre las medianas de su valor entre los diferentes estadios (TNM I+II vs TNM III+IV: p valor = 0,091; resecable vs resto: p valor =0,105).

Estos resultados indican que la mayor utilidad de la PCR sería la de complementar al Ca 19.9 y al CEA como marcador inespecífico del contexto inflamatorio que acompaña a la enfermedad tumoral avanzada siempre y cuando se mantenga en niveles bajo-moderados (mediana de 1,28 mg/dL en la serie de ACDP), sin otra relevancia. Niveles altos de PCR deberían inducir la sospecha de proceso infeccioso-inflamatorio asociado al proceso tumoral como, por ejemplo, una colangitis aguda por obstrucción biliar tumoral. Esta opinión es compartida por otros investigadores que también observan cierta correlación con la progresión de la enfermedad, pero sin demostrar capacidad para el diagnóstico temprano (439,440), sugiriendo la necesidad de estudiar otros marcadores de inflamación que puedan resultar más específicos del microambiente inflamatorio asociado al ACDP. Algunos otros menos habituales como la interleukina-6 o el fibrinógeno, han sido también analizados en la literatura, pero las conclusiones han sido equivalentes: pueden ser indicadores inespecíficos de proceso avanzado, pero sin utilidad para el cribado (430,439).

Por tanto, y como conclusión con relación a los biomarcadores analizados en este estudio, podemos resumir en general que carecen de valor para el diagnóstico temprano del ACDP. Como consecuencia, es importante recordar que deben manejarse con cierta cautela evitando su uso indiscriminado, porque los falsos positivos pueden crear graves situaciones de alarma en los pacientes, así como la necesidad de

realizar un gran número de exploraciones de seguimiento innecesarias, que pueden provocar un gran gasto sanitario y, lo que es más grave, entorpecer y demorar el diagnóstico de los verdaderos enfermos. Por ello, como ya se ha comentado, las guías científicas siguen desaconsejando el cribado poblacional de riesgo bajo y recomiendan centrarse en las poblaciones de alto riesgo. Sin embargo, los esfuerzos de cribado dirigidos a la población de alto riesgo, con ser efectivos, a día de hoy no son suficientes para mejorar la supervivencia de este tumor, como se ha visto en los últimos años.

b. ¿Es posible mejorar el diagnóstico clínico de pacientes con sintomatología inespecífica?

La sintomatología que acompaña al ACDP, especialmente en estadios precoces, es de carácter leve o muy inespecífica, e indudablemente, esto redundará en un retraso diagnóstico y, por tanto, terapéutico. Diferentes estudios demuestran que los primeros síntomas aparecen tardíamente, cuando el tumor ha alcanzado ya unos 3 cm de diámetro, con un tiempo medio de duplicación de unos 5 meses (441–443). Esto explica que la mayoría de tumores sean irresecables e incluso metastásicos al diagnóstico, como se confirma en la serie estudiada y en la práctica clínica. El estudio *SYMPTON* (106) encontró que los síntomas más comunes durante los meses previos al diagnóstico fueron anorexia, molestias postprandiales, distensión abdominal, náuseas, pirosis, dolor abdominal o de espalda o cambios en el ritmo deposicional. Todos ellos son síntomas inespecíficos, frecuentes en otras entidades patológicas digestivas, con frecuencia de pronóstico benigno, que dificultan establecer una sospecha clínica firme.

En esta investigación se ha intentado no obstante analizar el papel de determinados síntomas para conducir a la sospecha diagnóstica en un estadio tumoral precoz. Los síntomas más frecuentemente observados en nuestra serie han sido la ictericia (59%), el dolor abdominal o dorsal (56,6%) y la pérdida de peso (55,7%), seguidos por síntomas mucho menos frecuentes como la diarrea (11,5%) (traduciendo probablemente una IPE ya establecida), el prurito (10,7%) y otros mucho menos prevalentes como la HDA (3,3%). Como era de esperar, la ictericia fue especialmente frecuente en tumores cefálicos (77,8%), y mucho menos (6,5%) en tumores de cuerpo-cola. Además, la elevación cuantitativa de la bilirrubina observada fue también mayor en tumores de cabeza, encontrándose diferencias significativas entre los valores de sus medianas para cada localización, tanto de forma global ($p < 0,001$), como comparando por estadios TNM ($p < 0,01$), y se mantuvieron cuando se compararon entre ACDP considerados resecables al diagnóstico frente al resto (p valor = 0,048) (ver figura 32). Llamó nuestra atención la escasa correlación con el prurito, sólo presente al diagnóstico en el 10,7% de los casos. En localización distal la ictericia apenas tuvo relevancia, predominando el dolor (abdominal y/o dorsal) (80,6%) y la pérdida de peso (64,5%), sintomatología que también estuvo presente en los tumores de cabeza, pero con menor representación (47,8% y 53,3% respectivamente). Los resultados observados coinciden con un estudio poblacional realizado sobre una cohorte de más de 15 millones de controles y 23.640 casos de ACDP, realizado en Reino Unido (444) que encontró, entre los pacientes con ACDP, que la ictericia obtuvo el mayor RR, pudiendo servir como marcador precoz, pero con la limitación de aparecer también en estadios avanzados, y su escasa frecuencia en tumores distales. El resto de sintomatología fue tan inespecífica como la recogida en el estudio *SYMPTON*, aunque resultó llamativa la incorporación de la sed, que podría estar relacionada con la existencia de DM tipo 2.

En nuestra serie, la pérdida de peso no deseada ha sido un síntoma presente en localización cefálica (53,3%) pero algo más frecuente en localización córporeo-caudal (64,5%), poniendo en valor su peso a la hora de establecer una sospecha diagnóstica. Este síntoma es relativamente infrecuente en las consultas médicas de atención primaria, y debe poner siempre en alerta al facultativo. En una cohorte retrospectiva de casi 64.000 pacientes, se encontró entre los que la presentaron una incidencia de cáncer del 2,2% en un periodo máximo de 2 años, suponiendo el ACDP más de un 5% del total (445). La pérdida ponderal se considera un síntoma de aparición tardío, que traduce un tumor en estadio avanzado. En la serie estudiada esto se ha confirmado, siendo este síntoma referido por un 55,9% de pacientes en estadio IV metastásico, frente a un 16,2% de pacientes en estadio TNM I, un 14,7% de pacientes en estadio TNM II y un 13,2% de pacientes en estadio TNM III. Sin embargo, existe la posibilidad de que ACDP cefálicos condicionen la aparición precoz de IPE (diarrea y pérdida de peso) por obstrucción ductal, y por tanto no tan relacionada con la progresión tumoral. En este sentido, en la

serie estudiada se observó que la pérdida de peso presentó frecuencias similares entre tumores de cabeza y de cuerpo-cola (53,5% y 64,5% respectivamente), sin embargo, se encontraron mayores diferencias en la frecuencia de la diarrea en tumores cefálicos (14,4% en cabeza vs. 3,2% en cola). En cualquier caso, la pérdida de peso es un síntoma muy frecuente en el ACDP y diferentes autores indican que su valor predictivo solo es superado por la ictericia (446–448). En la ya citada cohorte inglesa de Tan et al (399) se revisaron los valores de IMC 12 meses antes del diagnóstico de ACDP observando que presenta una curva de OR en forma de “U” (ver figura 66): la OR es tan alta como 6,5 en IMC inferiores a 20 kg/m², pasando a valores normales con IMC entre 20-30 kg/m², para volver a crecer de 1,5 hasta 4 cuando el IMC vuelve a incrementarse a partir 30 kg/m².

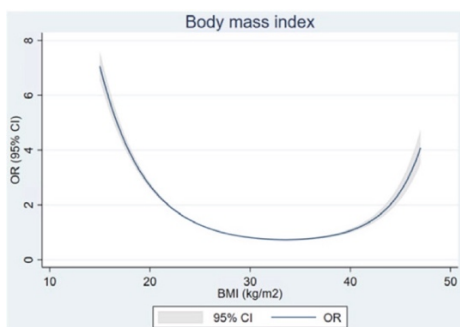


Figura 66. OR de padecer ACDP en función de IMC. Tomado de Tan et al (399).

Otros estudios que analizan la potencia diagnóstica de la sintomatología encuentran que la mayor rentabilidad se obtiene cuando se combinan con distintos factores como el hábito tabáquico, el alcohol, la DM2 y tromboembolismo (444). Similares resultados se han obtenido tratando de encontrar algoritmos matemáticos predictivos (449).

En nuestra investigación se trató de analizar la posible correlación entre los síntomas más comunes descritos por el paciente con ACDP (ictericia, dolor y pérdida de peso), y el estadio TNM tumoral en el momento del diagnóstico. La frecuencia de estos síntomas según los diferentes estadios tumorales en la serie a estudio se representa en la tabla 20. En resumen, los 3 síntomas son muy prevalentes en los estadios más avanzados, con la excepción de la ictericia, que también está presente hasta en el 33,3 % de los tumores TNM I (hasta el 52,7% si consideramos TNM I - II), siendo en esta fase precoz de la enfermedad el síntoma predominante, confirmando su valor como síntoma indicador más precoz. Como hemos comentado previamente, los niveles de bilirrubina fueron siempre más elevados en tumores de cabeza de forma significativa, tanto globalmente como por estadios, y en tumores resecables. Por tanto, debemos finalmente concluir que la elevación de los niveles de bilirrubina puede tener valor como marcador tumoral precoz, pero especialmente en tumores cefálicos.

Una observación curiosa en nuestra serie es el debut de 4 de nuestros pacientes en forma de HDA, que se confirmó mediante gastroscopia como secundaria a la infiltración tumoral de la mucosa gastroduodenal. En el 75% de estos casos el ACDP se localiza en cabeza pancreática. Esta forma de presentación no se asocia con frecuencia al ACDP, aunque en un muy amplio estudio caso-control anidado de Liao et al (444), realizado sobre 23.640 casos de ACDP, la ictericia y la HDA se consideraron síntomas de alarma acaecidos en los 3 meses previos al diagnóstico. Lamentablemente, carece de utilidad como indicador precoz dado que aparece en un momento evolutivo tardío de la enfermedad, como observamos en nuestra serie, en la que 3 de los 4 pacientes se encontraban ya en estadio metastásico.

c. ¿Cuáles son los resultados y conclusiones del tratamiento quirúrgico en nuestra serie?

Del total de pacientes de la serie, el 30,3% fueron candidatos a cirugía curativa en el momento del diagnóstico. Este porcentaje es elevado en comparación con otras series publicadas, en las que esta cifra alcanza como máximo al 20% de los pacientes (17). Es probable que esta observación sea consecuencia del momento en el que se inició el reclutamiento (año 2014). En estos últimos años, se han producido 2 circunstancias fundamentales que probablemente han optimizado la selección de los pacientes con ACDP candidatos a cirugía. Estas circunstancias son, en primer lugar, la implementación en la práctica clínica de

los criterios de reseccabilidad (frente al estadio TNM) a la hora de tomar decisiones terapéuticas y, en segundo lugar, la normalización de los comités tumorales en nuestros hospitales, que garantizan decisiones multidisciplinares apoyadas por todos los especialistas implicados en el manejo de esta enfermedad (especialmente cirujanos y oncólogos médicos).

Con relación a la tasa de resección R0, en nuestra cohorte fue del 45,9%. En los últimos años ha existido mucha variabilidad en los porcentajes de cirugía R0 reportados por otras series quirúrgicas, con tasas descritas desde el 15% al 90% (450). En un reciente estudio de cohortes retrospectivo a escala nacional publicado por el potente grupo holandés (451), se describe un porcentaje de cirugías R0 en ACDP del 49%, observándose un descenso en la tasa de estas resecciones con el paso de los años (del 68% en 2009 al 43% en 2019), que atribuyen a la mayor precisión y exigencia actual de los informes anatomopatológicos. La tasa de resección R0 observada en nuestra serie es por tanto similar a los resultados descritos. Un dato también confirmado en este amplio estudio holandés es la asociación independiente de la cirugía R0 con una mayor probabilidad de supervivencia. En la serie a estudio se observa una tendencia a una mayor supervivencia entre los pacientes con resecciones R0 (mediana de 24 meses, frente a la mediana de 13 meses de los pacientes con resección R1), que no alcanzó significación estadística (p -valor = 0,15). Además, entre los pacientes con resección R0 se encontraron 3 de los 5 supervivientes considerados libres de enfermedad.

Con relación a las complicaciones postquirúrgicas, la mortalidad de nuestra serie fue del 8% y la morbilidad del 73%. El 30% de los pacientes intervenidos con intención curativa presentó complicaciones menores (Clavien-Dindo I-II), y el 43% presentó complicaciones mayores (Clavien-Dindo III-V). La cifra de mortalidad es elevada con relación a la que se considera aceptable en la actualidad para cirugía pancreática en centros terciarios de gran volumen (en torno a un 5% (158)). Sin embargo, hay que tener en cuenta en la interpretación de este dato que probablemente el porcentaje se encuentre penalizado por la existencia de casos reclutados desde el año 2014, y también porque se considera únicamente cirugía de pacientes oncológicos. En relación con la morbilidad, nos situamos en el extremo superior de la horquilla reflejada por otras series, entre el 24-70% (160). Con respecto al tipo de complicación, la hemorragia y la fístula biliar fueron algo más frecuentes frente a lo descrito en otras series (19% y 8% respectivamente), mientras que los abscesos y colecciones intraabdominales y la fístula pancreática presentaron frecuencias similares a las descritas (21% y 10% respectivamente).

Respecto a la controversia en torno al drenaje biliar prequirúrgico, en nuestro análisis se observó curiosamente una tendencia a un mayor número de complicaciones postquirúrgicas (mayores y menores) entre los pacientes intervenidos con bilirrubina inferior a 15 mg/dL, sin significancia estadística, dado el pequeño tamaño muestral. No se observaron diferencias en términos de supervivencia entre ambos grupos (p valor = 0,772) (ver figura 45). La evidencia más actual se inclina por no recomendarlo de forma rutinaria, dada la probabilidad de complicaciones asociadas al drenaje (como la colangitis o la pancreatitis post-CPRE), que pudieran retrasar la cirugía, e incluso dificultar la resección por la inflamación en torno a la prótesis biliar. No obstante, tampoco hemos constatado en nuestra serie la interferencia de eventuales complicaciones, ni un retraso importante en la fecha de intervención. Por tanto, según nuestros resultados, y en línea con las recomendaciones de las GPC actuales, nos inclinaremos a recomendar el drenaje biliar únicamente en aquellos pacientes en los que la obstrucción biliar condicione sintomatología intratable y/o no sea posible programar una cirugía precoz, sin que el nivel de bilirrubina sea especialmente determinante en esta decisión, y obviamente, siempre que exista indicación de QT neoadyuvante (149,150).

Como conclusión de este apartado podemos afirmar que la incorporación de los comités multidisciplinares de patología pancreática en nuestros hospitales contribuye a mejorar la decisión terapéutica de los pacientes, en especial para la indicación de cirugía con intención curativa, y que debemos seguir vigilantes en cuanto a la morbimortalidad quirúrgica, que, a buen seguro, debe seguir una evolución favorable en los próximos años.

d. Aportación de los modelos iTLB

Ante la ausencia de herramientas y biomarcadores eficaces para el diagnóstico precoz del ACDP, en esta tesis se ha propuesto la utilización de la tecnología de la CDB unida a la inteligencia artificial para

identificar, a partir de muestras de suero, a los pacientes con ACDP. Un segundo objetivo ha sido también tratar de identificar entre los individuos con ACDP, a aquellos en estadios más precoces, con mayor probabilidad de recibir un tratamiento curativo.

Modelo iTLBcp 1.

Para el primer objetivo, se realizó el análisis calorimétrico del suero de una población de 115 controles sanos y 117 pacientes caso con ACDP, ambas series homogéneas en cuanto a edad y sexo.

El primer hallazgo relevante fue observar que la morfología de los termogramas normalizados por el área de cada grupo (sanos y ACDP) eran sensiblemente diferentes, como puede verse en la figura 47, poniendo de manifiesto las diferencias en el contenido proteico y de macromoléculas de los sueros y su diferente comportamiento al aplicarles calor. Partiendo de estos datos, utilizando la metodología de aprendizaje automático descrita y validada por el grupo de investigación, se obtuvo el modelo de clasificación iTLBcp 1 que mostró una sensibilidad del 94,4%, una especificidad del 100%, un VPP de 100%, un VPN de 94,44%, y una precisión (*accuracy*) diagnóstica del 97,14%, para identificar pacientes sanos y afectados por ACDP.

Para dar consistencia a nuestro modelo y, a fin de descartar que la selección de los pacientes se vea influida o mediatizada por otras variables asociadas, pero no directamente dependientes del tumor, se contrastó la predicción en función de distintas variables como la localización tumoral, el estadio TNM, la clasificación de resecabilidad, el IMC, el ICC ajustado por edad, el antecedente de PC o el antecedente de DM (ver tabla 29). De igual modo procedimos a contrastar el resultado del modelo iTLBcp 1 con los valores de biomarcadores como Ca 19.9, CEA, PCR, bilirrubina, proteínas totales o albúmina (ver figura 53). De todos estos análisis, los únicos que mostraron significación estadística fueron el IMC y el valor de la bilirrubina. La existencia de sobrepeso u obesidad, o un valor más elevado de bilirrubina, se asoció significativamente a un valor ofrecido por el modelo predictivo más elevado.

En nuestra opinión, resulta muy interesante que sean precisamente el IMC y el valor de bilirrubina, los que muestren una relación estadísticamente significativa con la obtención de un índice de iTLBcp 1 más elevado. Consideramos que esta circunstancia debe ser consecuencia, indudablemente, de las características del suero de estos pacientes. Esto parece muy claro en el caso de la bilirrubina, pero resulta más especulativo en el caso de los pacientes con IMC elevado.

La bilirrubina es una molécula poco hidrosoluble que, en el torrente sanguíneo, se une fuertemente a la albúmina (bilirrubina no conjugada) para ser transportada al hígado donde se transforma en su forma conjugada, ya hidrosoluble. Su unión a la albúmina en su versión no conjugada, y su presencia libre en su forma conjugada, puede ser un factor de interferencia en el resultado del termograma. Este problema ha sido estudiado previamente en el grupo de investigación, por la Dra. Hermoso Durán (347). En dicha investigación, se prepararon muestras de suero de controles sanos con diferentes concentraciones crecientes de bilirrubina y, tras su análisis calorimétrico, se procedió a comparar los termogramas obtenidos para cada alícuota, y estos, a su vez, se compararon con sueros de pacientes cuya concentración de bilirrubina era similar a la concentración de la alícuota. El estudio demostró que hasta la concentración de 10 mg/dL de bilirrubina los termogramas de pacientes con ACDP y de las alícuotas de similar concentración eran claramente diferentes, pero a partir de la concentración de 15 mg/dL los termogramas comenzaron a mimetizarse, siendo prácticamente iguales a concentración de 25 mg/dL. Es decir, las concentraciones bajas de bilirrubina no deberían dificultar la identificación correcta de pacientes con ACDP, mientras que a partir de los 15 mg/dL o superior, puede ser imposible su discriminación de los pacientes que pudieran presentar una elevación de bilirrubina por una causa benigna. La importancia de esta circunstancia es relevante a la hora de aplicar la calorimetría a la práctica clínica, bien es cierto que, normalmente, los niveles de bilirrubina más elevados suelen observarse en obstrucciones biliares malignas. Afortunadamente, en estos casos también contamos con la información obtenida de las distintas pruebas de imagen y endoscópicas (TAC, RM y USE) que muy probablemente conducirían al diagnóstico correcto. Ante un paciente con ictericia importante manifiesta, el clínico debe realizar un estudio etiológico exhaustivo y la aplicación de modelo iTLBcp1 debería considerarse con la cautela indicada.

En el caso de la interferencia del resultado del modelo en la población con sobrepeso u obesidad, la explicación resulta más compleja, y deberá investigarse entre ciertos contenidos del suero de estos pacientes que puedan modificar el termograma. Es importante recordar en este punto que la obesidad es una enfermedad compleja y multifactorial, que condiciona un estado proinflamatorio permanente en el organismo que la padece (39), y que el IMC es una medida simple incapaz de reflejar toda la complejidad fisiopatológica de esta enfermedad. Diferentes estudios, como el llevado a cabo por Ozcariz et al (452), profundizan en esta diversidad, encontrando tres *clusters* de pacientes con diferentes perfiles metabólicos. Entre los posibles candidatos a distractores se pueden incluir la concentración de quilomicrones y distintos lípidos sanguíneos, concentraciones de proteínas y albúmina, así como posibles moléculas proinflamatorias, osmolaridad del suero, etc. que requerirán de un estudio profundo y que se ha propuesto como objetivo de investigación futura en el grupo de investigación.

El modelo también parece tener cierta utilidad en cuanto a predicción de supervivencia. Como hemos descrito en los resultados y puede verse en la figura 54, los pacientes con un valor predictivo de -1,14 han presentado una significativa mayor supervivencia, y curiosamente este valor coincide con el adjudicado por el modelo a los controles sanos.

A pesar de las cautelas expuestas y subsidiarias de mayor investigación, la conclusión es que los resultados obtenidos con el modelo iTLBcp1 resultan altamente prometedores, sin olvidar que deberían confirmarse en una validación con una población externa, que también forma parte de los objetivos futuros del grupo de investigación.

Modelos iTLBcp 2, iTLBcp 3 y iTLBcp 4.

Por el contrario, con relación al segundo objetivo, los resultados obtenidos con los modelos diseñados para tratar de discriminar dentro del grupo de pacientes con ACDP a aquellos con estadio evolutivo más precoz y, por tanto, candidatos a tratamiento curativo, han demostrado resultados limitados que abren oportunidades que sugieren áreas para desarrollo y optimización.

Como se ha expuesto en el apartado de resultados, los modelos iTLBcp 2, iTLBcp 3 y iTLBcp 4, son capaces de identificar correctamente a los pacientes objetivo (resecables para iTLBcp2, resecables + *borderline* para iTLBcp 3 y metastásicos para iTLBcp 4), aunque presentan una especificidad muy baja (entre 34,8% y 61,9%), con un valor predictivo positivo bajo (VPP), limitando su utilidad práctica en la clasificación precisa de pacientes. Estos resultados sugieren que las características calorimétricas del suero en pacientes con ACDP no varían significativamente a lo largo de la progresión de la enfermedad, lo que dificulta que la TLB los clasifique según sus estadios evolutivos (TNM, resecabilidad). En nuevos estudios que comenzará el grupo de investigación en breve, se explorará la identificación de proteínas específicas en los grupos de pacientes clasificados por iTLBcp2, iTLBcp3 e iTLBcp4, mediante técnicas proteómicas avanzadas. Estos análisis tienen como objetivo descubrir marcadores biológicos que permitan una mejor caracterización de los pacientes según sus estadios evolutivos.

Esta aproximación está basada en las evidencias encontradas en un estudio previo del grupo sobre CCR, actualmente pendiente de publicación. En él se observó que incorporar la información proporcionada por iTLB al análisis bioinformático asociado a datos proteómicos, permitió enfocar de manera innovadora la identificación de biomarcadores relacionados con el pronóstico y la supervivencia de los pacientes. Este enfoque combinado ofrece una prometedora línea de investigación para mejorar la utilidad de la TLB en la clasificación y manejo de pacientes con ACDP.

En conclusión, el análisis calorimétrico resulta especialmente eficaz para discriminar entre individuos sanos y pacientes con ACDP. Esta capacidad, de confirmarse en una serie más amplia, puede tener una gran utilidad en el cribado de la población de “riesgo moderado” descrita en el apartado de introducción, para la que actualmente no existen programas de *screening* definidos. Además de eficaz, la TLB tiene la ventaja de ser de una prueba sencilla, poco invasiva y de bajo coste, características fundamentales en las herramientas diagnósticas de cribado.

e. ¿Es posible diseñar una estrategia de cribado en población de riesgo moderado?

Si bien el cribado poblacional general no reúne condiciones adecuadas de coste-beneficio, dada la elevada letalidad de esta enfermedad y las escasas opciones de tratamiento curativo, se debe seguir investigando en la optimización de las herramientas ya disponibles o bien, en la obtención de nuevas herramientas que permitan dirigir mejor el esfuerzo a la hora de diagnosticar esta enfermedad. La incidencia de ACDP es de unos 13 casos por 100.000 habitantes, pero alcanza la tasa de 68 casos por 100.000 habitantes después de los 55 años, y todavía se incrementa más a partir de los 65 años (389).

De los resultados obtenidos en la serie de pacientes analizados, y de la revisión bibliográfica realizada, se puede concluir que existen una serie de circunstancias que, o bien pueden servir de indicadores precoces de que existe un proceso de carcinogénesis pancreático, o bien pueden alertar de que ese individuo presenta un riesgo más elevado de padecerlo (sin incluir aquí a los síndromes genéticos o individuos con riesgo familiar).

Repasando lo expuesto, este trabajo de investigación propone centrar la atención en pacientes con los siguientes criterios de riesgo, que se dividen en 3 grupos de menor a mayor relevancia:

- **Criterios menores:** fumadores de al menos de una cajetilla diaria, bebedor de alcohol intenso (> 50 g/día), IMC superior a 30 kg/m².
- **Criterios intermedios:** diagnóstico de PC o PA idiopática en mayor de 60 años, descompensación injustificada de una diabetes previa, dolor abdominal en epigastrio o dorsal de características pancreáticas
- **Criterios mayores:** ictericia, DM de debut a partir de los 50 años (especialmente en pacientes con normopeso), o pérdida de peso no deseada superior a un 5%.

Y en función de estos criterios, se propone el siguiente protocolo de actuación, dirigido al diagnóstico precoz del ACDP:

- **Pacientes con dos o más criterios menores:**
 - Historia clínica detallada dirigida a buscar síntomas sospechosos
 - Aplicación del modelo iTLBcp 1.
 - y quizá una exploración de imagen a partir de los 60 años.
- **Pacientes con un criterio intermedio:**
 - Aplicación del modelo iTLBcp 1.
 - TAC o RM programado en un plazo máximo de 30 días.
- **Pacientes con un criterio mayor:**
 - Aplicación del modelo iTLBcp 1.
 - TAC o RM en un plazo máximo de 7 días.

LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO.

Puede considerarse una debilidad del estudio que no todos los pacientes con ACDP analizados cuenten con confirmación del diagnóstico anatomopatológico. Sin embargo, esto concuerda con la práctica clínica habitual. Los pacientes que se encuentran en estadios avanzados y son únicamente candidatos a tratamiento paliativo por edad, comorbilidad y otros factores, no son sometidos al proceso invasivo de obtención de una biopsia para evitar molestias y posibles complicaciones.

Aunque nuestra serie de ACDP cuenta con 122 pacientes y replica adecuadamente, en cuanto a demografía y características del tumor, a la gran mayoría de las series publicadas, para el objetivo de encontrar herramientas que optimicen el diagnóstico más precoz, sería deseable ampliar la serie para contar con más pacientes en estadios iniciales (TNM I-II y con criterios de resecabilidad o *resecables-borderline*) y captar mejor las peculiaridades calorimétricas del suero de estos pacientes.

El estudio tampoco ha podido analizar la posible contribución de factores de riesgo relevantes, como la ingesta de alcohol, o de determinadas costumbres dietéticas, al no disponer de información fehaciente en la HCE, como consecuencia de la recopilación retrospectiva de parte de los datos analizados.

Algunos porcentajes, como la proporción de pacientes considerados candidatos a cirugía curativa podría considerarse superior a la media publicada. La explicación probablemente radica en el largo periodo de reclutamiento que incluye pacientes en los que la decisión terapéutica se tomó antes de la normalización del comité multidisciplinar específico para tumores pancreáticos, aunque esto no debería tener influencia en el resto de variables evaluadas. Además, la tasa de resección R0 se encuentra dentro de la horquilla descrita por otras series. También fue llamativa la muy ligera predominancia de pacientes de sexo femenino, comparativamente con otras series publicadas en las que se describe lo contrario. Esta observación sólo podemos atribuirla a la casualidad.

Por el contrario, el estudio también cuenta con fortalezas. El reclutamiento de pacientes fue prospectivo y multicéntrico, incluyendo los dos centros hospitalarios de mayor nivel de la comunidad autónoma de Aragón, que son centro de referencia para el manejo de patología pancreática, con un volumen anual de pacientes muy superior al exigido por los estándares internacionales. El tamaño muestral de 122 pacientes, sin ser muy elevado ha demostrado ser coherente en sus características con las series multicéntricas más amplias publicadas.

A la hora de definir las variables analizadas, se ha sido especialmente exigentes. Por ejemplo, se ha considerado como DM de debut a pacientes diagnosticados en los 6 meses anteriores al diagnóstico de ACDP, a diferencia de otras series que contabilizan hasta 24 o 36 meses. Este criterio más restrictivo podría potenciar el significado de la asociación observada con relación al diagnóstico de ACDP, ya que considerar periodos más prolongados pueden reflejar una asociación fortuita con mayor frecuencia.

Para la construcción de los modelos de predicción he contado con el equipo de la Dra. Abian Franco, que ha aplicado algoritmos de análisis actuales exigentes para evitar errores de manipulación de datos como el sobremuestreo y otros sesgos de selección o intrapolación, realizando en cada caso 100 modelos de aleatorización. Igualmente, este equipo se ha encargado de realizar el análisis estadístico.

La metodología de la calorimetría como herramienta diagnóstica debe considerarse también una de las principales fortalezas, por su capacidad de análisis global de las características calorimétricas del suero de los pacientes, que traduce características cualitativas de sus composición, pero también el comportamiento de sus componentes (plegamiento/desplegamiento de proteínas) y sus interacciones, al ser sometidos a un aumento controlado de temperatura. A pesar de la posible interferencia que pueda inferirse de los resultados en cuanto al nivel de bilirrubina, en nuestro modelo iTLBcp1 no debería presuponerse un problema grave, dado que la mediana de bilirrubina de los pacientes analizados se situó por debajo del umbral de interferencia descrito.

LÍNEAS DE FUTURO.

A partir de estos primeros resultados, el grupo de investigación se ha propuesto diferentes líneas futuras de trabajo:

- ampliar el tamaño muestral para contar con un mayor grupo de pacientes en estadios iniciales y validar los resultados de nuestros modelos en una población externa, en colaboración con otros centros hospitalarios.
- analizar el estudio calorimétrico del suero de pacientes con niveles elevados de bilirrubina secundarios a patología benigna como las litiasis, estenosis biliares postquirúrgicas o estenosis derivadas de enfermedades inflamatorias como la PC, y comparar estos resultados con los obtenidos en pacientes con ACDP.
- investigar detalladamente la razón de la interferencia observada en el análisis calorimétrico del suero de pacientes obesos y con sobrepeso. Probablemente en este sentido sería interesante el análisis proteómico o metabolómico detallado del suero de este grupo de individuos.
- investigar el papel de la calorimetría en el seguimiento del paciente oncológico, como prueba que permita confirmar o descartar su curación.
- investigar el papel de la calorimetría en patología pancreática inflamatoria como la PC, la pancreatitis autoinmune, y en otras estirpes tumorales, como el TNE.
- elaborar scores predictivos o de riesgo a partir de estos resultados, considerando simultáneamente las variables identificadas en esta investigación junto con los resultados del análisis calorimétrico, y valorar las posibilidades de optimizar la rentabilidad de esta línea diagnóstica.
- identificar proteínas específicas en el suero de pacientes con ACDP que sirvan como marcadores pronósticos y de supervivencia, con técnicas de proteómica avanzadas.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DE ACDP.

En el estudio dedicado al ACDP, se han definido las principales características de esta enfermedad en nuestro medio, a partir de una serie multicéntrica y representativa de 122 pacientes con características similares a la población descrita en la literatura.

Los hallazgos principales han sido los siguientes:

- Existe una tendencia preocupante al diagnóstico de ACDP a edad más temprana, que se ha comprobado en nuestra serie con un segundo pico de incidencia entre los 58 y los 62 años.
- El diagnóstico se produce mayoritariamente en fases avanzadas (46,7% en estadios metastásicos), que, junto a otros factores, condiciona una escasa supervivencia (6,8% a los 5 años en nuestra serie). Las mayores supervivencias se observaron en individuos del sexo masculino ($p = 0,041$), menores de 65 años ($p < 0,001$), con menor comorbilidad asociada ($p = 0,009$) y con normopeso ($p = 0,005$). La causa más frecuente del fallecimiento de los pacientes fue la progresión tumoral.
- Los pacientes con predisposición genética son una minoría: 1,6% con mutaciones genéticas y 6,6% con criterios de cáncer familiar.
- El tabaco es un importante factor de riesgo asociado (41% de fumadores o exfumadores en nuestra serie), que adelanta el diagnóstico a edades más tempranas ($p = 0.00091$). Posiblemente el sexo femenino presenta mayor sensibilidad, y posiblemente el consumo de alcohol puede ser un factor potenciador. Sin embargo, no ha demostrado en nuestra serie disminuir la supervivencia.
- El 12,3% de nuestros pacientes presentaron PC, en un 73.3% de los casos asociado con el tabaco y en un pequeño porcentaje (2,5%) el ACDP debutó como una PA. Esto debe considerarse especialmente en PA idiopáticas de pacientes mayores de 50 años.
- La diabetes es frecuente en pacientes con ACDP (36,9% en nuestra serie), pero el debut diabético (33,3% del total de diabéticos) en un paciente mayor de 50 años, obliga a descartar un ACDP que podría suponer un diagnóstico más temprano. En nuestra serie, la diabetes no ha demostrado influir en la supervivencia.
- La obesidad/sobrepeso son muy frecuentes en pacientes con ACDP (74,1% en nuestra serie) e influyen negativamente en la supervivencia de los pacientes ($p=0,005$). Se asocia a la DM establecida pero no tanto a la diabetes de debut.
- Los niveles de proteínas totales y albumina se encuentran con frecuencia disminuídos al diagnóstico, pero no se ha encontrado correlación con la progresión tumoral ni efectos en términos de supervivencia.
- El Ca 19.9 es un buen marcador de la evolución y el pronóstico tumoral, sin clara utilidad como marcador de diagnóstico precoz, aunque los tumores resecables si han presentado niveles significativamente más bajos ($p = 0,001$) con respecto al resto. No presenta correlación con los niveles de bilirrubina, por lo que su elevación debe considerarse consecuencia de la progresión tumoral y no de la colestasis, lo que es relevante a la hora de interpretar su significado en pacientes con ictericia.
- El CEA y la PCR pueden considerarse complementarios al Ca 19.9 como indicadores de tumor avanzado y con posible utilidad como predictores de supervivencia.
- Los síntomas más frecuentes en nuestra serie han sido: ictericia, pérdida de peso y dolor abdominal /dorsal. La ictericia es predominante en localización cefálica y en tumores resecables ($p < 0,001$) El dolor abdominal/dorsal y la pérdida de peso fueron predominantes en tumores distales, traduciendo también probablemente una enfermedad más avanzada. Aunque no fue un síntoma habitual (11,5%) la diarrea fue más frecuente en tumores de cabeza, traduciendo probablemente una IPE secundaria a obstrucción del CPP.
- La probabilidad de diagnóstico en estadio resecable fue mayor en tumores de localización cefálica ($p = 0,002$)
- Nuestra serie presentó un porcentaje alto de cirugía con intención curativa (30,3%), con una adecuada proporción de cirugía R0 (45,9%), pero presentó unas cifras elevadas de mortalidad (8%) y morbilidad (73%). Esto probablemente traduce la importancia de la decisión multidisciplinar en comités de tumores, ya totalmente instaurada en nuestros hospitales, pero

también el hecho de que en nuestra serie se consideren únicamente pacientes oncológicos. Se observó una tendencia a una mayor supervivencia de las cirugías R0, sin alcanzar significación estadística, probablemente por el pequeño tamaño muestral. No se confirmó ningún efecto sobre la morbimortalidad postquirúrgica de los niveles de bilirrubina > 15mg/dL prequirúrgicos.

- Nuestro modelo predictivo (iTLBcp1) basado en el análisis calorimétrico de muestras de suero de controles sanos y pacientes con ACDP ha demostrado ser una herramienta capaz de identificar correctamente a pacientes con ACDP con sensibilidad del 94,4%, especificidad del 100% y AUC de 0,97, aunque en pacientes con niveles de bilirrubina muy elevados (> 20-25 mg/dL) y/o sobrepeso/obesidad debe manejarse con cierta cautela.
- Los modelos desarrollados para seleccionar a pacientes con ACDP en estadio resecable/*borderline* o metastásico no han mostrado suficiente especificidad, pero consideramos que su precisión podría mejorarse con una muestra más amplia.
- Esta tecnología es sencilla de realizar, mínimamente invasiva, sin variabilidad entre observadores y económica, lo que le confiere capacidad como prueba diagnóstica para cribado en población de riesgo medio.

En resumen, de nuestro estudio deriva una propuesta de actuación que pretende optimizar el diagnóstico precoz del ACDP en individuos sin predisposición genética, pero con otros factores predisponentes, que constituyen la población más frecuente en la que se diagnostica esta enfermedad. El protocolo incluiría la aplicación del modelo iTLBcp1 junto a una prueba de imagen específica (TAC-MD o RM) con distinto nivel de preferencia según factores de riesgo definidos y confirmados en esta investigación.

Nuestra intención es seguir esta línea de investigación para contrastar nuestro modelo en un estudio prospectivo con una población externa más amplia.

3. Estudio de las lesiones quísticas pancreáticas

HIPÓTESIS.

- Optimizar el diagnóstico diferencial de las LQP facilitará su manejo clínico y probablemente mejorará la supervivencia de los pacientes con ACDP. Las herramientas actuales son imprecisas, especialmente en el contexto de quistes pequeños y asintomáticos.
- Analizar las características clínicas y demográficas de los pacientes diagnosticados de LQP en nuestro medio, en combinación con la evaluación del rendimiento de las modalidades diagnósticas disponibles, permite identificar las limitaciones y dificultades del proceso diagnóstico terapéutico y proponer posibles mejoras específicas.
- La Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) permite un análisis global de la composición del LIQ y podría representar una herramienta útil para optimizar el diagnóstico diferencial de las LQP y facilitar la detección temprana de su malignización.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO.

a. Objetivos principales:

- Realizar un estudio descriptivo de las características demográficas y clínicas de los pacientes con LQP en nuestro medio, analizar el rendimiento de las técnicas diagnóstico-terapéuticas disponibles y valorar los resultados quirúrgicos.
- Desarrollar un modelo predictivo con algoritmos de inteligencia artificial (iTLBq 1), utilizando los datos obtenidos tras el análisis mediante biopsia líquida térmica de las muestras de LIQ de pacientes con LQP que permita diferenciar eficazmente lesiones mucinosas y no mucinosas (LQP-M vs. LQP-NM).

b. Objetivos secundarios:

- Desarrollar un modelo predictivo con algoritmos de inteligencia artificial (iTLBq 2) que permita diferenciar eficazmente lesiones quísticas mucinosas benignas y malignas (LQP-Mb vs. LQP-Mm).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo, observacional de reclutamiento prospectivo y unicéntrico, de una muestra de pacientes diagnosticados de LQP mediante los criterios clínicos, analíticos y de pruebas de imagen descritos en la introducción. Posteriormente se realizó el estudio calorimétrico del LIQ de estos pacientes para la elaboración de los modelos predictivos.

a. Población de estudio

Entre enero de 2016 y mayo de 2023, en el Servicio de Digestivo del HCULB, se reclutaron de forma prospectiva 41 muestras de LIQ de pacientes con LQP de diagnóstico no aclarado y con criterios para realizar USE-PAAF, según GPC vigentes (205), como son:

- tamaño igual o superior a 2 cm
- síntomas atribuibles a la LQP
- presencia de signos de alarma: WF y/o HRS, incluyendo crecimiento $\geq 2,5$ mm/año objetivado durante el seguimiento.

El reclutamiento fue largamente interrumpido por la pandemia COVID-19, entre enero de 2020 y abril de 2021, dada la importante limitación para la realización de USE-PAAF durante aquellos meses, a excepción de situaciones de preferencia y/o urgencia.

La inclusión se realizó tras proporcionar a cada paciente información detallada, verbal y escrita, facilitada por la autora de la tesis, sobre el contenido y objetivos del estudio de investigación, y tras la obtención de su consentimiento informado verbal y escrito, una vez que el paciente había podido resolver todas sus dudas, y firmar los documentos (ver Anexo). Este estudio recibió informe favorable por el Comité de Ética de Investigación de la Comunidad Autónoma de Aragón (CEICA) con fecha 17 de abril de 2013, Acta N° CP 08/2013 (ver Anexo). Se realizó enmienda posterior para incluir las muestras de LIQ, modificándose el documento informativo entregado al paciente (ver anexo).

Por cuestiones éticas, dado que la prioridad debía ser el diagnóstico de la LQP siguiendo las GPC vigentes, para el análisis calorimétrico del LIQ se utilizó exclusivamente la muestra sobrante tras reservar la cantidad necesaria para su análisis bioquímico (CEA, glucosa y amilasa) y citológico ocasionalmente, cuando esta era al menos de 1 mL.

b. Criterios de inclusión y exclusión:

El reclutamiento de pacientes con LQP se realizó conforme a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Ser mayor de 18 años.
- Haber aceptado la participación en el estudio y firmado el consentimiento informado.
- Diagnóstico de LQP según criterios clínicos, analíticos y de pruebas de imagen indicados por las GPC vigentes (181).
- Haber sido evaluado por el Comité de Tumores Pancreatobiliares del HCULB, con toma de decisión diagnóstico-terapéutica multidisciplinar.
- Cumplir criterios establecidos de indicación para la realización de USE-PAAF según las GPC vigentes (181), independientemente de la participación del paciente en el estudio.
- Firmar el consentimiento para la realización de la USE-PAAF.

Criterios de exclusión:

- Diagnóstico de cualquier otra enfermedad neoplásica, infecciosa o inflamatoria activa, no relacionada directamente con el diagnóstico de LQP, en el momento de su inclusión en el estudio.

- Presentar deterioro cognitivo que le impida entender y firmar el consentimiento informado.
- Presentar alguna contraindicación para la realización de la USE-PAAF o ausencia de consentimiento para su realización.
- Ser diagnosticado durante el estudio o posteriormente de un diagnóstico diferente a LQP.
- Muestra de LIQ residual insuficiente (< 1 mL) o imposibilidad técnica para obtener el termograma.
- Imposibilidad para establecer un diagnóstico confirmado o de alta probabilidad por falta de estudio AP e información clínica insuficiente que impida el consenso de especialistas.
- Embarazo.

c. Variables recogidas

Se presentan esquematizadas en la tabla 30:

| VARIABLES RECOGIDAS DURANTE EL ESTUDIO DE LQP | | | | | | |
|---|---|------------------------------------|--|--|--|--|
| Datos demográficos y clínicos | Edad | Años | Resultados de estudios diagnósticos | Morfología por imagen (RM y/o USE) | Presencia HRS/WF Imagen patognomónica (CAS) Comunicación con CPP (Sí/No) | |
| | Sexo | Masculino Femenino | | Características LIQ | Color: Seroso Serohemático Marrónáceo <i>String-sign</i> (Sí/No) | |
| | Hábito tabáquico | Fumador Exfumador No fumador | | Biomarcadores LIQ | CEA (ng/mL) Glucosa (mg/dL) Amilasa (U/L) | |
| | Hábito alcohólico | Sí / No | | Biomarcadores Suero | Ca 19.9 (U/mL) Bilirrubina (mg/dL) | |
| | Localización | Cabeza (C) Cuerpo-Cola (CC) | | Análisis histológico (AP) | Sí | Citología Biopsia Pieza quirúrgica |
| | Tamaño | Milímetros (mm) | | Diagnóstico * (tipo y subtipo) | No | Diagnóstico confirmado Diagnóstico de alta probabilidad |
| | Pancreatitis Crónica (PC) previa | Sí / No | | | | |
| Síntomas (atribuibles a la LQP) | Dolor abdominal +/- dorsal Ictericia Pérdida de peso Pancreatitis aguda (PA) | | | | | |
| Tratamiento Quirúrgico | Resección | Sí / No | Evolución (sí no intervenidos) | Involución de la LQP | | |
| | Modalidad | DPC PD | | Estabilidad de la LQP | | |
| | Indicación | Síntomas HRS/WF Ambos | | Progresión de la LQP: crecimiento y/o aparición de HRS/WF | | |
| | Complicaciones (Escala Clavien-Dindo) (165) | I – II – III – IV – V | | | | |

Tabla 30. Variables recogidas en el estudio de LQP. **Abreviaturas:** AP: Anatomía Patológica, Ca 19.9: Antígeno Carbohidrato 19, CAS: Cistoadenoma seroso, CEA: Antígeno Carcinoembrionario, CPP: Conducto Pancreático Principa), DPC: Duodenopancreatectomía Cefálica, HRS: High Risk stigmata, LQP: lesión Quística Pancreática, PD: Pancreatectomía Distal, RM: Resonancia Magnética, USE: Ultrasonografía Endoscópica, WF: Worrisome Features. * Ver modalidades diagnósticas,

Interpretación "string sign": el aspecto filante se considera sugestivo de LQP-M.

Interpretación CEA: concentración > 192 ng/mL en LIQ sugestivo de LQP-M.

Interpretación Glucosa: concentración < 50 mg/dL en LIQ sugestivo de LQP-M.

Interpretación Amilasa: concentración > 250 U/L sugestivo de comunicación con CPP, característico de PQ y TPML.

Interpretación Ca 19.9 (U/mL): concentración > 37 U/mL en suero indicativo de malignidad en ausencia de colestasis.

Interpretación Bilirrubina (mg/dL): concentración > 1,2 mg/dL indicativa de indicativa de colestasis (HRS).

Para el diagnóstico de la LQP según tipo y subtipo, se establecieron 2 modalidades *:

- **Diagnóstico Confirmado:** cuando cumplía uno/ambos de los siguientes requisitos:
 - Análisis AP disponible: por citología, biopsia y/o análisis de la pieza quirúrgica.
 - Imagen patognomónica: en el caso de los CAS.
- **Diagnóstico de Alta Probabilidad:** cuando no se contaba con análisis AP ni imagen patognomónica el diagnóstico debía establecerse mediante análisis conjunto de los datos clínicos y demográficos del paciente, características morfológicas en la imagen (TAC, RM y/o USE), análisis bioquímico del LIQ (CEA, glucosa y amilasa), o análisis bioquímico en suero del marcador tumoral Ca 19.9. Se exigió el consenso unánime de, al menos, tres pancreatólogos expertos (clínicos, endoscopistas, radiólogos y/o cirujanos) tras valoración del caso en comité multidisciplinar.

d. Clasificación de las LQP.

Según el diagnóstico de cada LQP establecido según las 2 modalidades descritas previamente, finalmente todos los quistes se clasificaron en 2 únicos grupos, como puede verse en la tabla 31:

| <i>LQP-NM (No Mucinosas)</i> | <i>LQP-M (Mucinosas)</i> |
|--|--|
| Pseudoquiste (PQ) Cistoadenoma Seroso (CAS) Quistes linfoides (LINF) | TPMI-CP (Conducto Principal) TPMI-RS (Rama Secundaria) TPMI-Mx (Mixta) Cistoadenoma Mucinoso (MCN) Quiste Mucinoso Simple (SMC) ACDP con componente quístico (ACDPq) |
| | Subdivididas además según: <ul style="list-style-type: none"> ○ Benignas (LQP-Mb) <ul style="list-style-type: none"> ○ Todas las anteriores sin evidencia de malignización ○ Malignas (LQP-Mm): <ul style="list-style-type: none"> ○ TPMI malignizado (TPMI_m) ○ ACDPq ○ SMC con displasia alto grado (SMC-DAG). |

Tabla 31: Clasificación diagnóstica de la serie de LQP a estudio. Abreviaturas: LQP: lesión quística pancreática; TPMI tumor papilar mucinoso intraductal; LQP-Mb: lesión quística pancreática mucinosa benigna; LQP-Mm: lesión quística pancreática mucinosa maligna.

Como LQP-NM se incluyeron:

- Pseudoquistes inflamatorios (PQ): colecciones encapsuladas de origen inflamatorio, considerando bajo esta misma nomenclatura, tanto PQ como WON (*Walled-off necrosis*).
- Cistoadenomas serosos (CAS).
- Quistes de naturaleza linfoide (LINF): 2 lesiones linfáticas en las que se planteó el diagnóstico diferencial entre quiste linfoepitelial vs. linfangioma. En la citología de ambas sólo se identificaron linfocitos, sin células epiteliales. Esto confirmó su naturaleza linfoide al 100%, pero la ausencia de epitelio no permitió confirmar ni descartar que se tratasen de un quiste linfoepitelial. En una de ellas (Q26), el análisis bioquímico presentó una cifra elevada de triglicéridos, lo que la hace muy sugestiva de linfangioma. Ambas se agruparon bajo la misma nomenclatura.

Como LQP-M se incluyeron:

- Tumor Mucinoso Papilar Intraductal de conducto principal (TPMI-CP).
- Tumor Mucinoso Papilar Intraductal de rama secundaria (TPMI-RS).
- Tumor Mucinoso Papilar Intraductal Mixto (TPMI-Mx)
- Cistoadenoma Mucinoso (MCN).
- Quiste Mucinoso Simple (SMC) (198).
- Adenocarcinoma Ductal Pancreático con componente quístico (ACDPq)

Dentro de las LQP-M, específicamente para la malignidad se estableció una segunda clasificación:

- LQP-M Benignas (LQP-Mb): sin evidencia clínica ni AP de malignización
- LQP-M Malignas (LQP-Mm): malignidad confirmada mediante estudio AP
 - TPMI malignizada (TPMI_m): ACDP sobre TPMI
 - ACDP con componente quístico asociado (ACDPq)
 - SMC con displasia de alto grado (SMC-DAG)

e. Procesamiento de las muestras.

Las muestras de LIQ se obtuvieron mediante la realización de USE-PAAF con ecoendoscopio curvilíneo marca Olympus® 140 (Olympus, Tokio, Japón). Se utilizaron agujas de la marca Boston Scientific™ Expect®, calibre 19 o 22-G, y la técnica de extracción utilizada fue *dry-suction*. El endoscopista decidió el calibre de la aguja según características y accesibilidad de la LQP. La muestra se recogía para su procesamiento posterior en un tubo tipo *ependorf*. Cada paciente y sus muestras correspondientes fueron identificados con un código interno asociado, con objeto de garantizar el anonimato, siguiendo las normas éticas descritas en el protocolo aprobado por el CEICA.

Las determinaciones bioquímicas en suero (bilirrubina y Ca 19.9) y en LIQ (CEA, amilasa y glucosa), se realizaron en muestras frescas, en los laboratorios clínicos del HCULB, según protocolo habitual, siguiendo controles internos y externos de calidad.

Para su conservación, las muestras de LIQ se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos, dentro de las 3 horas posteriores a la extracción. Su contenido se distribuyó en alícuotas que posteriormente se almacenaron a -80 °C. Previamente al análisis calorimétrico con CDB, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se centrifugaron y diluyeron al 1:10 en solución salina tamponada con fosfato (PBS), utilizando 400 µL para el ensayo.

f. Preparación de termogramas

Como ya se ha comentado en el capítulo dedicado a la CDB y en el estudio de ACDP, los termogramas son gráficas que se obtienen tras el análisis calorimétrico de una muestra biológica en disolución (LIQ en este estudio), y que representan su comportamiento al someterlo a un aumento controlado de temperatura, consecuencia del desplegamiento o desnaturalización de las proteínas y otras moléculas que lo componen. Supone una valiosa fuente de información sobre el proteoma, el peptidoma y el interactoma del líquido en cuestión, es decir, sobre su composición, pero también sobre las interacciones entre sus diferentes componentes.

Los termogramas de este estudio se obtuvieron mediante un calorímetro de barrido diferencial VP-DSC capilar automatizado de alta sensibilidad (*CBD MicroCal, Malvern-Panalytical, Reino Unido*). La línea basal del instrumento fue obtenida rutinariamente antes de cada experimento. Los experimentos fueron realizados en 400 µL de muestra de LIQ a la dilución comentada previamente. La velocidad de barrido fue de 1°C/min, con un rango de escaneo desde los 10°C hasta los 95°C. En caso de que no fuera posible obtener un termograma a partir de una muestra de LIQ, el paciente se excluía, aplicándose un análisis de caso completo sin valores de imputación.

Posteriormente, los termogramas se procesaron utilizando un software desarrollado por el grupo e implementado en Origin 7 (*OriginLab Northampton, MA, USA*), que implicó la resta y corrección de las líneas base, la interpolación para obtener puntos de datos distribuidos uniformemente en el rango de

temperatura ($\Delta T = 0.25^\circ\text{C}$), y la restricción del análisis al intervalo entre 40°C y 95°C . A continuación, cada termograma se normalizó por su área, previamente a su análisis detallado.

Las temperaturas y su valor de C_p fueron las variables predictoras del modelo de clasificación, por lo que se disponía de 221 temperaturas/variables predictoras. Con el objetivo de reducir el número de variables predictoras/temperaturas y evitar el sobreajuste, se utilizó la información de cada grado de temperatura, seleccionando los intervalos de temperatura en los que se detectaron mayores diferencias. Así, se seleccionó el rango comprendido entre 55°C y 85°C , reduciéndose el número de variables predictoras a 31 (55°C , 56°C , 57°C ...).

g. Descripción del modelo de aprendizaje automatizado

A semejanza de lo descrito previamente en el estudio de ACDP, la metodología de análisis se basa en la obtención de un modelo de clasificación, a partir de información obtenida de la forma de los termogramas. Esta información se obtiene al usar como variables predictoras las temperaturas (y su valor de C_p), o más concretamente, parejas de temperaturas, seleccionadas mediante la función *K-Top-Scoring-Pair* (KTSP) (librería *switchBox* de R) (350). KTSP se define como un método robusto de clasificación a partir de datos de alta dimensión basado en un pequeño subconjunto de características, que lo hace menos sensible al sobreajuste y potencialmente fácil de interpretar en términos biológicos. Tradicionalmente se ha planteado este tipo de herramientas para analizar datos basados en *ómicas*. La aplicación de *switchBox* fue la propuesta debido a las características de alta dimensión de los datos de los termogramas.

Al aplicar el paquete *switchBox* a los datos de termogramas, la variable predictora cuantitativa continua (valor de C_p) se convirtió en una variable dicotómica. Para ello, el algoritmo selecciona pares de temperaturas (T_1 , T_2) como variable útil predictiva, cuando existe una fuerte correlación entre el signo de la diferencia de C_p entre esa pareja de temperaturas en un grupo, $C_p(T_1) > C_p(T_2)$ o $C_p(T_1) < C_p(T_2)$, y una correlación de signo contrario en el otro grupo (ver figura 17 en material y métodos del estudio de ACDP). Por esta razón, cada termograma de cada paciente podría alcanzar o no la condición de los pares de temperaturas (No/Sí o 0/1).

Posteriormente, el modelo de clasificación se ajustó mediante una regresión logística regularizada aplicando el paquete *ncvreg* de R, que utiliza penalizaciones de Lasso o no convexas y validación cruzada (351), identificando las parejas de temperaturas más significativas. Las temperaturas finalmente seleccionadas serán las que se repitan más frecuentemente.

Metodología paso a paso (step-wise) para la obtención de un modelo de clasificación iTLB para LQP a partir de termogramas

En resumen, el esquema de pasos de la metodología para obtener el modelo fue la siguiente:

1. Se utilizó como grupo de entrenamiento a los pacientes con LQP y diagnóstico confirmado (AP y/o imagen patognomónica), y como grupo de validación a los pacientes con LQP y diagnóstico de alta probabilidad (consenso multidisciplinar).
2. Establecimiento del rango óptimo del número de parejas de temperaturas necesarias para ser comparadas en el modelo.
3. Selección de las parejas de temperaturas más frecuentemente seleccionadas en los ajustes.
4. Entrenamiento del modelo a partir de las parejas de temperaturas más frecuentes seleccionadas anteriormente y adjudicación de sus coeficientes.

El resultado del modelo de clasificación es un valor real numérico para cada paciente (entre $-\infty$ y $+\infty$). De manera estándar, el punto de corte establecido por el modelo era de cero. Esto quiere decir que cuando el modelo de clasificación proporcionaba un número menor que cero, el paciente se clasificaba como negativo para la condición estudiada (ser una LQP no mucinosa (LQP-NM) o una LQP-M no maligna (LQP-Mb), según el modelo iTLBq1 o iTLBq2 respectivamente), mientras que, si el resultado era un número mayor de cero, se clasificaba como positivo para dicha condición (ser una LQP mucinosa (LQP-M) o una LQP-M maligna (LQP-Mm) según el modelo iTLBq1 o iTLBq2 respectivamente).

El rendimiento del modelo de clasificación como prueba diagnóstica se evaluó posteriormente mediante el cálculo de índices de rendimiento comunes (sensibilidad, especificidad, VPP y VPN), así como la curva ROC y su área bajo la curva (AUC) con su intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

h. Modelos de clasificación para LQP.

En el estudio de LQP, a partir de los termogramas se obtuvieron dos modelos diferentes:

1. **Modelo *iTLBq1***: Diseñado para discriminar entre LQP No Mucinoso (LQP-NM) vs. LQP Mucinoso (LQP-M).

Para el entrenamiento del modelo se consideraron las lesiones con diagnóstico confirmado, que suponían el 63% del total de la muestra (22/35). El resto de LQP con diagnóstico de alta probabilidad, un 37% del total (13/35), se consideraron para su validación. El entrenamiento con lesiones de diagnóstico seguro da más firmeza a este modelo de clasificación.

2. **Modelo *iTLBq2***: Diseñado para discriminar entre LQP Mucinoso Benigna (LQP-Mb) vs. LQP Mucinoso Maligna (LQP-Mm).

En este caso, y dado el pequeño tamaño muestral, todas las LQP-M se utilizaron para el entrenamiento del modelo.

i. Análisis estadístico empleado:

En primer lugar, se comprobó la normalidad de las variables mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors o de Shapiro-Wilk (según el tamaño muestral). Las medianas entre dos grupos independientes/dependientes se compararon mediante la prueba t de Student de muestras no pareadas/pareadas para variables con comportamiento normal (verificando previamente la homocedasticidad con la prueba de Bartlett), mientras que las medianas entre dos grupos independientes/pareados se compararon mediante la prueba de Wilcoxon de muestras no pareadas/pareadas para variables con comportamiento no normal.

Las medias entre tres o más grupos pareados de distribución paramétrica se compararon mediante la prueba de análisis de las varianzas (ANOVA) para muestras pareadas, con la comprobación de la esfericidad mediante la prueba de Mauchly. En caso de no cumplirse la hipótesis de esfericidad, se realizó la corrección del p-valor mediante Greenhouse-Geisser. El posterior análisis múltiple bivalente se realizó ajustando los p-valores según el método de Bonferroni.

La asociación entre grupos para variables cualitativas dicotómicas se evaluó mediante la prueba de χ^2 de Pearson con la corrección de Yates, excepto cuando el tamaño muestral era pequeño (≤ 20) donde se utilizó la prueba de Fisher.

Para todas las pruebas, se consideró estadísticamente significativo un p-valor bilateral inferior a 0.05. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el lenguaje y entorno para la informática estadística del equipo central de R, en su versión 4.3.2 (31 de octubre de 2023).

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LQP

Se reclutaron inicialmente un total de 41 casos de LQP que cumplían criterios para realización de USE-PAAF independientemente de la participación en el estudio. Durante el análisis posterior, 6 de ellos fueron excluidos por los motivos que a continuación se detallan:

- Q6: por información insuficiente durante la revisión de la HCE para establecer consenso diagnóstico.
- Q21: por diagnóstico diferente a LQP (feocromocitoma de glándula suprarrenal).
- Q23: por error en la identificación mediante código interno asociado, que impidió la adecuada identificación posterior.
- Q24: por error en la identificación mediante código interno asociado, que impidió la adecuada identificación posterior.
- Q30: por imposibilidad técnica para realizar el estudio calorimétrico del LIQ y obtener el termograma.
- Q39: por presentar historia de neoplasia previa extrapancreática y diagnóstico diferente a LQP (metástasis pancreáticas de tumor renal de células claras). Estos diagnósticos se confirmaron con posterioridad al estudio mediante USE-PAAF, y como consecuencia de este.

Por tanto, el tamaño muestral definitivo fue 35 LQP.

a. Estudio descriptivo.

Descriptiva de la serie de pacientes con LQP

Del total de 35 casos, el 49% (17/35) fueron LQP-M y el 51% (18/35) fueron LQP-NM. Dentro de las LQP-M, el 48% (8/17) fueron LQP-Mm. Todas las LQP-NM fueron benignas.

En el 63% de los pacientes (22/35) pudo establecerse un diagnóstico confirmado (confirmación histológica y/o imagen patognomónica), y en el 37% (13/35) restante se estableció un diagnóstico de alta probabilidad (consenso multidisciplinar). La distribución de los diferentes subtipos de LQP según los tipos de diagnóstico se muestran en la siguiente figura

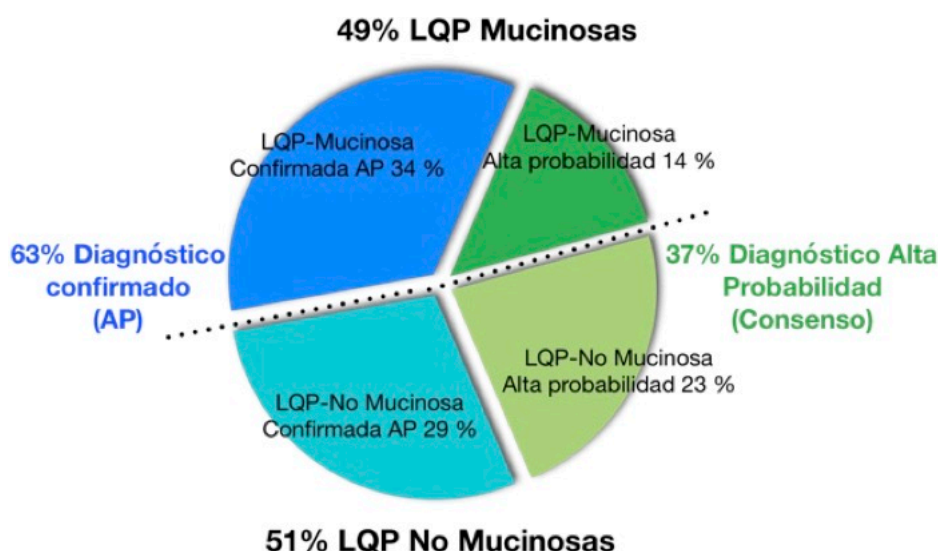


Figura 67: Distribución de la serie de casos de LQP según su diagnóstico confirmado o de alta probabilidad, y su estirpe mucinosa o no mucinosa. Abreviaturas: AP: anatomía patológica; LQP: lesiones quística pancreática.

En resumen, la mayoría de las LQP del estudio (63 %) tuvieron un diagnóstico confirmado. Para cada tipo de lesión (LQP-M y LQP-NM), también la mayoría de los diagnósticos fueron confirmados, suponiendo el 71 % de LQP-M, el 55 % de LQP-NM y el 100 % de las LQP-Mm.

En la tabla 32 se detallan las principales características demográficas para cada tipo y subtipo de LQP, indicándose el número total, el porcentaje de cada subtipo de lesión con respecto al total y respecto a cada grupo (LQP-NM o LQP-M), la edad media y el sexo más frecuente de diagnóstico, la mediana del tamaño y la localización más habitual dentro de la glándula pancreática. Como ya se ha especificado en el apartado de material y métodos, dentro del grupo denominado PQ se incluyen todas las colecciones inflamatorias encapsuladas (pseudoquistes y WON), y dentro del grupo denominado LINF se agruparon las 2 lesiones de naturaleza linfoide identificadas.

De igual manera, en las tablas suplementarias de LQP que aparecen al final de esta tesis, se muestran en detalle las características específicas de cada paciente.

| LQP# | n | % Total (% Grupo) | Edad* | Sexo: n (%) ♀ | Tamaño** (mm) | Loc: n (%) CC*** |
|----------------|----|-------------------|------------|---------------|---------------|------------------|
| LQP-NM: | 18 | 51% (100%) | 64 (49-86) | 8 (44%) | 46 [38; 62] | 8 (44%) |
| PQ | 11 | 31% (61%) | 62 (49-75) | 3 (27%) | 55 [33; 85] | 5 (45%) |
| CAS | 5 | 14% (28%) | 72 (60-86) | 4 (80%) | 45 [40; 45] | 2 (40%) |
| LINF | 2 | 6% (11%) | 55 (52-59) | 1 (50%) | 48 [47; 48] | 1 (50%) |
| LQP-M: | 17 | 49% (100%) | 61 (36-83) | 10 (59%) | 32 [26; 50] | 9 (52%) |
| TPMI | 10 | 29% (59%) | 68 (48-83) | 4 (40%) | 28 [25; 35] | 4 (40%) |
| MCN | 2 | 6% (12%) | 39 (36-42) | 2 (100%) | 31 [30; 31] | 2 (100%) |
| SMC-DAG | 1 | 3% (6%) | 55 (55-55) | 1 (100%) | 58 [58; 58] | 1 (100%) |
| ACDPq | 4 | 11% (23%) | 53 (38-74) | 3 (75%) | 65 [44; 80] | 2 (50%) |
| Total | 35 | 100% | 62 (36-86) | 18 (51%) | 40 [30; 52] | 17 (49%) |

Tabla 32: Descriptiva de la serie de LQP según la edad, sexo, tamaño y localización para cada tipo y subtipo de quiste. *edad: media (mínima-máxima); ** tamaño: mediana [Q1; Q3]; ***% Loc CC: localización en cuerpo-cola.

Síntomas.

La mayoría de las LQP (69%, 24/35) fueron sintomáticas al diagnóstico. De todas ellas, las más frecuentemente sintomáticas fueron las lesiones inflamatorias o PQ (42%, 10/24), seguidas por las lesiones malignizadas o LQP-Mm (29%, 7/24).

En el subanálisis de los síntomas concretos que presentaba cada grupo (LQP-NM vs LQP-M), los resultados fueron los siguientes:

- LQP-NM: el 67% (12/18) fueron sintomáticas, de las cuales, un 83% (10/12) fueron PQ, y dentro de estos PQ sintomáticos, el 90% (9/10) presentaban una PC subyacente. El 17% (2/12) restante de LQP-NM sintomáticas fueron CAS. El dolor abdominal fue el síntoma universal entre las 12 LQP-NM sintomáticas, y únicamente 1 de ellas añadió al dolor la pérdida de peso (IPE por PC subyacente).
- LQP-M: el 71% (12/17) fueron sintomáticas. Dentro de las LQP-M sintomáticas, según presentasen o no malignización, los síntomas observados fueron los siguientes
 - Entre las LQP-Mb (n = 9) el síntoma más frecuente fue el dolor abdominal (44%, 4/9), a destacar un debut como PA de una TPMI-RS (10%, 1/10 de todas las TPMI).
 - Entre las LQP-Mm (n = 8), predominaron síntomas como la ictericia (100% de TPMIm y 25% de ACDP) y la pérdida de peso (100% de ACDP y 67% de TPMIm).

Cinco LQP se diagnosticaron en el contexto de un *debut diabético*, de las cuales 3 fueron LQP-Mm (2 TPMIm y 1 ACDP), y 2 fueron CAS (ambas con un tamaño de 40 mm o más).

El SMC y las 2 lesiones linfoides (LINF) fueron asintomáticas, a pesar de su tamaño (58mm, 47mm y 49mm respectivamente).

Rendimiento de las pruebas diagnósticas.

Se analizó la veracidad del diagnóstico establecido en cada una de las pruebas realizadas de forma individual, tanto para la caracterización de las diferentes LQP, como para la detección de malignidad. Para ello, se comparó el resultado informado de cada prueba, con el diagnóstico definitivo de cada lesión, considerando como definitivo el diagnóstico confirmado o de alta probabilidad, según cada caso.

Para cada modalidad diagnóstica se calcularon los índices comunes de rendimiento diagnóstico, concretamente precisión, sensibilidad, especificidad, VPP y VPN, con el fin de poder compararlos con lo descrito en la literatura. Los resultados pueden verse resumidos en la tabla 33, que aparece más adelante.

Rendimiento para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM.

Se consideraron en este análisis 3 modalidades de estudio diagnóstico:

- *Pruebas de imagen*: TAC-MD, RM, USE: según diagnóstico expresado en el informe emitido.
- *String sign*: según informe del endoscopista, presente o no.
- Bioquímica del LIQ: Marcadores de mucinosidad: CEA (> 192 ng/mL) y Glucosa (< 50 mg/dL)

Pruebas de imagen: TAC-MD, RM y USE.

En 22/35 lesiones, el informe del especialista estaba disponible y concluía una hipótesis diagnóstica al menos en una de las pruebas de imagen. Estas correspondían a 10/22 LQP-NM y 12/22 LQP-M.

Debido a que no todas las LQP contaban con estudio completo que incluyese todas las modalidades de imagen (TAC-MD, RM y USE), junto a cada modalidad se refleja el total de LQP en las que se realizó.

TAC-MD (n = 16):

- de 5 LQP-NM, el TAC-MD identificó correctamente a 4 (80%)
- de 11 LQP-M, el TAC-MD identificó correctamente a 8 (73%)

Los índices de rendimiento del TAC-MD para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM en la serie estudiada fueron:

- precisión diagnóstica del 75%
- sensibilidad del 73%
- especificidad del 80%
- VPP del 89%
- VPN del 57%

RM (n = 16):

- de 7 LQP-NM, la RM identificó correctamente a 5 (71%)
- de 9 LQP-M, la RM identificó correctamente a 4 (44%)

Los índices de rendimiento de la RM para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM en la serie estudiada fueron:

- precisión diagnóstica del 56%
- sensibilidad del 44%
- especificidad del 71%
- VPP del 67%,
- VPN del 50%

USE (n = 22):

- de 10 LQP-NM, la USE identificó correctamente a 9 (90%)
- de 12 LQP-M, la USE identificó correctamente a 8 (67%)

Los índices de rendimiento de la USE para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM en la serie estudiada fueron:

- precisión diagnóstica del 77%
- sensibilidad del 67%
- especificidad del 90%
- VPP del 89%
- VPN del 69%

String-sign (signo de la cuerda).

Su presencia sugiere la naturaleza mucinosa de la LQP estudiada.

En la serie de LQP estudiada, este signo se describió como positivo en el 59% (10/17) de LQP-M y en el 16% (3/18) de LQP-NM. Con estos resultados, sus índices de rendimiento para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM fueron:

- precisión diagnóstica del 71%
- sensibilidad del 59%
- especificidad del 83%
- VPP del 77%
- VPN del 68%

Bioquímica del LIQ (CEA y Glucosa)

CEA > 192 ng/mL como marcador de mucinosidad

Se disponía del valor de CEA en LIQ en todas las LQP estudiadas, excepto en una LQP-NM, es decir, en el 97,2% (34/35).

Entre las LQP-NM (n = 17), el 17,6% (3/17) presentó un valor de CEA-LIQ > 192 ng/mL.

Entre las LQP-M (n = 17), el 76,5% (13/17) presentó un valor de CEA-LIQ > 192 ng/mL.

Los índices de rendimiento del CEA-LIQ para diferenciar LQP-M vs. LQP-NM en la serie fueron:

- precisión diagnóstica del 79%
- sensibilidad del 76%
- especificidad del 82%
- VPP del 81%
- VPN del 78%

Glucosa < 50 mg/dL como marcador de mucinosidad

Se disponía del valor de glucosa en LIQ únicamente en 10 de las LQP de la cohorte (28,5%). De ellas, 6 eran LQP-NM y 4 eran LQP-M.

De las 6 LQP-NM, el 33,3% (2/6) presentaron un nivel < 50mg/dL.

De las 4 LQP-M, el 50% (2/2) presentaron un nivel < 50mg/dL.

Los índices de rendimiento de la glucosa en LIQ para diferenciar lesiones mucinosas y no mucinosas (LQP-M vs. LQP-NM) en la cohorte fueron:

- precisión diagnóstica del 60%
- sensibilidad del 50%
- especificidad del 67%
- VPP del 50%
- VPN del 67%

Rendimiento para identificar malignidad (LQP-Mb vs. LQP-Mm)

Se consideraron en este análisis 3 modalidades de estudios diagnósticos:

- *Pruebas de imagen:* TAC-MD, RM, USE: según diagnóstico expresado en el informe emitido.
- *Presencia de signos de riesgo, HRS/WF:* descritos en el informe de pruebas de imagen
- Bioquímica en suero del marcador tumoral Ca 19.9: > 37 U/mL indicativo de malignidad.

Pruebas de imagen: TAC-MD, RM y USE.

Como se ha comentado previamente, en 22/35 lesiones el informe estaba disponible y/o concluía claramente una sospecha de malignidad en al menos una de las pruebas consideradas. De ellas, el 64% (14/22) correspondían a lesiones benignas (LQP-NM y LQP-Mb).

Debido a que no todas las LQP contaban con estudio completo que incluyese todas las modalidades (TAC-MD, RM y USE), junto a cada modalidad se identifica el total de LQP en las que se realizó.

TAC-MD (n = 16):

- de 8 lesiones benignas, el TAC-MD identificó correctamente a 7 (88%)
- de 8 lesiones malignas, el TAC-MD identificó correctamente a 7 (88%)

Los índices de rendimiento del TAC-MD para diferenciar lesiones benignas y malignas (LQP-NM y LQP-Mb vs. LQP-Mm) en la serie estudiada fueron:

- precisión diagnóstica del 88%
- sensibilidad del 88%
- especificidad del 88%
- VPP del 88%
- VPN del 88%

RM (n = 16):

- de 10 lesiones benignas, la RM identificó todas correctamente (100%)
- de 6 lesiones malignas, la RM identificó correctamente a 4 (66%)

Los índices de rendimiento de la RM para diferenciar lesiones benignas y malignas (LQP-NM y LQP-Mb vs. LQP-Mm) en la serie estudiada fueron:

- precisión diagnóstica del 87,5%
- sensibilidad del 66 %
- especificidad del 100%
- VPP del 100%
- VPN del 83%

USE (n = 22):

- de 14 lesiones benignas, la USE identificó todas correctamente (100%)
- de 8 lesiones malignas, la USE identificó correctamente a 6 (75%)

Los índices de rendimiento calculados de la USE para diferenciar lesiones benignas y malignas (LQP-NM y LQP-Mb vs. LQP-Mm) en la serie estudiada fueron:

- precisión diagnóstica del 91%
- sensibilidad del 75%
- especificidad del 100%
- VPP del 100%
- VPN del 88%

Presencia de signos de riesgo: HRS y WF.

Para analizar su validez diagnóstica en nuestra serie, se consideraron aquellos signos de alarma radiológicos más relevantes desde el punto de vista morfológico. Como HRS se consideraron la presencia de nódulos murales ≥ 5 mm o de componente sólido asociado, y la dilatación del CPP ≥ 10 mm. Como WF se consideraron el tamaño de la LQP (≥ 30 mm), el engrosamiento de la pared del quiste, la dilatación del CPP entre 5-9 mm, o la presencia de adenopatías.

Observamos los siguientes resultados respecto a los HRS:

- 3 pacientes presentaron nódulos murales ≥ 5 mm:
 - 2 eran TPMI: sólo 1 de ellas TPMIm
 - 1 era PQ, que involucionó hasta desaparecer en controles radiológicos posteriores
- 4 pacientes presentaron componente sólido: todos ellos con malignidad confirmada:
 - 2 ACDPq
 - 2 TPMIm
- 1 TPMI-CP presentó un CPP ≥ 10 mm. El estudio citológico fue negativo para malignidad y la paciente no se intervino por su avanzada edad. La evolución hasta la fecha fue favorable.

Respecto a los signos de riesgo WF:

- Se describió engrosamiento de la pared quística en 4 pacientes:
 - 2 fueron PQ
 - 1 fue CAS
 - 1 fue ACDPq
- Dentro de las LQP-M, un 65 % (11/17) tuvieron un tamaño ≥ 30 mm, de los cuales:
 - 5 fueron LQP-Mb (45%)
 - 6 fueron LQP-Mm (55%): de ellas:
 - 3 fueron ACDPq
 - 2 fueron TPMIm (2 de CP y 1 de RS)
 - 1SMC-DAG
- Se identificó un CPP dilatado de entre 5-9 mm en:
 - 1 ACDPq
 - 4 TPMI (3 de ellas (75%) TPMIm)
- Se describieron adenopatías de aspecto patológico en 2/17 LQP-M, ambos eran pacientes con ACDPq.

Se calcularon los índices de rendimiento para predecir malignidad de los diferentes HRS y WF observados en nuestra serie de LQP. Los resultados obtenidos quedan reflejados en la tabla 33.

Bioquímica en suero (marcador tumoral Ca 19.9 > 37 U/mL)

La concentración de Ca 19.9 en suero, cuando es superior a 37 U/mL, en ausencia de colestasis, es el único marcador de malignidad pancreática aprobado por la FDA. En la serie de 35 LQP, se disponía de este valor en el 67% (12/18) de LQP-NM (todas benignas) y en el 94% (16/17) de las LQP-M, de las cuales, 8 eran LQP-Mm.

En el 70% (14/20) de las lesiones benignas (12 LQP-NM y 8 LQP-Mb), el Ca 19.9 presentó un valor < 37 U/mL, indicando correctamente su naturaleza no maligna.

En el 62,5% (5/8) de las lesiones malignas (LQP-Mm), el Ca 19.9 presentó un valor > 37 U/mL, prediciendo adecuadamente su malignidad.

Con estos resultados, se calcularon los índices del rendimiento diagnóstico del Ca 19.9 para predecir malignidad en la serie a estudio, obteniendo los siguientes valores:

- precisión diagnóstica del 68%
- sensibilidad del 62%
- especificidad del 70%
- VPP del 45%
- VPN del 82%

En la tabla 33 pueden observarse resumidos, para su mejor valoración y comparación, todos los índices de rendimiento calculados en nuestro estudio, para cada una de las modalidades diagnósticas, y según el objetivo de diferenciar quistes mucinosos y no mucinosos, o benignos y malignos.

| | No Mucinoso vs. Mucinoso | | | | | Benigno vs Maligno | | | | |
|-------------------|--------------------------|------|-------|-----|-----|--------------------|------|-------|------|-----|
| | Acc | Sens | Espec | VPP | VPN | Acc | Sens | Espec | VPP | VPN |
| TAC-MD | 75% | 73% | 80% | 89% | 57% | 88% | 88% | 88% | 88% | 88% |
| RM | 56% | 44% | 71% | 67% | 50% | 87% | 66% | 100% | 100% | 83% |
| USE | 77% | 67% | 90% | 89% | 69% | 91% | 75% | 100% | 100% | 88% |
| CPP dilatado | | | | | | 65% | 50% | 78% | 67% | 64% |
| Nódulo > 5 mm | | | | | | 53% | 12% | 89% | 50% | 53% |
| Comp. sólido | | | | | | 76% | 50% | 100% | 100% | 69% |
| Adenopatías | | | | | | 65% | 25% | 100% | 100% | 60% |
| String-sign (LIQ) | 71% | 59% | 83% | 77% | 68% | | | | | |
| CEA-LIQ | 79% | 76% | 82% | 81% | 78% | | | | | |
| Glc-LIQ | 60% | 50% | 67% | 50% | 67% | | | | | |
| CA 19.9 suero | | | | | | 68% | 62% | 70% | 45% | 82% |

Tabla 33: Resumen del rendimiento diagnóstico de cada una de las modalidades de imagen, signos de riesgo (HRS/WF), string-sign y biomarcadores en suero y LIQ. Notas: Puntos de corte considerados para CEA, glucosa y CA 19.9 de 192 ng/mL, 50 mg/dL y 37 U/mL respectivamente. Abreviaturas: Acc: Accuracy o Precisión diagnóstica; CPP: Conducto pancreático principal; Espec: Especificidad; LIQ: Líquido intraquistico, RM: Resonancia magnética; Sens: Sensibilidad; TAC-MD: Tomografía axial computarizada-Multidetector; USE: Ultrasonografía Endoscópica; VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo.

Citología

Se realizó estudio citológico en un 43% (15/35) de las muestras totales de la cohorte a estudio.

En algo menos de la mitad (47%, 7/15), los hallazgos fueron compatibles con el diagnóstico definitivo. En el resto (53%, 8/15) la citología no aportó información al diagnóstico, o este fue erróneo:

- En 3 casos (20%, 3/15) por ser una muestra hipocelular.
- En los otros 5 (33%, 5/15) por error diagnóstico:
 - o De 6 LQP-Mm analizadas, en 3 casos no identificó malignidad (50% de error para identificar malignidad)
 - o De 8 LQP-M analizadas, en 2 casos no identificó cambios mucinosos (25% de error para identificar mucinosidad)

Tratamiento quirúrgico.

Casi la mitad de los pacientes (49%, 17/35) de la serie a estudio fueron intervenidos, y de todas las cirugías realizadas el 70,58% (12/17) fueron cirugías pancreáticas. Las técnicas quirúrgicas practicadas y el diagnóstico postquirúrgico de las LQP intervenidas fueron los siguientes:

- 6 pancreatectomías distales (PD): 2 MCN, 2 TPMI (benignos), 1PQ, 1 SMC.
- 6 duodenopancreatectomías cefálicas (DPC): 2 TPMIm, 2CAS, 1 ACDPq, 1 PQ (urgente por hemoperitoneo).
- 3 laparotomías exploradoras (intención curativa inicial, pero la cirugía reveló extensión tumoral): 2 ACDPq, 1 TPMIm.
- 2 quistogastrostomías: 2 PQ.

En al menos el 41% (7/17) del total de cirugías existió discrepancia entre la sospecha prequirúrgica y el diagnóstico definitivo postquirúrgico. No se pudo identificar un tipo o subtipo concreto de LQP en el que esta discrepancia fuese más habitual. Las lesiones en las que se objetivó fueron 1 MCN, 1 TPMI-BD, 1 PQ, 2 CAS, 1 SMC, 1 ACDPq.

Todas las cirugías (100%) se indicaron correctamente, bien por la presencia de síntomas atribuidos a la LQP, bien por tratarse de lesiones sospechosas con HRS o WF.

Se analizó la idoneidad de la cirugía pancreática tras el análisis de la pieza quirúrgica. Según la técnica empleada, se observó:

- En las 6 PD: Uno de ellos fue finalmente un PQ, los 5 restantes (83,33%) se confirmaron como LQP-M, pero solo 1/6 (20%) presentó DAG.
- En las 6 DPC: 3/6 (50%) se confirmaron como LQP-Mm. Del resto 2/6 (33%) fueron finalmente CAS y 1/6 (17%) fue una colección inflamatoria. Esta última fue una cirugía urgente (hemoperitoneo).

Respecto a las complicaciones postquirúrgicas:

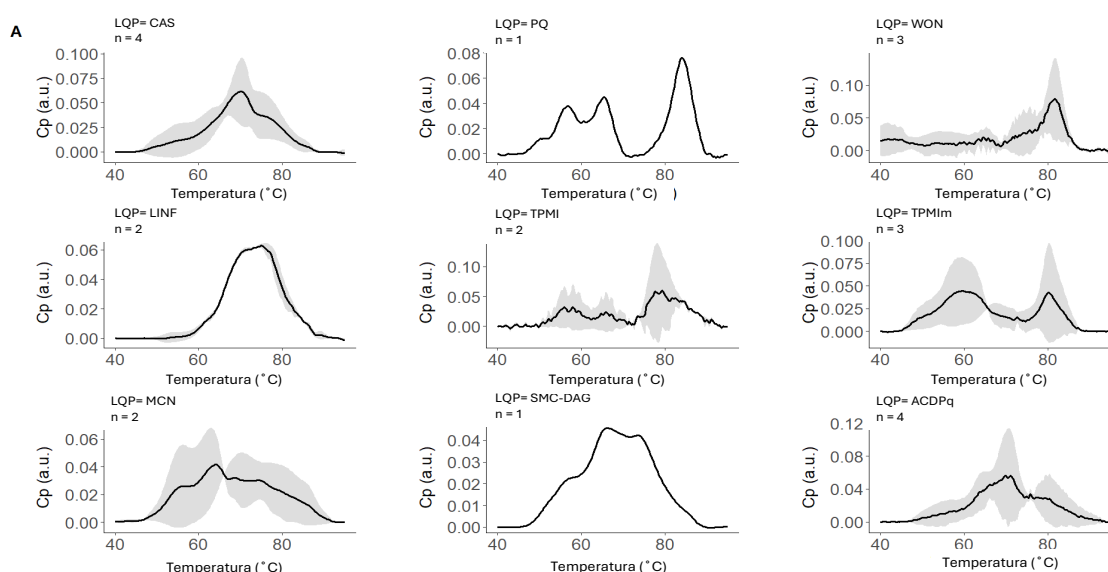
- Todas las complicaciones se observaron en cirugías pancreáticas (DPC o PD)
- Se produjeron en 7 pacientes, suponiendo el 41,17% (7/17) del total de cirugías, y el 58,33% (7/12) de las cirugías pancreáticas.
- Complicaciones menores (Clavien-Dindo: I-II): se observaron en 5 pacientes, todos ellos intervenidos de PD, suponiendo el 71% (5/7) del total de complicaciones y el 29,4% (5/17) del total de cirugías.
- Complicaciones mayores (Clavien-Dindo: III-V, siendo V el fallecimiento postcirugía): se observaron en 2 pacientes, los 2 fueron fallecimientos postcirugía y se produjeron tras DPC. Supusieron el 29% (2/7) del total de complicaciones y el 11,8% (2/17) del total de cirugías. Una de ellas fue una cirugía urgente por hemoperitoneo.

b. Termogramas.

A partir del análisis calorimétrico de cada una de las muestras de LIQ se obtuvieron sus termogramas, siguiendo la metodología comentada previamente.

Se agruparon los termogramas de los distintos quistes por tipo y subtipo, representándose en una única gráfica la media (línea continua) del conjunto, y la desviación estándar (en sombreado gris) de cada uno los termogramas normalizados individuales. Esto permitió observar gráficamente las variaciones inter e intraindividuales, y definir morfologías muy similares de los termogramas dentro de cada grupo de LQP. Para mayor exactitud, analizamos por separado los quistes con diagnóstico confirmado y los quistes con diagnóstico de alta probabilidad.

La imagen gráfica del termograma de cada grupo puede observarse en la siguiente figura:



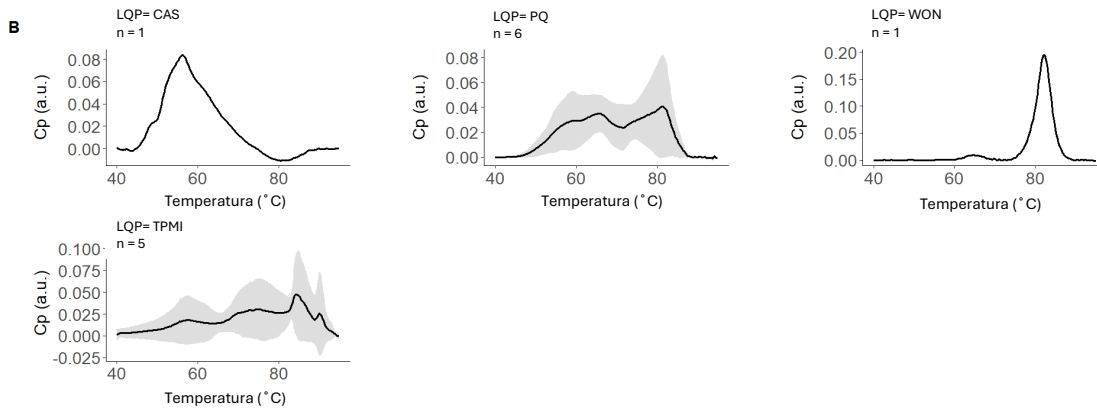


Figura 68: Media y desviación estándar de los termogramas normalizados de muestras de LIQ según el subtipo de lesión. A/ Quistes con diagnóstico confirmado; B/ Quistes con diagnóstico de alta probabilidad. Notas: Cp: exceso de capacidad calorífica; a.u.: unidades arbitrarias.

c. Resultados de los modelos iTLBq

Se trató de entrenar un modelo de clasificación que permitiese diferenciar las LQP-M de las LQP-NM mediante el análisis calorimétrico del LIQ. Este modelo se denominó iTLBq1

Modelo iTLBq1 (LQP-NM vs. LQP-M)

Entrenamiento del modelo.

La información para entrenar este modelo se obtuvo a partir de los termogramas normalizados de muestras de LIQ de LQP con diagnóstico confirmado. Estas suponían el 63% (22/35) del total de LQP de la cohorte a estudio. De todas ellas:

- El 45,5% (10/22) eran LQP-NM: 4 CAS, 2 LINF y 4 PQ (de los que 3 eran WON)
- El 55% (12/22) eran LQP-M: 5 TPMI (de los cuales, 3 TPMIm), 2 MCN, 4 ACDPq y 1 SMC-DAG

Los termogramas normalizados por el área pueden verse en la figura 69, con su curva media para cada grupo en línea continua (verde para LQP-NM y rojo para LQP-M) y sus desviaciones estándar representadas con el sombreado gris. En la gráfica de la derecha se representan ambas medias superpuestas, para mejor valoración de sus diferencias, detectables a simple vista. Las líneas discontinuas verticales señalan las temperaturas 55°C y 85°C, indicando la franja de temperaturas en la que se identificaron las diferencias más representativas y de donde se obtuvo la información para el entrenamiento del modelo de clasificación iTLBq1.

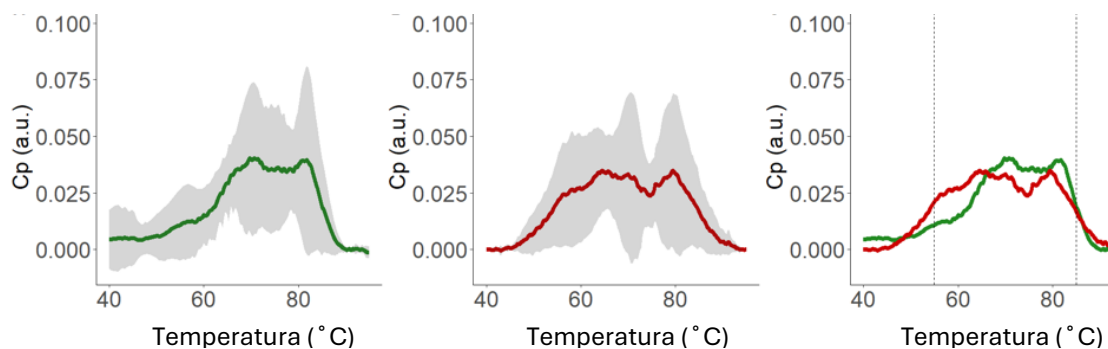


Figura 69. Representación de las medias de los termogramas normalizados por el área en cada uno de los grupos: a la izquierda LQP-NM en verde y en el centro LQP-M en rojo. El sombreado en gris representa la desviación estándar en cada grupo. A la derecha, ambas curvas se superponen y las líneas verticales discontinuas indican el rango de temperaturas utilizado para entrenar el modelo de clasificación iTLBq1 (55°C-85°C). Notas: Cp: exceso de capacidad calorífica; a.u.: unidades arbitrarias.

Siguiendo la metodología explicada previamente, a partir de la información obtenida en dichos termogramas se seleccionaron 2 parejas de temperaturas ($59^{\circ}\text{C} > 82^{\circ}\text{C}$ y $71^{\circ}\text{C} > 72^{\circ}\text{C}$) que mostraban mayores diferencias entre ambos grupos como variables predictoras, y se les asignaron los coeficientes en valor absoluto que se muestran en la figura 70. En la gráfica de la derecha, estas parejas de temperaturas se representan con un punto negro sobre las medias de los termogramas de cada grupo.

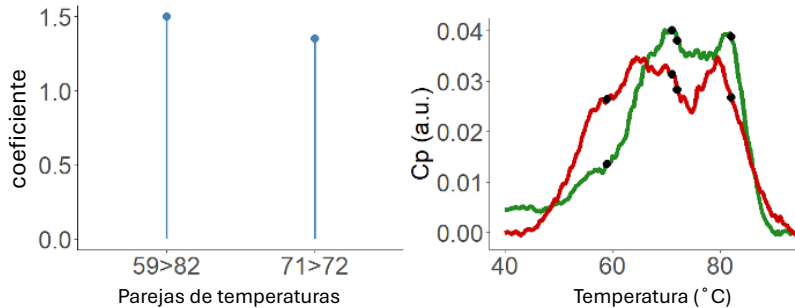


Figura 70. Resultados del modelo iTLBq1 obtenido para diferenciar los termogramas de LIQ de las LQP-NM vs. LQP-M. A/ Valor absoluto de los coeficientes del modelo iTLBq1 en cada una de las variables predictoras; B/ Representación de las medias de los termogramas normalizados en cada grupo (no mucinosos en verde y mucinosos en rojo) superpuestas entre sí, y marcado con puntos negros se representan las temperaturas utilizadas en el modelo iTLBq1. Notas: Cp: excess heat capacity; a.u.: arbitrary units.

El modelo asignaba a cada muestra de LIQ un valor numérico, y el punto de corte estándar se estableció en 0. Cuando el valor numérico era < 0 la lesión se clasificaba como LQP-NM. Cuando el valor numérico era > 0 , la lesión se clasificaba como LQP-M. Al considerar la respuesta del modelo iTLBq1 como una variable continua, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del resultado obtenido por el grupo LQP-NM ($-1.31 [-1.31; 0.04]$) y el grupo LQP-M ($1.54 [0.04; 1.54]$) (prueba de Wilcoxon: p-valor = 0.042) con un AUC de 0.79 ($IC_{95\%} = 0.59-0.99$). Estos resultados se muestran gráficamente en la figura 71.

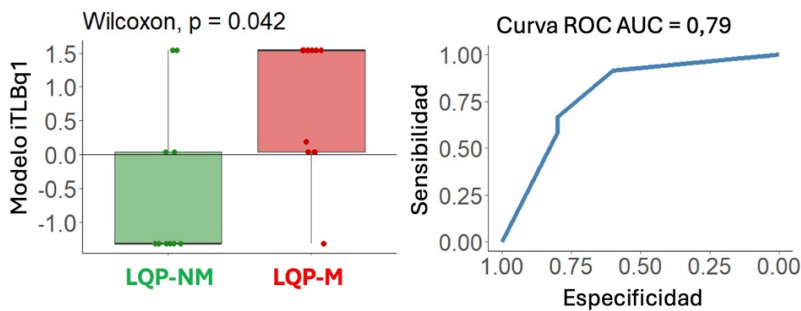


Figura 71. Resultados del modelo iTLBq1 obtenido para diferenciar los termogramas de LIQ de las LQP-NM vs. LQP-M. Izquierda: Diferencia de medianas del modelo iTLB1 en cada grupo (no mucinosos (LQP-NM) en verde y mucinosos (LQP-M) en rojo), representando en línea horizontal el punto de corte estándar de cero; Derecha: Área bajo la curva ROC; Notas: AUC: area under the curve; ROC: receiver operating characteristic.

Posteriormente se calcularon los índices de predicción del modelo, obteniendo los siguientes resultados (tabla 34):

- precisión diagnóstica del 77%
- sensibilidad del 92%
- especificidad del 60%
- VPP del 73%
- VPN del 86%

Es decir, el modelo iTLBq1 clasificó erróneamente a 4/10 LQP-NM y a solo 1/12 LQP-M.

| Modelo iTLBq1 | | | | | |
|---------------|--------------|---------------|-----|-----|--|
| | | < 0 | > 0 | | |
| No Mucinoso | | 6 | 4 | | |
| Mucinoso | | 1 | 11 | | |
| Precisión | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN | |
| 77% | 92% | 60% | 73% | 86% | |

Tabla 34. Resultados del modelo iTLBq1 obtenido para diferenciar los termogramas de LIQ de las LQP-NM vs. LQP-M. Arriba: Tabla de contingencia de la predicción. Abajo: rendimiento del modelo iTLBq1. Abreviaturas: iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy; VPN: valor predictive negative; VPP: valor predictive positivo.

Validación del modelo.

Posteriormente, el modelo iTLBq1 se validó en las muestras de LIQ del resto de LQP, es decir, aquellas con diagnóstico de alta probabilidad (n = 13, 8 LQP-NM y 5 LQP-M) establecido por consenso multidisciplinar. El modelo clasificó correctamente al 50% (4/8) de las LQP-NM (1CAS y 3 PQ), y al 60% (3/5) de las LQP-M (3 TPMI). En la figura 72 se representa la puntuación que el modelo iTLBq1 dio a cada tipo de lesión, considerando la totalidad de las muestras analizadas (tanto las de diagnóstico confirmado como las de diagnóstico de alta probabilidad).

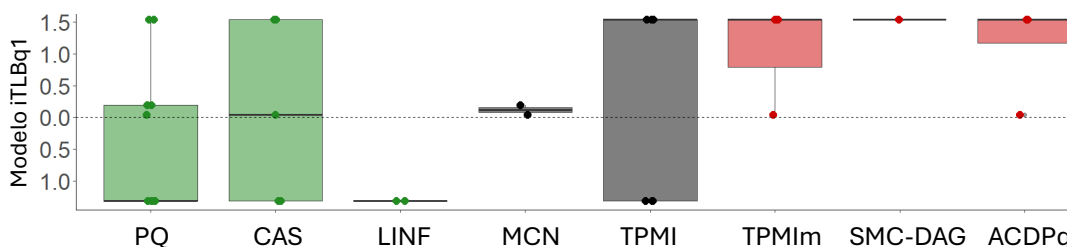


Figura 72: Clasificación de todas las LQP de la muestra, según el modelo iTLBq1, tanto diagnóstico confirmado como de alta probabilidad. LQP-NM (no mucinosas) en verde, LQP-Mb (mucinosas no malignas) en negro y LQP-Mm (mucinosas malignas) en rojo. Abreviaturas: PQ: pseudoquistes; CAS: Cistoadenoma seroso; LINF: lesión linfóide; MCN: Cistoadenoma mucinoso; TPMI: tumor mucinoso papilar intraductal (m: maligno); SMC-DAG: Simple Mucinous Cyst con displasia de alto grado; ACDPq: adenocarcinoma ductal pancreático con componente quístico.

Considerando el total de LQPs, entre entrenamiento y validación, el modelo clasificó erróneamente las siguientes lesiones:

- LQP-NM 8/18 mal clasificadas, de las cuales 5 fueron colecciones inflamatorias (PQ) y 3 CAS. Cinco de los 11 PQ del total de la muestra y 3 de los 5 CAS del total de la muestra fueron por tanto mal clasificados.
- LQP-M únicamente 3/17 mal clasificadas, que fueron 3 IPMN (3/10), siendo todos ellos benignos, es decir, todas las LQP-Mm se clasificaron correctamente como LQP-M.

En un segundo tiempo, se investigó la capacidad del modelo iTLBq1 para discriminar entre lesiones benignas y malignas, aplicándose exclusivamente sobre LQP-M (tanto diagnóstico confirmado como de alta probabilidad). Los resultados se muestran en la Figura 73. Como puede verse, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las LQP-Mb (0.189 [-1.313; 1.544]) y las LQP-Mm (1.544 [1.169; 1.544]), Wilcoxon test: p-valor = 0.180), de lo que se deduce que el modelo iTLBq1 no mostró utilidad para la identificación de malignidad.

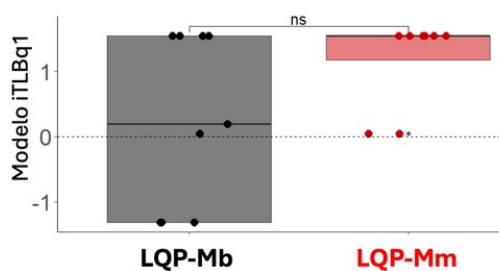


Figura 73: Clasificación del modelo iTLBq1 de las lesiones mucinosas benignas (LQP-Mb) frente a las lesiones mucinosas malignas (LQP-Mm). Abreviaturas: ns: no significativo.

Modelo iTLBq2 (LQP-Mb vs LQP-Mm)

El modelo iTLBq2 se construyó para discriminar entre LQP-Mb y LQP-Mm, al no haber encontrado el modelo iTLBq1 diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

Su ajuste se realizó con los termogramas normalizados del LIQ de las 17 LQP-M (71%, 12/17, con diagnóstico confirmado), de las cuales el 53% eran LQP-Mb (7 TPMI y 2 MCN) y el 47% restante eran LQP-Mm (3 TPMI, 1 SMC-DAG y 4 ACDPq). Dado el pequeño tamaño muestral, todas las lesiones mucinosas incluidas en el estudio se utilizaron en el entrenamiento del modelo, que no pudo por tanto validarse.

En la figura 74 se representan los termogramas de LIQ normalizados por el área en cada grupo de lesiones mucinosas: sus medias (en negro LQP-Mb y en rojo LQP-Mm) y con sus desviaciones estándar (sombreado gris). En la gráfica de la derecha, se superponen ambas medias, y análogamente al caso anterior, puede comprobarse que existen diferencias entre ellas detectables a simple vista. Se señala con líneas discontinuas verticales las temperaturas 55°C-85°C, que indican el intervalo de temperaturas utilizado para ajustar el modelo de clasificación iTLBq2, por identificarse en dicho intervalo las diferencias más representativas.

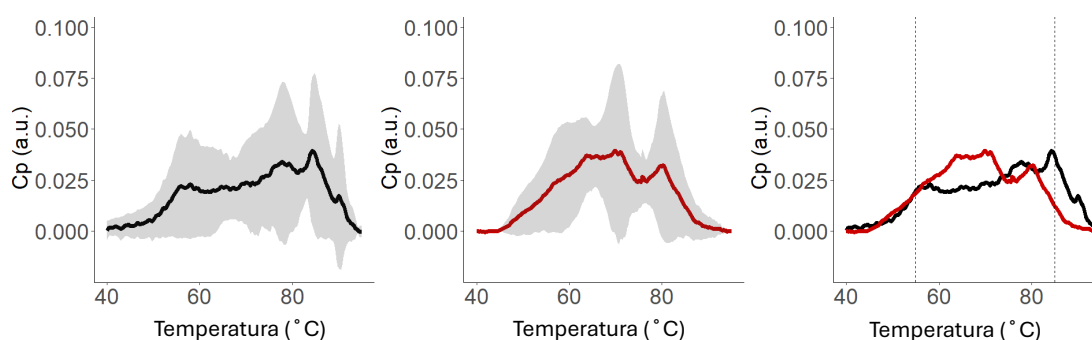


Figura 74. Representación de las medias de los termogramas normalizados por el área en cada uno de los grupos: a la izquierda LQP-Mb en negro y en el centro LQP-Mm en rojo. El sombreado en gris representa la desviación estándar en cada grupo. A la derecha, ambas curvas se superponen y las líneas verticales discontinuas indican el rango de temperaturas utilizado para entrenar el modelo de clasificación iTLBq2 (55°C-85°C). *Notas:* Cp: exceso de capacidad calorífica; a.u.: unidades arbitrarias.

Se obtuvo un modelo iTLBq2 para diferenciar las LQP-Mb y LQP-Mm, formado en este caso por tres parejas de temperaturas, que pueden observarse en la figura 75, junto a los coeficientes en valor absoluto asignados a cada una de ellas. Estas parejas de temperaturas también se pueden ver, representadas con un punto azul, sobre las medias de los termogramas de cada grupo en la gráfica de la derecha.

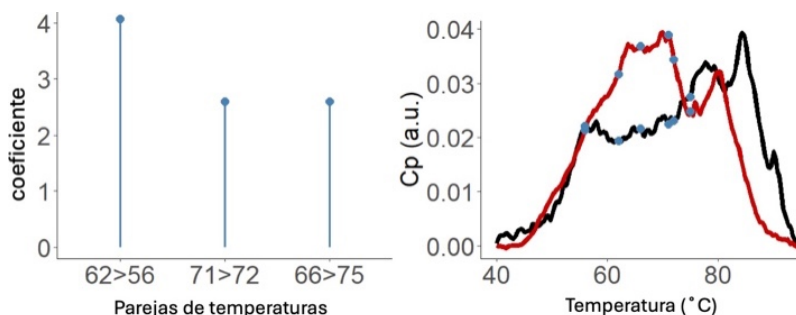


Figura 75: Resultados del modelo iTLBq2 obtenido para diferenciar los termogramas de LIQ de las LQP-Mb vs. LQP-Mm. Izquierda: Valor absoluto de los coeficientes del modelo iTLBq2 en cada una de las variables predictoras; Derecha: Representación de las medias de los termogramas normalizados en cada grupo (mucinosas benignas en negro, y mucinosas malignas en rojo) superpuestas entre sí, y marcado con puntos azules se representan las temperaturas utilizadas. *Notas:* Cp: excess heat capacity; a.u.: unidades arbitrarias.

Al considerar la respuesta del modelo iTLBq2 como una variable continua, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la mediana del resultado del modelo iTLBq2 entre el grupo de LQP-Mb (-2.17 [-3.30; -2.17]) y el grupo de LQP-Mm (1.90 [1.90;1.90]) (prueba de Wilcoxon: p-valor < 0.001) con un AUC de 1.00 (IC_{95%} = 1.00-1.00). Estos resultados se representan gráficamente en la figura 76.

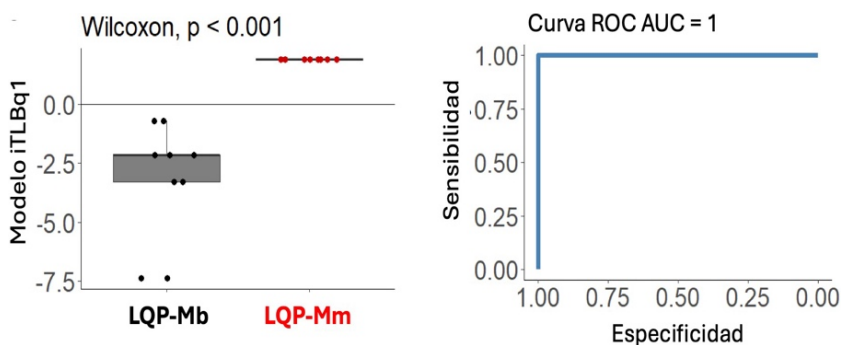


Figura 76. Resultados del modelo iTLBq2 obtenido para diferenciar los termogramas de LIQ de los pacientes con LQP-Mb vs. LQP-Mm. C/ Diferencia de medianas del modelo iTLBq2 en cada grupo (LQP-Mb en negro y LQP-Mm en rojo), representando en línea horizontal el punto de corte estándar; D/ Área bajo la curva ROC del modelo iTLBq2. Notas: AUC: area under the curve; iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy.

Como puede observarse en la figura superior izquierda, el modelo clasificó correctamente todos los quistes, siendo capaz de diferenciar perfectamente las lesiones benignas y malignas. Los índices de predicción del modelo fueron excelentes, con una precisión diagnóstica, sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del 100%, tal y como se muestra en la tabla 35.

| Modelo iTLBq2 | | | | |
|------------------|--------------|---------------|------|------|
| | | < 0 | > 0 | |
| Mucinoso benigno | | 9 | 0 | |
| Mucinoso maligno | | 0 | 8 | |
| Precisión | Sensibilidad | Especificidad | VPP | VPN |
| 100% | 100% | 100% | 100% | 100% |

Tabla 35. Resultados del modelo iTLBq2 obtenido para diferenciar los termogramas de LIQ de los pacientes con LQP-Mb vs. LQP-Mm. Arriba: Tabla de contingencia de la predicción. Abajo: Rendimiento del modelo iTLBq2. Abreviaturas: iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy; VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

DISCUSIÓN DEL ESTUDIO DE LQP

a. Análisis de las características sociodemográficas.

Las LQP son entidades patológicas de relevancia creciente en las últimas décadas, a medida que aumentan su incidencia y prevalencia que, además, lo hacen de forma progresiva con la edad, especialmente en mayores de 50 años (187). En la cohorte analizada, el 83% (29/35) de los pacientes son mayores de 50 años y dentro de ellos, el 45% (13/29) tiene 70 años o más.

El diagnóstico certero de estas lesiones, habitualmente indolentes, y muchas veces con un aspecto radiológico similar, supone hoy en día un auténtico desafío para el pancreatólogo. Se ha descrito que el análisis conjunto de los datos demográficos del paciente y sus antecedentes, junto con las características morfológicas definidas en estudios de imagen, pueden facilitar un diagnóstico preciso en hasta el 70% de los casos (453). Sin embargo, cuando nos encontramos ante pacientes asintomáticos y lesiones pequeñas, probablemente el escenario más frecuente en la práctica clínica, establecer este diagnóstico diferencial con las técnicas disponibles hoy en día, puede convertirse en una labor desafiante. Para ayudar en la toma de decisiones y homogeneizar el manejo de estas lesiones, en los últimos 20 años, se han publicado diferentes GPC, basadas fundamentalmente en opiniones de expertos y que no siempre se ponen de acuerdo en sus recomendaciones (236). Además, aquellas que gradúan la calidad de la evidencia en la que fundamentan sus recomendaciones, suelen definirla como baja, o muy baja (181–185).

La importancia clínica real de las LQP radica en su potencial de malignización, y la piedra angular de su manejo, es la identificación certera de aquellas con mayor riesgo, es decir, las LQP-M. Dentro de estas, poder reconocer, preferiblemente de forma precoz, aquellas que han iniciado su transformación maligna (DAG o CI), permitiría ofrecer al paciente la posibilidad de una resección quirúrgica curativa y de esta manera, mejorar el pronóstico de una enfermedad tan temida como el ACDP. Según algunos autores, el riesgo global de malignización de las LQP puede ser tan bajo como del 0,5-1,5%, con un riesgo anual de progresión del 0,5% (454,455). Por el contrario, hay estudios que estiman que hasta el 15% de todos los ACDP se originan en LQP-M (178,456,457). La cuestión es que estas lesiones son hoy en día los únicos precursores reconocibles mediante pruebas de imagen y su identificación correcta es una oportunidad única de prevenir o realizar *screening* precoz del ACDP, mediante el seguimiento de una lesión de riesgo identificada previamente.

La decisión quirúrgica, debe sin embargo sopesarse cuidadosamente, dado que, de forma global, los quistes benignos y de bajo riesgo son mucho más comunes, y la cirugía pancreática esta gravada con una importante morbimortalidad, como se ha analizado durante la introducción. Además, los pacientes con LQP son habitualmente pacientes sanos, asintomáticos y en general jóvenes (entre los 50 y los 70 años), lo que incrementa la inquietud del clínico por establecer una indicación errónea, dadas las indeseables consecuencias derivadas del error, en uno u otro sentido. Por si todo este contexto fuera insuficiente, no deben subestimarse la carga emocional (para el paciente) y económica (para el sistema sanitario) que suponen una evaluación continuada, una vigilancia durante años de seguimiento y una eventual cirugía profiláctica (458).

Hoy en día, la principal herramienta diagnóstica del pancreatólogo para manejarse en este complejo escenario, es el análisis conjunto de diferentes fuentes de información, cuando están disponibles. Los datos demográficos y antecedentes del paciente, los síntomas (si existen) atribuibles a la lesión, las características morfológicas de la misma en pruebas de imagen y el análisis de biomarcadores en LIQ son los más utilizados y disponibles. Otras opciones como los estudios genéticos o pruebas de endoscopia avanzada suelen ser de disponibilidad limitada, y en ocasiones se asocian a un riesgo no despreciable como la USE-TTNB o la USE-ELC. Actualmente no se conocen biomarcadores séricos capaces de discriminar eficazmente los distintos subtipos de LQP o que detecten precozmente su malignización, más allá del marcador tumoral Ca 19.9, de escasa sensibilidad y precisión diagnóstica limitada en los quistes pancreáticos.

Lamentablemente, la precisión de todas estas herramientas aún analizadas en conjunto está lejos de ser perfecta, y las decisiones diagnóstico-terapéuticas se toman, con frecuencia, con importante grado de

incertidumbre, en el seno de Comités de Tumores pancreáticos multidisciplinares y apoyándose en las recomendaciones de las GPC que, como ya hemos comentado, no son uniformes (236). La tabla 14 refleja estas variaciones en las pautas de seguimiento para LPQ pequeñas y no sospechosas, pero también existen discretas diferencias a la hora de definir los signos/síntomas de alarma que deben considerarse para plantear una resección quirúrgica. Muchas recomendaciones se basan en estudios retrospectivos que no tienen en cuenta factores específicos del tumor y del paciente. Y existen publicaciones que demuestran que las pautas de manejo indicadas por las distintas GPC presentan sensibilidades y especificidades variables para predecir la malignización de cada LQP. Por ejemplo, en un estudio de 269 pacientes con LQP reseçadas, se describió una sensibilidad del 7,3% y una especificidad del 88,2% para las guías de la AGA, una sensibilidad del 73,2% y una especificidad del 45,6% para las guías de la IAP/Fukuoka (2012), y una sensibilidad del 53,7% y una especificidad de 61% para las guías de la ACR (459).

Este escenario de imprecisión e incertidumbre hace imprescindible el desarrollo de técnicas con mayor precisión diagnóstica, idealmente mínimamente invasivas, sencillas en su realización, que no requieran de un entrenamiento complejo, que no presenten importantes variaciones interobservador, y que no supongan una gran inversión económica para facilitar su disponibilidad. Conseguir una técnica que cumpla estos requisitos simplificaría la toma de decisiones diagnóstico-terapéuticas, evitaría riesgos quirúrgicos innecesarios, y reduciría la sobrecarga asistencial y económica derivada de seguimientos ambulatorios prescindibles, evitando sobrecostes sanitarios, sin olvidar el descanso psicológico que supondría para muchos pacientes.

Con algunas diferencias entre las distintas series publicadas, considerando todas las LQP, las colecciones inflamatorias son las más frecuentes (entre el 75-80%) (197) seguidas por las neoplasias quísticas (NQP) el 10-15% (188), quedando un escaso porcentaje del 5-10% para el resto de neoplasias infrecuentes con degeneración quística y otras lesiones quísticas sin potencial maligno (quiste linfoepitelial (0,5%), lesiones congénitas, quistes de retención, linfangiomas, etc.). Entre las lesiones benignas, las dos más prevalentes son los PQ y los CAS (281).

Dentro de las NQP, es decir, lesiones epiteliales, las LQP-M son las más frecuentes, con predominio de las TPMI (hasta un 70%), especialmente los subtipos TPMI-BD (40-65% del total de TPMI (206)), seguidas por las MCN y los CAS, con frecuencias variables entre series, de un 10-25% para los MCN, y un 10-16% para los CAS (209,238). Como ya hemos comentado, el riesgo de malignización está intrínsecamente ligado a cada tipo de lesión, y los datos son ligeramente variables entre las distintas series. De mayor a menor riesgo, podría resumirse con el siguiente orden: TPMI-CP: 33-85%, TPMI-RS: 1-38%, MCN: 10-37%, CAS: 1%, PQ: 0% (281).

En series quirúrgicas, aunque también con ligeras variaciones, las NQP más reseçadas son las mucinosas (38% TPMI, 23% MCN), seguidas por el CAS (16%), los pancTNEq (7%) y los TSSPq (3%). Las TPMI pueden llegar a ser responsables de hasta un 10-20% del total de resecciones pancreáticas (209). Al analizar el acierto de la indicación quirúrgica, algunas estimaciones indican que hasta el 20-30% de los PQ son innecesariamente intervenidos por ser interpretados erróneamente como NQP malignizadas (236,237), y hasta el 60% de las indicaciones quirúrgicas que se realizaron en CAS fueron debidas a un diagnóstico prequirúrgico erróneo (460).

En nuestra serie de LQP, la más frecuente fue el PQ (31%, 11/35), seguida de cerca por los TPMI (29%, 10/35). La clara predominancia de los PQ frente a las TPMI descrita en series generales desaparece, como consecuencia del sesgo de selección inherente a nuestro reclutamiento de pacientes, por la inclusión exclusiva de quistes con indicación de USE-PAAF, por cuestiones éticas. Considerando únicamente las lesiones benignas, el PQ (40%, 11/27) seguido por el CAS (18%, 5/27) fueron predominantes, coincidiendo con los datos de la literatura publicada. Si hablamos únicamente de NQP, es decir, de lesiones epiteliales, las TPMI resultaron el quiste más frecuente (45%, 10/22), seguidas por los CAS (22%, 5/22) y los MCN en tercera posición (9%, 2/22). Llama la atención el "sorpasso" de los CAS con respecto a los MCN, que podría presentar 2 justificaciones: por un lado, las escasas diferencias observadas en otras series publicadas plantea la duda de una clara predominancia de MCN sobre CAS en frecuencias absolutas, y por otro lado, todos los CAS incluidos en nuestra cohorte presentaron en su mayoría síntomas (dolor o debut diabético) o signos de alarma (tamaño > 4cm, engrosamiento de sus paredes) que condujeron al estudio mediante USE-PAAF, lo que, una vez más, condiciona en nuestra cohorte un cierto sesgo de selección de casos.

Con relación a las lesiones malignas, en el estudio presentado fueron 8 en total suponiendo el 23% (8/35) de la cohorte al completo. Todas ellas fueron LQP-M, y dentro de este grupo supusieron un 48%

(8/17). Según su análisis AP, sus diagnósticos específicos fueron: 4 ACDPq, 3 TPMI_m y 1 SMC-DAG. Ninguna de las 2 MCN presentaron evidencia de malignización, al igual que ninguno de los 5 CAS, confirmando en el primer caso su menor riesgo, incluso inexistente en el segundo. En general, se trata de un porcentaje de lesiones malignas elevado, lo que explicamos una vez más por nuestro particular sesgo de selección.

Considerando de forma específica las TPMI, en nuestra serie el 60% fueron TPMI-RS (6/10), el 20% TPMI-Mx (2/10) y otro 20% TPMI-CP (2/10). El 30% del total de TPMI eran malignas (3/10), de las cuales una era de cada subtipo específico (1 TPMI-RS, 1 TPMI-Mx y 1 TPMI-CP). Estos porcentajes confirmarían el mayor riesgo de degeneración maligna descrito para los subtipos TPMI-CP y TPMI-Mx frente al subtipo TPMI-RS (50%, 50% y 16% respectivamente).

En relación con los datos demográficos y de localización intrapancreática de las lesiones, nuestros resultados suscriben también los porcentajes descritos en series publicadas para cada tipo y subtipo:

- PQ: tamaño entre 33-85 mm, edad entre 49-75 años, 73% sexo masculino, sin clara predominancia entre cuerpo y cola (55/45)
- TPMI: tamaño entre 25-35 mm, edad media 68 años, ligero predominio masculino (60%), con localización variable, algo más frecuente en cabeza (60/40)
- MCN: tamaño entre 30-31 mm, edad media 39 años, 100% sexo femenino, 100% localización distal (cola)
- CAS: tamaño entre 40-45 mm, edad media 72 años (entre 60-86 años), 80% sexo femenino, sin clara predominancia entre cabeza y cuerpo-cola (60/40)
- SMC: un único caso de 58mm, sexo femenino, 55 años, localizado en cola pancreática.
- LINF: dos únicos casos, uno de ellos de 49 mm, sexo femenino, 52 años, localizado en cabeza; el otro de 47 mm, sexo masculino, 59 años, localizado en cuerpo.

Así, una vez analizadas minuciosamente las características de la serie a estudio, se concluyó que, a pesar de su pequeño tamaño muestral y el posible sesgo de selección derivado del reclutamiento, se trataba de una serie equilibrada y representativa del escenario real, con presencia de los principales y más relevantes subtipos, incluyendo también algunos infrecuentes como MCN y CAS, e incluso extremadamente infrecuentes, como las lesiones linfoides y un SMC. Su distribución en lo que a características sociodemográficas se refiere, también es coherente con los datos de la literatura, así como la tendencia observada a la malignización. Como inconvenientes, la cohorte no tiene representación de lesiones del tipo pancTSSPq ni pancTNEq, por otro lado muy infrecuentes, y que en general son de identificación algo menos compleja, por presentar morfología un poco más específica en pruebas de imagen, opciones diagnósticas radiológicas adicionales como la gammagrafía en los pancTNEq, y porque la citología (junto con la aplicación de inmunotinciones características) presenta un mejor rendimiento diagnóstico comparativamente con el resto de LQP (hasta un 71% para el pancTNEq e incluso superior en los pancTSSPc), tal y como se ha descrito durante la introducción (288,461).

Entre todas las LQP de la cohorte, existen 2 variantes sobre las que merece la pena detener momentáneamente la atención: el ACDPq y el SMC.

Con relación al ACDPq, es importante comentar que todos aquellos ACDP considerados en esta serie parten de un diagnóstico inicial de LQP por su evidente componente quístico en pruebas de imagen. El análisis AP y resultados de pruebas radiológicas complementarias confirmaron posteriormente su naturaleza maligna. Como se ha comentado detalladamente en la introducción, cuando se identifica un ACDP con componente quístico (ACDPq), existen diferentes posibilidades diagnósticas: que se trate de un ACDP con degeneración quística (necrosis y hemorragia), que se trate de una ACDP en patrón de conducto grande o *large-duct pattern*, o que se trate de una LQP-M (TPMI o MCN) malignizada. Identificar el origen exacto entre estas tres opciones, ante una imagen quística con componente sólido asociado y estudio AP compatible con adenocarcinoma, es una tarea complicada. Pero es sabido que la transformación maligna del ACDP "clásico" a partir de PanINs y la de las LQP-M, siguen una misma secuencia adenoma-carcinoma, y también que suelen compartir mutaciones genéticas como *KRAS*, por lo que sería esperable encontrar similitudes en el análisis del LIQ obtenido (204). Esto ha llevado a considerar todas estas lesiones en conjunto para el análisis calorimétrico ya que parece fisiopatológicamente compatible y, además, refleja la realidad en la forma de identificarlas en la práctica clínica habitual.

Con relación al SMC, se trata de una lesión infrecuente, escasamente descrita en la literatura y que, además en este caso, presenta DAG confirmada histológicamente, lo que la hace si cabe, un poco más interesante. A pesar de la escasa información existente, se ha descrito que los SMC son más frecuentes

en el sexo femenino, y que su naturaleza es mucinosa, pero con revestimiento no papilar (epitelio mucinoso “plano”), sin estroma de tipo ovárico y sin conexión con el CPP, de localización habitualmente distal (198,200,216). Frecuentemente se confunden con otras NQP-M más habituales (TPMI y MCN). La mayoría de los autores las han considerado lesiones benignas, existiendo únicamente una descripción en la literatura de su posible malignización (216). En nuestro caso, se trataba de una paciente de sexo femenino de 55 años, asintomática, remitida desde otro centro hospitalario periférico. El quiste era conocido desde hacía 24 años y se encontraba en seguimiento mediante pruebas de imagen, dada la estabilidad inicial de la lesión (durante unos 20 años de seguimiento) y la ausencia de síntomas. En los últimos años se venía objetivando crecimiento en los controles programados, hasta alcanzar los 58mm (aproximadamente 25-30mm en 3 años), sin otros HRS/WF. Se decidió en nuestro centro la resección quirúrgica (PD), y el análisis AP posterior confirmó la existencia de DAG, así como su resección radical. Esta precoz transformación maligna era sin duda la responsable del crecimiento objetivado. El pronóstico posterior de la paciente ha sido excelente. Por tanto, la conclusión de esta investigación es que los SMC deben considerarse auténticas lesiones mucinosas premalignas, aunque el riesgo de malignización específico requiere, obviamente, un análisis más profundo con un número de casos suficiente. Este caso tan particular se encuentra actualmente pendiente de su publicación en una revista científica.

b. Discusión sobre la sintomatología.

En la serie estudiada destaca el predominio de pacientes sintomáticos (69%) de forma global, pero también en los distintos tipos de LQP: 67% (12/18) de todas las LQP-NM y 71% (12/17) de todas las LQP-M. Este resultado, aparentemente contradictorio con el habitual carácter indolente de las LQP, tiene como fundamental razón el elevado porcentaje de lesiones inflamatorias, muchas de ellas con PC subyacente, y el elevado porcentaje de lesiones malignas, confirmándose en nuestra serie que las lesiones sintomáticas presentan un alto riesgo de malignización.

En relación con el síntoma o síntomas más frecuentes en cada grupo, se observaron las siguientes diferencias:

- Entre las LQP-NM: el síntoma más frecuente y prácticamente el único referido fue el dolor
- Entre las LQP-M: el dolor fue el síntoma más frecuente entre las lesiones benignas (LQP-Mb), y una TPMI-RS que debutó en forma de PA. Entre las lesiones malignas (LQP-Mm), sin embargo, la ictericia y la pérdida de peso fueron más frecuentes, confirmando su utilidad como indicadores significativos de malignidad. En la mayoría (75%) de los pacientes con ictericia, la localización de la LQP era proximal (cabeza). En el 100% de los casos, las lesiones que presentaron ictericia eran malignas.

Merece la pena comentar también el debut diabético, considerado por las GPC como un WF clínico (181), y que se confirma como tal en nuestra serie, observándose en el 37% (3/8) de las lesiones malignizadas. Las otras dos lesiones que presentaron debut diabético fueron CAS, ambos de tamaño superior a los 40mm y localizados en cabeza pancreática. Estas observaciones coinciden con las descritas en un estudio multicéntrico reciente que incluyó 2622 CAS, y que describió a la DM como el tercer síntoma más frecuente en estos quistes cuando son de gran tamaño (5% de casos), por detrás del dolor abdominal inespecífico y de los síntomas pancreatobiliares (238).

c. Discusión sobre el rendimiento de modalidades diagnósticas: LQP-NM vs. LQP-M.

Para identificar la naturaleza mucinosa de una LQP, habitualmente se utilizan pruebas de imagen (TAC-MD, RM/CPRM y USE), en LIQ se observa si el *string-sign* está presente o se analiza la concentración de CEA y glucosa. Cuando están disponibles, también puede considerarse la presencia o ausencia de mutaciones genómicas que indican mucinosidad (*KRAS* y *GNAS*).

El *work-up* diagnóstico suele iniciarse con las pruebas de imagen que pueden describir determinadas variables morfológicas características de cada tipo y subtipo de LQP (ver tabla 11). Sin embargo, esto depende en buena medida de la habilidad del observador, especialmente en lesiones pequeñas, y no están presentes en todos los casos. Esto hace que la precisión diagnóstica de las pruebas de imagen por sí mismas sea limitada para el diagnóstico del tipo específico de LQP, aunque esta suele mejorar cuando se combinan entre sí. En la literatura, la precisión diagnóstica global descrita para las modalidades de imagen más avanzadas es variable y relativamente baja, situándose entre el 47-78% (181). En un metaanálisis publicado en el año 2020, la TAC-MD mostró una precisión de sólo el 39-45% (260), aunque en otras publicaciones también relativamente recientes, la precisión mejoró oscilando entre el 40-81% (261). En nuestra serie, la precisión diagnóstica del TAC-MD para el diagnóstico diferencial entre LQP-M y LQP-NM fue del 75%, ajustándose a los estándares descritos.

Aunque el rendimiento de TAC-MD y RM suelen considerarse equivalentes, en la literatura la precisión diagnóstica descrita para la RM se sitúa en torno al 40-95%, atribuyéndole mejor resolución y sensibilidad (261). En nuestra serie, la precisión diagnóstica de la RM fue del 56%, cifra que aun estando dentro del límite inferior descrito en la literatura, no supuso ninguna ventaja diagnóstica respecto al TAC-MD, sino más bien al contrario. Estos resultados probablemente reflejan la idiosincrasia concreta de nuestro centro hospitalario para manejar la lista de espera de pacientes pendientes de RM/CPRM, siendo frecuente la derivación a centros externos que realizan la exploración con equipos de menor resolución, en dispositivos móviles y sin acceso al historial médico del paciente, realizando el radiólogo un informe telemático.

Con relación a la USE convencional, que es la disponible en el centro en el que se realizó este estudio (HCULB), la precisión diagnóstica notificada en la literatura es también variable, entre 48-94% (182,270). En nuestra serie, la precisión diagnóstica observada se situó en torno al 77%, manteniéndose en niveles intermedios en comparación con los datos publicados. De momento, no se dispone de otras técnicas avanzadas (HC-USE, TTNB-USE o n-CLE) que puedan mejorar esta precisión del simple análisis morfológico.

La presencia de *string sign* (filancia del LIQ) se considera, como ya se ha comentado, prueba de mucinosidad de una LQP. Su precisión diagnóstica publicada se sitúa en torno a un 70% (292). En la cohorte a estudio, este signo se describió como positivo solo en el 59% de las LQP-M, y en el 16% de las LQP-NM fue falsamente positivo. Con estos resultados, la precisión calculada fue del 71%, situándose en la línea de lo descrito por la literatura (292).

Entre los marcadores bioquímicos del LIQ, los dos habituales en el diagnóstico diferencial entre LQP-M y LQP-NM son el CEA (> 192 ng/mL) y la glucosa (< 50 mg/dL). La precisión diagnóstica señalada por la literatura para ambos es del 80% (294) y el 89% (298) respectivamente, con superioridad de la glucosa sobre el CEA. En la serie analizada, la precisión diagnóstica calculada para el CEA coincide con los datos publicados y se sitúa en el 79%. En una reciente revisión sistemática y metaanálisis, el CEA presentó una baja sensibilidad, pero una mayor especificidad para LQP-M de 58% and 87% respectivamente (297), obteniendo en la cohorte a estudio mayor sensibilidad y algo menor especificidad (76% y 82%). Sin embargo, y a pesar de este resultado, más que aceptable, sigue estando lejos de ser un marcador perfecto de mucinosidad. En la literatura está descrito que hasta el 30% de las TPMI pueden presentar niveles inferiores a 192 ng/mL (462). En la cohorte estudiada esto se ha observado en el 20% de las TPMI y el 50% de las MCN. Otras publicaciones recientes generan dudas sobre la idoneidad del punto de corte (294), observando que con valores más altos únicamente aumenta la especificidad a costa de disminuir todavía más la sensibilidad y sin observar correlación alguna con el riesgo de malignización. También hay autores que sugieren que su precisión diagnóstica podría ser mayor para para identificar MCN, basándose en la hipótesis de que, en los TPMI, la comunicación con el CPP, cuya secreción es rica en agua y bicarbonato, podría diluir su concentración, dando lugar a un mayor número de falsos negativos, incluso superior al 30% referido por el anterior estudio (296). Otros estudios han evaluado la repetición de su determinación

durante el seguimiento de LQP, observando que hasta un 20% de las lesiones cambiarían de clasificación según el valor de control del CEA, sin existir cambios a nivel morfológico (320). En cualquier caso, lo que es seguro es que no es un marcador que permita diferenciar entre TPMI y MCN, y que no es válido como marcador de malignidad (294).

Con relación a la glucosa, esta investigación encontró un rendimiento llamativamente bajo, con una precisión diagnóstica en torno al 60%, una sensibilidad del 50% y una especificidad del 67%. Estos resultados resultan muy diferentes a la información que proviene de publicaciones recientes, y se interpretan como un sesgo del estudio que puede llevar a confusión, probablemente secundario al escaso número de pacientes en los que se analizó la concentración de glucosa en la serie analizada. Como se ha explicado en el apartado de material y métodos, el período de reclutamiento del estudio fue largo (entre enero de 2016 y mayo de 2023) y la evidencia a favor de la utilidad de la glucosa como marcador de mucinosidad es relativamente reciente. Esto llevó a un retraso en su incorporación a la práctica clínica y, por tanto, sólo se determinó en las LQP que se recogieron en los últimos meses de reclutamiento.

El análisis genómico también puede facilitar la identificación de LQP-M y LQP-NM, encontrándose la mayor evidencia en TPMI. Para la identificación de mutaciones *KRAS*, también características del ACDP, se han descrito especificidades elevadas (76-96%) a costa de una baja sensibilidad (45-46%) (302). Esto es debido a que la mutación *KRAS* no es exclusiva de TPMI, sino que también aparece en otras LQP-M como las MCN. Y las mutaciones *GNAS*, que parecen más específicas, son menos frecuentes, apareciendo únicamente en un 55% de los casos. Cuando la mutación *KRAS* se combina con la mutación *GNAS*, su rentabilidad mejora considerablemente, con una precisión diagnóstica del 94%, una sensibilidad del 79-91% y una especificidad del 97% (303). Esto es debido a que prácticamente el 85% de los TPMI presenta al menos una de las 2 mutaciones, pero sólo el 50% presenta ambas simultáneamente. En el caso de los MCN, también pueden presentar mutaciones en el oncogen *KRAS*, aunque solo lo hacen en el 35% de los casos, y no se relacionan con mutaciones *GNAS*. Los CAS presentan mutaciones en el gen *VHL* con una sensibilidad limitada (56%) pero muy específica (99%) (297). Estas mutaciones únicamente ayudan a clasificar el tipo de LQP, pero no sirven para seleccionar aquellos con mayor riesgo de malignizar y su principal inconveniente diagnóstico es su todavía limitada disponibilidad, como ocurre en el centro hospitalario donde se realizó este estudio. Por esta razón no ha sido posible definir el rendimiento de esta herramienta en la serie estudiada.

d. Discusión sobre el rendimiento del Modelo iTLBq1 (LQP-NM vs. LQP-M)

El modelo de clasificación iTLBq1 se elaboró por el grupo de investigación para investigar su utilidad como herramienta diagnóstica en la diferenciación entre LQP-M vs LQP-NM, y compararlo con las técnicas diagnósticas previamente comentadas. El rendimiento diagnóstico observado para el mismo fue el siguiente:

- exactitud diagnóstica del 77%
- sensibilidad del 92%
- especificidad del 60%
- VPP de 73%
- VPN de 86%
- AUC de 0.79.

Como puede observarse en la tabla 36, el modelo iTLBq1 destacó por su mejor sensibilidad y VPN comparativamente con el resto de herramientas diagnósticas analizadas. Con relación a la precisión o exactitud diagnóstica, se situó a nivel de la USE, y solo se vio superado por el CEA. Es importante comentar aquí de nuevo que, debido al posible sesgo derivado de la incorporación tardía de la glucosa en la serie a estudio, no sería prudente concluir que el modelo iTLBq1 la supere en términos de rendimiento diagnóstico, siendo en este caso más real la comparativa con la precisión diagnóstica atribuido a la glucosa en las distintas publicaciones.

| | No Mucinoso vs. Mucinoso | | | | | Benigno vs Maligno | | | | |
|-------------------|--------------------------|------|-------|-----|-----|--------------------|------|-------|------|-----|
| | Acc | Sens | Espec | VPP | VPN | Acc | Sens | Espec | VPP | VPN |
| TAC-MD | 75% | 73% | 80% | 89% | 57% | 88% | 88% | 88% | 88% | 88% |
| RM | 56% | 44% | 71% | 67% | 50% | 87% | 66% | 100% | 100% | 83% |
| USE | 77% | 67% | 90% | 89% | 69% | 91% | 75% | 100% | 100% | 88% |
| CPP dilatado | | | | | | 65% | 50% | 78% | 67% | 64% |
| Nódulo > 5 mm | | | | | | 53% | 12% | 89% | 50% | 53% |
| Comp. sólido | | | | | | 76% | 50% | 100% | 100% | 69% |
| Adenopatías | | | | | | 65% | 25% | 100% | 100% | 60% |
| String-sign (LIQ) | 71% | 59% | 83% | 77% | 68% | | | | | |
| CEA-LIQ | 79% | 76% | 82% | 81% | 78% | | | | | |
| Glc-LIQ | 60% | 50% | 67% | 50% | 67% | | | | | |
| CA 19.9 suero | | | | | | 68% | 62% | 70% | 45% | 82% |
| Modelo iTLBq1 | 77% | 92% | 60% | 73% | 86% | | | | | |

Tabla 36. Resumen del rendimiento diagnóstico de cada una de las modalidades de imagen, signos de riesgo y biomarcadores en suero y LIQ, añadiendo en la última fila el modelo iTLBq1. *Notas:* Puntos de corte considerados para CEA, glucosa y CA 19.9 de 192 ng/mL, 50 mg/dL y 37 U/mL respectivamente. *Abreviaturas:* Acc: Precisión diagnóstica; CPP: Conducto pancreático principal; Espec: Especificidad; iTLBq1: intelligence Thermal Liquid Biopsy, LIQ: Líquido intraquístico, Sens: Sensibilidad; VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo.

Obviamente, no fue posible comparar el rendimiento del modelo iTLBq1 con estudios no disponibles en nuestro medio, como el análisis genómico. Por ello, el siguiente paso fue realizar la comparativa con los rendimientos diagnósticos descritos en la literatura, incluyendo el análisis genómico. Esta comparativa puede verse resumida en la tabla 37:

| | TAC-MD | RM | USE | String-Sign | CEA-LIQ | Glc-LIQ | Genómica | iTLBq1 |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------|
| Precisión diagnóstica literatura | 40-81% (261) | 40-95% (261) | 48-94% (270) | 70% (292) | 80% (294) | 89% (298) | 94%* (303) | ----- |
| Precisión diagnóstica serie | 75% | 56% | 77% | 71% | 79% | 60% | ----- | 77% |

Tabla 37. Comparativa de la precisión diagnóstica del modelo iTLBq1 observada en nuestra investigación, con la precisión diagnóstica de las diferentes modalidades, en nuestra serie y según descripción en la literatura (entre paréntesis se indica la referencia bibliográfica). *Resultados para la combinación de KRAS y GNAS, sólo presente en el 50% de las TPMI.

Como puede deducirse de la observación de la tabla, en comparación con la literatura, el modelo iTLBq1 solo se ve claramente superado por la concentración de glucosa en LIQ y el análisis genómico (exactitud diagnóstica de 89% y 94% respectivamente). En el resto de las modalidades diagnósticas, existe una importante variabilidad en las cifras aportadas por las distintas series, y aunque los límites superiores también superan la rentabilidad del modelo iTLBq1, los límites inferiores descritos están claramente por debajo, y en la muestra del estudio la rentabilidad se sitúa en posiciones intermedias, que el modelo equipara e incluso supera, a excepción de la RM, sobre la que ya se ha comentado el resultado.

La determinación de glucosa en LIQ tiene ventajas importantes, como el requerimiento de un escaso volumen para su determinación, o la posibilidad de realizarse “a pie de cama” del paciente utilizando un simple glucómetro, haciendo de ella una técnica sencilla y económica. Sin embargo, en la literatura se describen posibles errores en su lectura hasta en el 22% de los casos, especialmente cuando se realiza en muestras de elevada viscosidad que, por otro lado, es una característica propia del fenotipo mucinoso (463). Y también existe evidencia de resultados confusos en diferentes tipos de LQP, como los pancTNEq o las colecciones inflamatorias, con casi un 30% de falsos positivos descritos en PQ (464). Según estos

estudios, la glucosa actúa como un buen marcador cuando se comparan NQP-M vs. NQP-NM (es decir TPMI/MCN frente a CAS), pero no parece tan eficaz cuando se compara con LQP de naturaleza diferente (464).

El análisis genómico es una de las herramientas más prometedoras para la tipificación de LQP, que probablemente será capaz de aportar en un futuro a corto-medio plazo valiosísima información para mejorar su caracterización y tomar decisiones diagnóstico-terapéuticas. Sin embargo, presenta algunos inconvenientes como su relativamente baja sensibilidad dada la escasa celularidad en las muestras de LIQ (aunque mejora al combinar mutaciones), su coste, y lo más importante, su limitada disponibilidad en los centros sanitarios, incluso de tercer nivel. Además, la cantidad de LIQ necesaria para los estudios avanzados suele ser superior a los 2 mL, y la calidad del material genético de la muestra puede verse influenciada por la técnica de extracción, el tipo y el tamaño de la LQP.

Frente a ambas, el modelo iTLBq1 es una técnica sencilla, que precisa de una mínima cantidad de LIQ (< 1 mL), y cuyo resultado no se ve alterado por las características de este, como la viscosidad. No presenta ninguna variabilidad inter-observador ni requiere de un entrenamiento complicado. Además, resulta una técnica barata, cuyo coste estimado no supera al de una analítica rutinaria.

Finalmente, también se valoraron detenidamente las lesiones mal caracterizadas por el modelo iTLBq1, con el objetivo de identificar factores comunes que justificasen el error. Primero se analizaron los errores cometidos en el grupo de entrenamiento, y posteriormente en el de validación.

En el grupo de entrenamiento, constituido por las LQP con diagnóstico confirmado AP, el modelo clasificó erróneamente 4 LQP, concretamente 3 CAS (de los 4 incluidos en este grupo) y 1 TPMI benigna. Esta observación se interpretó como un posible reflejo de la capacidad que tiene el análisis calorimétrico para detectar la diferente composición del LIQ en los CAS, comparativamente con el resto de LQP-NM (PC y lesiones linfoides). Debido al pequeño tamaño muestral, la metodología de este estudio ha intentado clasificar homogéneamente todas las LQP-NM, siendo esta además la clasificación clínicamente más útil. Sin embargo, es evidente que, aun siendo todas ellas LQP-NM, existen grandes diferencias en la composición de su LIQ y que, por tanto, lograr un modelo que las unifique es un reto complejo de alcanzar. Esta hipótesis sobre la capacidad de la calorimetría para identificar estas diferencias se afianza mediante la observación y comparación de las diferentes morfologías de los termogramas cuando se agrupan por subtipos de LQP, y se representan mediante su media y su desviación estándar (figura 68). En general puede observarse una importante homogeneidad dentro de cada subtipo, y llamativas diferencias entre ellos. Esto hace probable que, con un mayor tamaño muestral, sea posible entrenar un modelo capaz de discriminar eficazmente incluso los distintos subtipos de LQP-NM a partir de la información que se obtiene de sus termogramas. Este es uno de los objetivos futuros en nuestra línea de investigación, que ya está en marcha.

En el grupo de validación, constituido por las LQP con diagnóstico de alta probabilidad establecido por consenso multidisciplinar, el modelo clasificó erróneamente 7 LQP, concretamente 5 PQ y 2 TPMI benignas. Los 5 PQ estaban asociados a inflamación pancreática severa (PC evolucionadas o PA necrohemorrágicas graves). La explicación para esta observación continúa con la línea anterior: la composición del líquido inflamatorio de los PQ es, por su fisiopatología, la más heterogénea en lo que a proteínas y otros metabolitos se refiere, especialmente cuando incluye detritus necróticos (WON), y probablemente diferente en caso de sobreinfección. Es posible que, aumentando el tamaño muestral, el análisis calorimétrico permita también desarrollar modelos que no sólo identifiquen la naturaleza inflamatoria de estas lesiones, sino también posibles complicaciones asociadas (necrosis, infección, fistulización a órgano hueco, hemorragia...) a través del análisis global de los componentes de su contenido. Indicio evidente de esto es el patrón característico que ya se observa en el termograma de las lesiones de nuestra cohorte diagnosticadas como WON (figura 68).

e. Discusión sobre el rendimiento de modalidades diagnósticas: LQP-Mb vs. LQP-Mm.

Para identificar la malignidad de una LQP, normalmente el clínico se apoya en los resultados de las pruebas de imagen (TAC-MD, RM/CPRM y USE), la identificación de HRS/WF (CPP dilatado (> 5mm),

presencia de nódulo mural, componente sólido o adenopatías sospechosas), la concentración del marcador sérico de malignidad Ca 19.9, y cuando están disponibles, también puede considerarse la presencia o ausencia de mutaciones genómicas que indican malignidad (*TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A*, y *PIK3CA*)

En la detección de malignidad, los datos publicados en la literatura refieren una exactitud predictiva global para DAG/CI de 73-97%, con las modalidades de imagen más avanzadas (273). Con relación al TAC-MD de forma individualizada, publicaciones actuales le atribuyen una precisión diagnóstica en torno a 74-78% (275), y para la RM, las precisiones publicadas son similares, entre el 74-75% (275). Al igual que ocurría con el diagnóstico diferencial, la mayor dificultad se encuentra en identificar malignización precoz o muy precoz en lesiones no muy grandes, que sería el momento óptimo para asegurar cirugías curativas. Cuando ambas técnicas se combinan, su capacidad para detectar malignidad se ve aumentada hasta un 81% (276). En nuestra serie de casos, la exactitud diagnóstica del TAC-MD para detectar malignidad fue del 88%, y la de la RM de un 87%. Con una rentabilidad similar, ambas modalidades se sitúan ligeramente por encima del rango descrito en las publicaciones.

Con relación a la USE convencional sin apoyarse en contrastes armónicos ni otras técnicas de endoscopia avanzada, que es la disponible en el centro en el que se realizó este estudio (HCULB), la literatura indica datos de precisión diagnóstica para malignidad de hasta un 89,6% (279), siendo la mejor modalidad de imagen con este fin, comparativamente con las demás. En nuestra serie de casos, la precisión de la USE fue del 91%, reproduciendo estos mismos resultados, y superando al TAC-MD y a la RM/CPRM.

Aunque existe información limitada de forma individualizada, el rendimiento atribuido en la literatura a determinados HRS o WF se ha descrito durante la introducción de esta tesis. A la dilatación del CPP (> 5mm) se le confiere una exactitud en torno al 73,3%, mientras que en el caso de identificarse nódulos murales se sitúa en torno al 77,7%. De forma general, en el estudio estos signos presentaron una baja sensibilidad, y valores más interesantes de especificidad, que llegó incluso al 100% para la presencia de componente sólido o de adenopatías sospechosas de malignidad. En cualquier caso, el rendimiento observado fue algo inferior al descrito en GPC (sensibilidad del 73-100% y especificidad de 73-85% para la presencia de nódulos murales), probablemente porque estas se refieren al manejo concreto de TPMI (182,185), y por nuestro pequeño tamaño muestral. Las cifras concretas de exactitud diagnóstica observadas en nuestra serie fueron del 65% para el hallazgo de un CPP dilatado (>5mm), del 53% para la presencia de un nódulo sólido, del 76% para la identificación de componente sólido y del 65% para la descripción de adenopatías sospechosas (ver tabla 38 a continuación).

En los diferentes estudios sobre la rentabilidad de estos signos de riesgo, se describe que su valor de forma aislada tiene un impacto limitado en la predicción de malignidad, aumentando el riesgo de DAG/CI de forma ascendente conforme aumenta el número de WF identificados (22%, 34%, y 59% con 1, 2, y 3 WF respectivamente y hasta el 100% en pacientes con 4 o más WF) (181). Ambas observaciones se confirmaron en el estudio de nuestra serie de casos, con ejemplos de nódulos murales aislados descritos en LQP que resultaron PQ, o dilataciones del CPP de más de 10 mm en TPMI sin malignidad, así como una tendencia de las LQP-Mm a acumular más de un HRS/WF (hasta el 37% (3/8) presentaron 3 o más). Pero también se identificaron casos contrarios como el de una TPMI intervenida por debut sintomático (pancreatitis aguda), nódulo mural de 8 mm y elevación de CA 19.9 en suero (> 800 U/mL), que resultó ser benigna en el análisis AP posterior.

Con relación al marcador Ca 19.9, según las GPC europeas (182) su elevación es una indicación relativa para cirugía en el manejo de LQP. Esta recomendación se fundamenta en metaanálisis publicados hace unos años que lo consideraban un factor de riesgo independiente para malignidad (300), otorgándole una baja sensibilidad de 34,2%, pero una elevada especificidad del 92,4%, y una precisión diagnóstica del 73,8% (282). Sin embargo, existe evidencia reciente en la literatura que plantea dudas sobre esta interpretación (465). Un estudio publicado en 2023 trató de evaluar el papel de la monitorización de este marcador para la detección precoz de malignidad en una cohorte de 685 pacientes en seguimiento por quistes pancreáticos, y concluyó que esta práctica causó un daño sustancial al acortar los intervalos de vigilancia (y la realización de cirugías innecesarias), sugiriendo en todo caso considerar un punto de corte superior para disminuir los falsos positivos (466). En nuestra serie de casos, el Ca 19.9 presentó una sensibilidad del 62%, una especificidad del 70% y una precisión diagnóstica del 68%, cifras algo inferiores a las indicadas por los estudios referidos previamente, probablemente más en la línea de lo indicado por la evidencia más reciente.

También estudios de genómica en LIQ son capaces de detectar mutaciones genéticas (*TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A* y *PIK3CA*) útiles en la detección de malignidad (DAG/CI). Los estudios les atribuyen normalmente una baja sensibilidad (9-39%) con elevada especificidad (92-98%) como ocurría en los estudios genómicos para diferenciar LQP-M y LQP-NM (297). Su limitada sensibilidad y su escasa disponibilidad actual constituyen hoy el día sus dos principales inconvenientes que limitan su aplicabilidad. Como ya se ha comentado, en el centro del estudio no disponemos de esta herramienta, lo que ha impedido analizar su rendimiento en la serie de casos analizada.

f. Discusión sobre el rendimiento del Modelo iTLBq2 (LQP-Mb vs. LQP-Mm)

El modelo de clasificación **iTLBq2** se elaboró por el grupo de investigación como herramienta diagnóstica para detectar malignidad y permitir la diferenciación entre LQP-Mb y LQP-Mm, comparando su utilidad con las modalidades tradicionalmente utilizadas. Fue capaz de clasificar correctamente todas las LQP-Mb y LQP-Mm, por lo que sus valores de exactitud diagnóstica, sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fueron del 100%. Por tanto, el modelo iTLBq2 fue la herramienta de mayor rentabilidad diagnóstica comparativamente con el resto de herramientas analizadas durante el estudio, superando el rendimiento observado durante el mismo, pero también el descrito en la literatura para cada una de ellas. Todas estas observaciones quedan resumidas en la tabla 38.

| | No Mucinoso vs. Mucinoso | | | | | Benigno vs Maligno | | | | |
|--------------------------|--------------------------|------|-------|-----|-----|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Acc | Sens | Espec | VPP | VPN | Acc | Sens | Espec | VPP | VPN |
| TAC-MD | 75% | 73% | 80% | 89% | 57% | 88% | 88% | 88% | 88% | 88% |
| RM | 56% | 44% | 71% | 67% | 50% | 87% | 66% | 100% | 100% | 83% |
| USE | 77% | 67% | 90% | 89% | 69% | 91% | 75% | 100% | 100% | 88% |
| CPP dilatado | | | | | | 65% | 50% | 78% | 67% | 64% |
| Nódulo > 5 mm | | | | | | 53% | 12% | 89% | 50% | 53% |
| Comp. sólido | | | | | | 76% | 50% | 100% | 100% | 69% |
| Adenopatías | | | | | | 65% | 25% | 100% | 100% | 60% |
| String-sign (LIQ) | 71% | 59% | 83% | 77% | 68% | | | | | |
| CEA-LIQ | 79% | 76% | 82% | 81% | 78% | | | | | |
| Glc-LIQ | 60% | 50% | 67% | 50% | 67% | | | | | |
| CA 19.9 suero | | | | | | 68% | 62% | 70% | 45% | 82% |
| Modelo iTLBq2 | | | | | | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% |

Tabla 38. Resumen del rendimiento diagnóstico en nuestro estudio de cada una de las modalidades de imagen, signos de riesgo y biomarcadores en suero y LIQ, añadiendo en la última fila el modelo iTLBq2. *Notas:* Puntos de corte considerados para CEA, glucosa y CA 19.9 de 192 ng/mL, 50 mg/dL y 37 U/mL respectivamente. *Abreviaturas:* Acc: Precisión diagnóstica; CPP: Conducto pancreático principal; Espec: Especificidad; iTLBq1: intelligence Thermal Liquid Biopsy, LIQ: Líquido intraquístico, Sens: Sensibilidad; VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo.

Resulta especialmente relevante el hecho de que este modelo iTLBq2 fuera capaz de detectar y clasificar correctamente una LQP con malignización en estadios muy precoces (DAG), que se correspondía con un SMC en el que se venía objetivando crecimiento en los últimos controles, tras años de seguimiento sin variaciones. Este detalle, la juventud y buen estado general de la paciente y su localización distal, nos llevaron a tomar la decisión de intervenir, y el análisis AP posterior confirmó su naturaleza, así como su malignización precoz. No se identificaron otros signos de riesgo radiológicos (HRS ni WF) ni clínicos (la paciente se encontraba asintomática). Existe pocos estudios publicados sobre SMC, considerándose infrecuentes, por lo que tampoco existe información detallada sobre el valor normal de biomarcadores intraquísticos y serológicos. En nuestro caso, el valor del CEA intraquístico resultó sorprendentemente

alto (286.921 ng/mL) con una amilasa baja (34 U/L) y un Ca 19.9 en sangre normal (6,6 U/mL). No contamos con nivel de glucosa en LIQ.

A pesar de estos resultados, es necesario recordar que, dado el pequeño tamaño muestral, el entrenamiento del modelo iTLBp2 se realizó con todas las LQP-M de la muestra y que no pudo, por tanto, validarse. Por todo esto, este modelo iTLBq2 sólo puede considerarse un estudio piloto, que debería obligatoriamente confirmar sus resultados con un mayor tamaño muestral.

g. Discusión sobre el rendimiento de la Citología

La citología se caracteriza en general por presentar una sensibilidad muy limitada y una especificidad mayor, tanto para la caracterización de lesiones (en este caso LQP), como para la detección de malignidad. Esto es consecuencia de la variable carga celular de las diferentes muestras, que depende con frecuencia del tipo de lesión y de la técnica empleada (cepillado, punción...). Para la extracción de LIQ, la USE-PAAF suele realizarse con agujas de 22 o 19G, mediante la técnica *dry suction* que consiste en aspirar utilizando el vacío creado en una jeringa, que se acopla al dispositivo de punción.

La evidencia sobre el rendimiento de la citología es limitada, pero en general se ha descrito que las muestras son con frecuencia hipocelulares (hasta el 60% según series) siendo este uno de los principales inconvenientes de la técnica. En nuestra serie de estudio, también hemos observado una rentabilidad diagnóstica subóptima, con un 20% de muestras hipocelulares y un 33% de errores diagnósticos.

h. Discusión sobre los resultados quirúrgicos

El tratamiento habitual de las LQP sospechosas es la cirugía pancreática, pero su importante morbilidad y posible mortalidad asociadas, hacen especialmente relevante la optimización del diagnóstico prequirúrgico.

En la muestra de casos analizada, se observó un elevado porcentaje de cirugías (49%, 17/35), probablemente influido por el alto número de pacientes sintomáticos o con sospecha de malignidad. Las técnicas quirúrgicas más frecuentes fueron la DPC en un 35,3% (6/17, una de ellas urgente) y la PD en un 35,3% (6/17). El resto de cirugías no específicamente pancreáticas fueron 3 laparotomías exploradoras y 2 quistogastrostomías. En todos los casos la indicación fue correcta según recomendaciones de las GPC, dada la existencia de síntomas o signos de alarma.

Según el tipo de LQP intervenida, las frecuencias observadas, considerando solo las cirugías pancreáticas (n = 12), fueron similares a las publicadas: el 33,3% (4/12) fueron TPMI (frente al 38% descrito), el 16,6% (2/12) fueron MCN (frente al 23% descrito) y el 16,6% (2/12) fueron CAS (frente al 16% descrito) (209). Las cirugías de PQ supusieron el 23% (4/17) del total, similar a lo descrito en otras series quirúrgicas, en torno a un 20%. Del total de CAS, los intervenidos supusieron el 40% (2/5), una cifra algo inferior al 60% descrito en la literatura (460), pero en la misma línea. Por tanto, se concluyó que, a pesar del pequeño tamaño muestral de la serie analizada, en general, presenta resultados quirúrgicos coherentes con frecuencias descritas en series más amplias, y por tanto podía considerarse representativa.

Un estudio realizado en la Clínica Mayo sobre 174 LQP intervenidas, trató de analizar la correlación entre el diagnóstico pre y postquirúrgico, encontrando importantes discrepancias en hasta el 31% de los casos analizados, o lo que es lo mismo, prácticamente en 1 de cada 3 pacientes intervenidos por una LQP, el diagnóstico preoperatorio no se confirmó tras la cirugía (457). La mayor discrepancia se encontró concretamente en las MCN (confirmación postoperatoria del diagnóstico de presunción solo en el 53,6% de casos), seguidas por las TPMI-CP/Mx (confirmación postoperatoria del diagnóstico de presunción solo en el 66,7% de casos).

En nuestra serie de LQP, esta discrepancia diagnóstica pre y postquirúrgica, se identificó hasta en el 41% del total de cirugías, una cifra ligeramente superior a los datos publicados, pero sin claro predominio de ningún subtipo de LQP en concreto.

Así, del total de cirugías realizadas un 53,3% (10/17) fueron sobre lesiones que finalmente resultaron benignas. De todas ellas, la más frecuentemente intervenida fue el PQ, con un 40% de los casos (4/10), aunque en 3, la indicación quirúrgica estaba en relación con complicaciones de la propia colección inflamatoria (una cirugía urgente por hemoperitoneo, una fístula pancreática tras cirugía aórtica y un síndrome de desconexión del ducto). Las otras 6 lesiones benignas operadas fueron 2 CAS (DPC), 2MCN (PD) y 2 TPMI benignas (PD). En el caso de los 2 CAS la indicación quirúrgica fue consecuencia de su tamaño ($\geq 40\text{mm}$) y de los síntomas referidos por los pacientes, que incluyeron 2 debut diabéticos, y que condicionaron una razonable sospecha de malignidad. En el caso de las 2 MCN se intervinieron por crecimiento, que también generó dudas sobre su malignización, y el deseo de embarazo de las pacientes, con necesidad en ambos casos de terapia hormonal. En el caso de las TPMI, por sospecha de malignidad (presencia de HRS, elevación de Ca 19.9 y crecimiento) que, tras la cirugía, no se confirmó

Por tanto, podríamos concluir que, del total de las lesiones intervenidas en nuestra serie, aquellas en las que se podría cuestionar la indicación fueron finalmente 7 (1PQ, 2CAS, 2MCN y 2TPMI) sin malignidad subyacente tras el análisis postquirúrgico, aunque las cirugías de las MCN estuvieron probablemente muy influenciadas por el deseo de embarazo bajo terapia hormonal de las pacientes.

En cuanto a complicaciones postquirúrgicas, se produjeron en el 41% (7/17) del total de cirugías, o el 58.33% (7/12) de las cirugías pancreáticas, con la siguiente distribución según gravedad:

- 71,42% (5/7) Complicaciones menores (Clavien-Dindo I-II): todos ellas correspondientes a PD.
- 28,57% (2/7) Complicaciones mayores (Clavien-Dindo III-V): 2 fallecimientos, ambos tras DPC, una de ellas urgente por hemoperitoneo.

La mortalidad de la cirugía pancreática en nuestra serie fue por tanto elevada (16,6%), especialmente en comparación con la descrita en centros de amplia experiencia, como el *Massachusetts General Hospital*, que la sitúa en un 0,5% (209). Sin embargo, esta comparativa no puede realizarse sin considerar el pequeño tamaño muestral de nuestra serie, que incluye un número alto de casos malignos, y que uno de los fallecimientos postquirúrgicos (de los dos observados) se produjo en el contexto de una urgencia vital por hemoperitoneo y por tanto no puede atribuirse exclusivamente a complicaciones postoperatorias. La morbilidad también resultó elevada, con un 58,3%, comparativamente con el 38% referido por otras series (209).

Para finalizar este análisis, se trató de valorar la influencia que los modelos calorimétricos, iTLBq1 e iTLBq2, hubieran podido tener sobre la decisión quirúrgica, y si su aplicación hubiera evitado morbimortalidad a los pacientes. Las conclusiones fueron las siguientes:

- Todas las cirugías realizadas se indicaron correctamente siguiendo las directrices de manejo actual, por la sospecha fundamentada de origen mucinoso de la lesión con síntomas o HRS/WF.
- Entre las 6 PD, sólo una de las LQP intervenidas se confirmó finalmente como maligna (SMC-DAG). Las 5 restantes, (2 MCN, 1 PQ y 2 TPMI) es posible que no se hubiesen intervenido si se hubiera confirmado su naturaleza benigna. Al menos en el caso de las MCN y los TPMI, el modelo iTLBq2 hubiera resultado de utilidad descartando su malignidad, y hubiera podido evitar hasta un 66% (4/6) de la morbilidad observada en la serie.
- Entre las 6 DPC, 3 de ellas fueron confirmadas como malignas (2 TPMI malignizadas y 1 ACDPq) Las 3 restantes fueron un PQ y 2 CAS. La cirugía urgente del PQ no hubiera podido evitarse en cualquier caso y con relación a los 2 CAS, el modelo iTLBq1 podría haber resultado de utilidad de haber confirmado su naturaleza no mucinosa. Sin embargo, hay que considerar que precisamente los CAS son lesiones en las que este modelo ha demostrado más probabilidad de error. Afortunadamente, esta cirugía no presentó comorbilidad asociada.

LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO.

El estudio realizado tiene ciertas limitaciones, algunas de las cuales se han venido comentando durante el desarrollo de esta tesis doctoral.

En primer lugar, se trata de un estudio unicéntrico, que incluye una muestra de tamaño muy limitado de pacientes con LQP. Dado que los quistes pancreáticos más frecuentes son pequeños y asintomáticos, la mayoría no presentan indicación de USE-PAAF según recomendaciones de GPC, siendo este precisamente uno de los criterios de inclusión. Además, una vez identificado un paciente candidato, era necesario que aceptase su participación y posteriormente, que la cantidad de LIQ extraído fuese suficiente para el análisis calorimétrico, teniendo en cuenta que la prioridad era el análisis bioquímico y/o citológico. Todo esto, obviamente, enlenteció el reclutamiento que, además, sufrió el impacto de la pandemia por COVID-19, debido a la limitación para la realización de exploraciones endoscópicas invasivas que no fuesen de carácter urgente o preferente, durante aquella época.

En segundo lugar, la serie de casos presenta un sesgo de selección, condicionado también por este mismo criterio de inclusión que, por cuestiones éticas, requería de la indicación de USE-PAAF previa e independiente a la participación de cualquier paciente en el estudio. Estas indicaciones normalmente son la existencia de síntomas atribuibles a la LQP, o signos de alarma que hagan sospechar posible malignización. Esto condicionó una alta proporción de pacientes sintomáticos y/o con patología maligna subyacente en nuestra serie de casos, que ha podido condicionar algunos resultados, diferenciándolos de series más amplias basadas en pruebas de imagen.

En tercer lugar, el diagnóstico anatomopatológico del tipo de quiste sólo está presente en el 63% (22/35) de las LQP, en las que existe muestra de citología, biopsia o pieza quirúrgica. A pesar de esta limitación, el enfoque diagnóstico sin histología que hemos planteado sigue las normas actuales de la práctica clínica para pacientes sin indicación de USE-PAAF ni cirugía, y cada caso ha sido valorado en un comité multidisciplinar de patología pancreática, estableciéndose por consenso de expertos el diagnóstico más probable. Por tanto, y esta es una de las fortalezas del estudio, nuestra serie refleja con veracidad la realidad que afrontamos los pancreatólogos cada día en el manejo de estos pacientes.

Finalmente, el número de LQP en las que contamos con determinación del nivel de glucosa en LIQ es muy escaso ($n = 10$), y nos impide extraer conclusiones fiables sobre el rendimiento de este biomarcador en LIQ. Esto es debido a que la evidencia sobre su utilidad es relativamente reciente, y fue el último en incluirse a nuestra práctica clínica protocolizada.

Por el contrario, una de sus principales fortalezas, deriva precisamente de la propia metodología de la técnica diagnóstica empleada. La calorimetría no persigue identificar biomarcadores específicos para cada tipo de LQP o cuya presencia indique certeramente transformación maligna. La calorimetría realiza un análisis global de una muestra biológica (en este caso el LIQ), no para valorar y cuantificar sus componentes de forma individual, sino para considerarlos como un conjunto de componentes, que determinan las características de la muestra no solo en función de su cantidad, sino también en función de sus interacciones, y su comportamiento (plegamiento y desplegamiento de proteínas), cuando son sometidos a calor. Esto permite identificar diferencias, no solo entre entidades diferentes con diferentes componentes, sino también secundarias a enfermedades o complicaciones sobrevenidas (malignización, infección...etc...), que pueden condicionar cambios en la composición o cambios más sutiles en la forma de interactuar los mismos componentes. Esta capacidad de análisis global de la composición de un líquido biológico que caracteriza a la calorimetría, puede ser clave para que la TLB se convierta en una herramienta diagnóstica relevante, sin la eventual pérdida de información que supone la estrategia de buscar biomarcadores unitarios de forma individualizada. Su naturaleza esta más alineada con las investigaciones más actuales en las que se buscan algoritmos que combinen la información de diferentes pruebas diagnósticas individuales, con el objetivo de mejorar su rendimiento al ser consideradas en conjunto.

LÍNEAS DE FUTURO.

A partir de estos resultados, el grupo de trabajo se ha propuesto diferentes líneas futuras de investigación:

- ampliación del tamaño muestral de la serie de LQP, en colaboración con otros centros externos de nuestro país. Este objetivo ya está en marcha y se han recibido recientemente nuevas muestras de LIQ de centros colaboradores. El objetivo es confirmar los resultados obtenidos en una muestra de mayor tamaño, que además permita su validación externa.
- con un tamaño muestral mayor, los objetivos del estudio serán más ambiciosos, investigando la eficacia de la calorimetría para un diagnóstico diferencial más preciso, que podría incluso identificar los diferentes subtipos de quistes, y no solo su naturaleza mucinosa o no mucinosa. Es decir, el objetivo será entrenar un modelo capaz de diferenciar los CAS de los PQ, los PQ de las WON, incluso de las lesiones linfoides o los pancTNEq, o bien, los TPMI de las MCN, a partir de la información obtenida de sus termogramas.
- otro objetivo será investigar si el análisis calorimétrico permite obtener un modelo que pueda detectar diferencias en la composición del LIQ secundarias a diferentes complicaciones sobrevenidas. Por ejemplo, entre las colecciones inflamatorias (PQ y WON), la TLB podría permitir identificar lesiones sobreinfectadas, hemorragias internas en las colecciones o incluso fistulizaciones a víscera hueca, confirmando nuestra sospecha a partir de los indicios observados en esta primera investigación.
- finalmente, también existe el objetivo de combinar estos resultados con los derivados del análisis proteómico del LIQ, con el objetivo de identificar concretamente las proteínas o grupos de proteínas que interactúan entre sí, responsables de los cambios morfológicos observados en los termogramas, y por tanto, biomarcadores fundamentales en el diagnóstico diferencial de LQP y en la detección precoz de su malignización.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DE LQP.

En el estudio dedicado a las LQP, se han definido las principales características de una serie de 35 LQP con indicación de USE-PAAF en nuestro medio que, a pesar de su pequeño tamaño muestral, ha resultado equilibrada y representativa, con características similares a otras series descritas en la literatura.

Los hallazgos más relevantes han sido los siguientes:

- Los pacientes con diagnóstico de LQP presentan escasa comorbilidad asociada y mediana edad, que en nuestra serie se ha situado entre los 39 años (MCN) y los 72 años (CAS) de media.
- Cuando estas lesiones son sintomáticas, el dolor abdominal es el síntoma más frecuente entre las LQP-NM y las LQP-Mb. Los síntomas más frecuentes en LQP-Mm son la ictericia y la pérdida de peso. Ambos deben por tanto considerarse síntomas de alarma ante los que es obligatorio descartar posible malignidad subyacente.
- El debut diabético puede ser un síntoma predictor de malignización, pero también es frecuente en CAS de gran tamaño, especialmente cuando son de localización cefálica.
- Las herramientas diagnósticas más habituales para diferenciar entre LQP-M y LQP-NM (TAC-MD, RM/CPRM-USE, *string-sign*, y biomarcadores en LIQ como el CEA y la Glucosa), son imprecisas. En nuestra serie, la mejor exactitud diagnóstica ha correspondido a la USE (77%), y el CEA-LIQ (79%), sin poder extraerse conclusiones sobre la precisión de la glucosa-LIQ.
- Las herramientas diagnósticas más habituales para diferenciar entre LQP-Mb y LQP-Mm (TAC-MD, RM/CPRM, USE, presencia de WF/HRS y Ca 19.9 sérico) son imprecisas. En nuestra serie, la mejor exactitud diagnóstica ha correspondido al TAC-MD (88%) y a la USE (91%). La presencia de WF/HRS mejora su rendimiento a mayor número de signos de riesgo simultáneos. El Ca 19.9 sérico no es un buen marcador de malignidad en LQP.
- La citología es una técnica poco sensible, debido a la frecuencia de muestras hipocelulares (20% en la serie estudiada), con un porcentaje de error no despreciable (25% de error para identificar mucinosidad y 50% de error para identificar malignidad en nuestra serie)
- La cirugía de LQP presenta una importante morbimortalidad asociada, y con frecuencia, existe discrepancia diagnóstica entre la sospecha prequirúrgica y la confirmación AP postquirúrgica, que en la serie analizada ha sido de hasta el 41%.
- La TLB se presenta como una herramienta prometedora, que podría optimizar el diagnóstico diferencial de las LQP, y especialmente la identificación precoz de su malignización, incluso en fases muy precoces (DAG). Esto permitiría realizar indicaciones quirúrgicas más precisas, y evitar minimizar la morbimortalidad asociada a la cirugía pancreática de estos pacientes, que en la serie a estudio se ha calculado hasta en un 66% menos de morbilidad.
- Existen indicios de que la CDB podría permitir diagnósticos más precisos, y no solo limitados a LQP-M, como podría ser el diagnóstico diferencial entre colecciones inflamatorias (PQ vs. WON).
- La TLB es una técnica mínimamente invasiva, sencilla de aplicar y barata, sin variabilidad interobservador y que únicamente requiere de una mínima cantidad de LIQ, características que facilitarían su aplicabilidad y su disponibilidad.

Nuestros resultados deberían confirmarse mediante estudios prospectivos con una población externa de mayor tamaño muestral.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Koide N, Yokoyama Y, Oda K, H Nishio, Ebata T, Abe T, et al. Pancreatic metastasis from renal cell carcinoma: results of the surgical management and pathologic findings. *Pancreas* [Internet]. 2008 [cited 2024 Dec 13];37(1):110–2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18580454/>
2. Rishi A, Goggins M, Wood LD, Hruban RH. Pathological and molecular evaluation of pancreatic neoplasms. *Semin Oncol* [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2024 Nov 6];42(1):28–39. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25726050/>
3. Navarro S, Vaquero E, Maurel J, Bombí JA, De Juan C, Feliu J, et al. [Recommendations for diagnosis, staging and treatment of pancreatic cancer (Part I). Grupo Español de Consenso en Cáncer de Páncreas]. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2010 May 15 [cited 2024 Nov 6];134(14):643–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20346471/>
4. IARC. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2024: Cancer today: Data visualization tools for exploring the global cancer burden in 2022. In]. Lyon, France: IARC; 2023; 2023. p. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today/en>.
5. REDECAN. Estimaciones de la incidencia del cáncer en España 2024. 2024. In: Red Española de Registros de Cáncer. 2024.
6. Wu W, He X, Yang L, Wang Q, Bian X, Ye J, et al. Rising trends in pancreatic cancer incidence and mortality in 2000-2014. *Clin Epidemiol* [Internet]. 2018 [cited 2024 Nov 6];10:789–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30022856/>
7. Gaddam S, Abboud Y, Oh J, Samaan JS, Nissen NN, Lu SC, et al. Incidence of Pancreatic Cancer by Age and Sex in the US, 2000-2018. *JAMA* [Internet]. 2021 Nov 30 [cited 2024 Nov 6];326(20):2075–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34689206/>
8. Müller PC, Frey MC, Ruzza CM, Nickel F, Jost C, Gwerder C, et al. Neoadjuvant Chemotherapy in Pancreatic Cancer: An Appraisal of the Current High-Level Evidence. *Pharmacology* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2024 Nov 6];106(3–4):143–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32966993/>
9. Groot VP, Rezaee N, Wu W, Cameron JL, Fishman EK, Hruban RH, et al. Patterns, Timing, and Predictors of Recurrence Following Pancreatectomy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Ann Surg* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2024 Nov 6];267(5):936–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28338509/>
10. Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2024 Nov 6];18(7):493–502. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34002083/>
11. Tavakkoli A, Singal AG, Waljee AK, Elmunzer BJ, Pruitt SL, McKey T, et al. Racial Disparities and Trends in Pancreatic Cancer Incidence and Mortality in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2024 Nov 6];18(1):171-178.e10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31202981/>
12. National Cancer Institute. Preliminary Cancer Incidence Rates and Trends, 2000-2022 Estimates from Early Reporting of Incidence Data Adjusted for Case Undercounts: Selected SEER Registries [Internet]. 2024. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>
13. Ramai D, Smith ER, Wang Y, Huang Y, Obaitan I, Chandan S, et al. Epidemiology and Socioeconomic Impact of Pancreatic Cancer: An Analysis of the Global Burden of Disease Study 1990-2019. *Dig*

- Dis Sci [Internet]. 2024 Apr 1 [cited 2024 Nov 7];69(4):1135–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38383939/>
14. An H, Dai H, Liu X. Changing Trends in the Global Disease Burden of Pancreatic Cancer from 1990 to 2030. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2024 Jul 1 [cited 2024 Nov 7];69(7):2450–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38722410/>
 15. Maisonneuve P. Epidemiology and burden of pancreatic cancer. *Presse Med* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2024 Nov 7];48(3 Pt 2):e113–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30878335/>
 16. SEOM. Sociedad Española de Oncología Médica. (SEOM). Informe SEOM 2023: Las cifras del cáncer en España [Internet]. Mad. rid: SEOM; 2023 [cited 2024 May 25].; 2024.
 17. Niesen W, Hank T, Büchler M, Strobel O. Local radicality and survival outcome of pancreatic cancer surgery. *Ann Gastroenterol Surg* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2024 Nov 7];3(5):464–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31549006/>
 18. Ansari D, Tingstedt B, Andersson B, Holmquist F, Stureson C, Williamsson C, et al. Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow. *Future Oncol* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2024 Nov 7];12(16):1929–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27246628/>
 19. Engholm G, Ferlay J, Christensen N, Bray F, Gjerstorff ML, Klint Å, et al. NORDCAN--a Nordic tool for cancer information, planning, quality control and research. *Acta Oncol* [Internet]. 2010 [cited 2024 Nov 7];49(5):725–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20491528/>
 20. Ogoburo I, Collier AL, Khan K, de Castro Silva I, Kwon D, Wilson GC, et al. Racial Disparity in Pathologic Response following Neoadjuvant Chemotherapy in Resected Pancreatic Cancer: A Multi-Institutional Analysis from the Central Pancreatic Consortium. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2024 Nov 7];30(3):1485–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36316508/>
 21. Matsuda Y. Age-related morphological changes in the pancreas and their association with pancreatic carcinogenesis. *Pathol Int* [Internet]. 2019 [cited 2024 Nov 7];69(8):450–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31339204/>
 22. Silverman DT, Hoover RN, Brown LM, Swanson GM, Schiffman M, Greenberg RS, et al. Why do Black Americans have a higher risk of pancreatic cancer than White Americans? *Epidemiology* [Internet]. 2003 Jan [cited 2024 Nov 7];14(1):45–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12500045/>
 23. Wolpin BM, Kraft P, Gross M, Helzlsouer K, Bueno-de-Mesquita HB, Steplowski E, et al. Pancreatic cancer risk and ABO blood group alleles: results from the pancreatic cancer cohort consortium. *Cancer Res* [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2024 Nov 7];70(3):1015–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20103627/>
 24. Risch HA, Lu L, Wang J, Zhang W, Ni Q, Gao YT, et al. ABO blood group and risk of pancreatic cancer: a study in Shanghai and meta-analysis. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2013 Jun 15 [cited 2024 Nov 7];177(12):1326–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23652164/>
 25. Lynch SM, Vrieling A, Lubin JH, Kraft P, Mendelsohn JB, Hartge P, et al. Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2009 Aug [cited 2024 Nov 7];170(4):403–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19561064/>
 26. Bosetti C, Lucenteforte E, Silverman DT, Petersen G, Bracci PM, Ji BT, et al. Cigarette smoking and pancreatic cancer: An analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PANC4). *Annals of Oncology*. 2012;23(7):1880–8.
 27. Wienecke A, Barnes B, Lampert T, Kraywinkel K. Changes in cancer incidence attributable to tobacco smoking in Germany, 1999–2008. *Int J Cancer*. 2014 Feb 1;134(3):682–91.
 28. Iodice S, Gandini S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: A review and meta-analysis. *Langenbecks Arch Surg*. 2008 Jul;393(4):535–45.

29. Yuan C, Morales-Oyarvide V, Babic A, Clish CB, Kraft P, Bao Y, et al. Cigarette Smoking and Pancreatic Cancer Survival. *J Clin Oncol* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Nov 7];35(16):1822–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28358654/>
30. Lugo A, Peveri G, Bosetti C, Bagnardi V, Crippa A, Orsini N, et al. Strong excess risk of pancreatic cancer for low frequency and duration of cigarette smoking: A comprehensive review and meta-analysis. *Eur J Cancer* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];104:117–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30347287/>
31. Wang YT, Gou YW, Jin WW, Xiao M, Fang HY. Association between alcohol intake and the risk of pancreatic cancer: a dose-response meta-analysis of cohort studies. *BMC Cancer* [Internet]. 2016 Mar 12 [cited 2024 Nov 7];16(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26968702/>
32. Naudin S, Li K, Jaouen T, Assi N, Kyrø C, Tjønneland A, et al. Lifetime and baseline alcohol intakes and risk of pancreatic cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Int J Cancer* [Internet]. 2018 Aug 15 [cited 2024 Nov 7];143(4):801–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29524225/>
33. Rohrmann S, Linseisen J, Vrieling A, Boffetta P, Stolzenberg-Solomon RZ, Lowenfels AB, et al. Ethanol intake and the risk of pancreatic cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Causes Control* [Internet]. 2009 Jul [cited 2024 Nov 7];20(5):785–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19145468/>
34. Jayasekara H, English DR, Hodge AM, Room R, Hopper JL, Milne RL, et al. Lifetime alcohol intake and pancreatic cancer incidence and survival: findings from the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2019 Apr 15 [cited 2024 Nov 7];30(4):323–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30798509/>
35. Farias AJ, Streicher SA, Stram DO, Wang S, Pandolfi SJ, Le Marchand L, et al. Racial/ethnic disparities in weight or BMI change in adulthood and pancreatic cancer incidence: The multiethnic cohort. *Cancer Med* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Nov 7];10(12):4097–106. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cam4.3958>
36. Zohar L, Rottenberg Y, Twig G, Katz L, Leiba A, Derazne E, et al. Adolescent overweight and obesity and the risk for pancreatic cancer among men and women: a nationwide study of 1.79 million Israeli adolescents. *Cancer* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 Nov 7];125(1):118–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30417331/>
37. Dobbins M, Decorby K, Choi BCK. The Association between Obesity and Cancer Risk: A Meta-Analysis of Observational Studies from 1985 to 2011. *ISRN Prev Med* [Internet]. 2013 Apr 4 [cited 2024 Nov 7];2013:1–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24977095/>
38. Téoule P, Rasbach E, Oweira H, Otto M, Rahbari NN, Reissfelder C, et al. Obesity and Pancreatic Cancer: A Matched-Pair Survival Analysis. *J Clin Med* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];9(11):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33142763/>
39. Cascetta P, Cavaliere A, Piro G, Torroni L, Santoro R, Tortora G, et al. Pancreatic Cancer and Obesity: Molecular Mechanisms of Cell Transformation and Chemoresistance. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];19(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30366466/>
40. Sivasubramanian BP, Dave M, Panchal V, Saifa-Bonsu J, Konka S, Noei F, et al. Comprehensive Review of Red Meat Consumption and the Risk of Cancer. *Cureus*. 2023;15(9).
41. Sun Y, He X, Sun Y. Red and processed meat and pancreatic cancer risk: a meta-analysis. *Front Nutr*. 2023;10(February 2016):1–9.
42. Genkinger JM, Li R, Spiegelman D, Anderson KE, Albanes D, Bergkvist L, et al. Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2012 Feb [cited 2024 Nov 7];21(2):305–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22194529/>
43. Yamagiwa Y, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Goto A, Takachi R, et al. Soy Food Intake and Pancreatic Cancer Risk: The Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Cancer*

- Epidemiol Biomarkers Prev [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Nov 7];29(6):1214–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32169996/>
44. Gaesser GA. Whole Grains, Refined Grains, and Cancer Risk: A Systematic Review of Meta-Analyses of Observational Studies. *Nutrients* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Nov 7];12(12):1–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33297391/>
 45. Kawada T. Coffee consumption and pancreatic cancer. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];35(10):987–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31352557/>
 46. Marko L, Tonje B. Evidence on coffee consumption and pancreatic cancer: not great, not terrible. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];35(10):989–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31456080/>
 47. Li TD, Yang HW, Wang P, Song CH, Wang KJ, Dai LP, et al. Coffee consumption and risk of pancreatic cancer: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Int J Food Sci Nutr* [Internet]. 2019 Jul 4 [cited 2024 Nov 7];70(5):519–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30632827/>
 48. Bao Y, Ng K, Wolpin BM, Michaud DS, Giovannucci E, Fuchs CS. Predicted vitamin D status and pancreatic cancer risk in two prospective cohort studies. *Br J Cancer* [Internet]. 2010 Apr [cited 2024 Nov 7];102(9):1422–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20389298/>
 49. Waterhouse M, Risch HA, Bosetti C, Anderson KE, Petersen GM, Bamlet WR, et al. Vitamin D and pancreatic cancer: a pooled analysis from the Pancreatic Cancer Case-Control Consortium. *Ann Oncol* [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2024 Nov 7];26(8):1776–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25977560/>
 50. Xie F, You Y, Huang J, Guan C, Chen Z, Fang M, et al. Association between physical activity and digestive-system cancer: An updated systematic review and meta-analysis. *J Sport Health Sci* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Nov 7];10(1):4–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33010525/>
 51. García-Esquinas E, Pollán M, Umans JG, Francesconi KA, Goessler W, Guallar E, et al. Arsenic exposure and cancer mortality in a US-based prospective cohort: the strong heart study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2013 Nov [cited 2024 Nov 7];22(11):1944–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23800676/>
 52. Luckett BG, Su LJ, Rood JC, Fontham ETH. Cadmium exposure and pancreatic cancer in south Louisiana. *J Environ Public Health* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 7];2012. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23319964/>
 53. Molina-Montes E, Wark PA, Sánchez MJ, Norat T, Jakszyn P, Luján-Barroso L, et al. Dietary intake of iron, heme-iron and magnesium and pancreatic cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition cohort. *Int J Cancer* [Internet]. 2012 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];131(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22438075/>
 54. Amaral AFS, Porta M, Silverman DT, Milne RL, Kogevinas M, Rothman N, et al. Pancreatic cancer risk and levels of trace elements. *Gut* [Internet]. 2012 Nov [cited 2024 Nov 7];61(11):1583–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22184070/>
 55. Risch HA, Lu L, Streicher SA, Wang J, Zhang W, Ni Q, et al. Aspirin Use and Reduced Risk of Pancreatic Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Nov 7];26(1):68–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27999143/>
 56. Khalaf N, Yuan C, Hamada T, Cao Y, Babic A, Morales-Oyarvide V, et al. Regular Use of Aspirin or Non-Aspirin Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Is Not Associated With Risk of Incident Pancreatic Cancer in Two Large Cohort Studies. *Gastroenterology* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 Nov 7];154(5):1380-1390.e5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29229401/>
 57. Gandhi S, De La Fuente J, Murad MH, Majumder S. Chronic Pancreatitis Is a Risk Factor for Pancreatic Cancer, and Incidence Increases With Duration of Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Transl Gastroenterol* [Internet]. 2022 Mar 28 [cited 2024 Nov 7];13(3):E00463. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35142721/>

58. Greenhalf W, Lévy P, Gress T, Rebours V, Brand RE, Pandol S, et al. International consensus guidelines on surveillance for pancreatic cancer in chronic pancreatitis. Recommendations from the working group for the international consensus guidelines for chronic pancreatitis in collaboration with the International Association of Pancreatology, the American Pancreatic Association, the Japan Pancreas Society, and European Pancreatic Club. *Pancreatology* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2024 Nov 7];20(5):910–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32624419/>
59. Kirkegård J, Mortensen FV, Cronin-Fenton D. Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2024 Nov 7];112(9):1366–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28762376/>
60. Midha S, Sreenivas V, Kabra M, Chattopadhyay TK, Joshi YK, Garg PK. Genetically Determined Chronic Pancreatitis but not Alcoholic Pancreatitis Is a Strong Risk Factor for Pancreatic Cancer. *Pancreas* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];45(10):1478–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27518468/>
61. Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology* [Internet]. 2013 [cited 2024 Nov 7];144(6):1252–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23622135/>
62. Hallensleben ND, Umans DS, Bouwense SAW, Verdonk RC, Romkens TEH, Witteman BJ, et al. The diagnostic work-up and outcomes of ‘presumed’ idiopathic acute pancreatitis: A post-hoc analysis of a multicentre observational cohort. *United European Gastroenterol J*. 2020 Apr 1;8(3):340–50.
63. Gullo L, Pezilli R, Morselli-Labate AM. Diabetes and the risk of pancreatic cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 1994 Jul 14 [cited 2024 Nov 7];331(2):81–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8208269/>
64. Huang BZ, Pandol SJ, Jeon CY, Chari ST, Sugar CA, Chao CR, et al. New-Onset Diabetes, Longitudinal Trends in Metabolic Markers, and Risk of Pancreatic Cancer in a Heterogeneous Population. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2024 Nov 7];18(8):1812-1821.e7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31809917/>
65. Yuan C, Babic A, Khalaf N, Nowak JA, Brais LK, Rubinson DA, et al. Diabetes, Weight Change, and Pancreatic Cancer Risk. *JAMA Oncol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];6(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32789511/>
66. Sah RP, Nagpal SJS, Mukhopadhyay D, Chari ST. New insights into pancreatic cancer-induced paraneoplastic diabetes. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Jul [cited 2024 Nov 7];10(7):423–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23528347/>
67. Lee JH, Kim SA, Park HY, Lee KH, Lee KT, Lee JK, et al. New-onset diabetes patients need pancreatic cancer screening? *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 7];46(7):e58–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22138846/>
68. Huang Y, Cai X, Qiu M, Chen P, Tang H, Hu Y, et al. Prediabetes and the risk of cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];57(11):2261–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25208757/>
69. Ben Q, Xu M, Ning X, Liu J, Hong S, Huang W, et al. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer* [Internet]. 2011 Sep [cited 2024 Nov 7];47(13):1928–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21458985/>
70. Singh S, Singh PP, Singh AG, Murad MH, McWilliams RR, Chari ST. Anti-diabetic medications and risk of pancreatic cancer in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Nov 7];108(4):510–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23399556/>
71. Wang Z, Lai S tao, Xie L, Zhao J dong, Ma N yi, Zhu J, et al. Metformin is associated with reduced risk of pancreatic cancer in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];106(1):19–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24837144/>

72. Stolzenberg-Solomon RZ, Blaser MJ, Limburg PJ, Perez-Perez G, Taylor PR, Virtamo J, et al. *Helicobacter pylori* seropositivity as a risk factor for pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2001 Jun 20 [cited 2024 Nov 7];93(12):937–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11416115/>
73. De Gonzalez AB, Jee SH, Engels EA. No association between hepatitis B and pancreatic cancer in a prospective study in Korea. *Journal of Clinical Oncology*. 2009 Feb 1;27(4):648.
74. Hassan MM, Li D, El-Deeb AS, Wolff RA, Bondy ML, Davila M, et al. Association between hepatitis B virus and pancreatic cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];26(28):4557–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18824707/>
75. Song C, Lv J, Liu Y, Chen JG, Ge Z, Zhu J, et al. Associations Between Hepatitis B Virus Infection and Risk of All Cancer Types. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2024 Nov 7];2(6):E195718. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31199446/>
76. Cai J, Chen H, Lu M, Zhang Y, Lu B, You L, et al. Advances in the epidemiology of pancreatic cancer: Trends, risk factors, screening, and prognosis. *Cancer Lett* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Nov 6];520:1–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34216688/>
77. Canto MI, Harinck F, Hruban RH, Offerhaus GJ, Poley JW, Kamel I, et al. International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) Consortium summit on the management of patients with increased risk for familial pancreatic cancer. *Gut* [Internet]. 2013 Mar [cited 2024 Nov 7];62(3):339–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23135763/>
78. Yeo TP. Demographics, epidemiology, and inheritance of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Semin Oncol* [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2024 Nov 7];42(1):8–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25726048/>
79. Humphris JL, Johns AL, Simpson SH, Cowley MJ, Pajic M, Chang DK, et al. Clinical and pathologic features of familial pancreatic cancer. *Cancer* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2024 Nov 7];120(23):3669–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25313458/>
80. Hruban RH, Canto MI, Goggins M, Schulick R, Klein AP. Update on familial pancreatic cancer. *Adv Surg* [Internet]. 2010 Sep [cited 2024 Nov 7];44(1):293–311. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20919528/>
81. Rainone M, Singh I, Salo-Mullen EE, Stadler ZK, O'Reilly EM. An Emerging Paradigm for Germline Testing in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Immediate Implications for Clinical Practice: A Review. *JAMA Oncol* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Nov 7];6(5):764–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32053139/>
82. Van Lier MGF, Wagner A, Mathus-Vliegen EMH, Kuipers EJ, Steyerberg EW, Van Leerdam ME. High cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and surveillance recommendations. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2024 Nov 7];105(6):1258–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20051941/>
83. Aslanian HR, Lee JH, Canto MI. AGA Clinical Practice Update on Pancreas Cancer Screening in High-Risk Individuals: Expert Review. *Gastroenterology* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2024 Nov 7];159(1):358–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32416142/>
84. Howes N, Lerch MM, Greenhalf W, Stocken DD, Ellis I, Simon P, et al. Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* [Internet]. 2004 Mar [cited 2024 Nov 7];2(3):252–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15017610/>
85. Rebours V, Lévy P, Ruzsniowski P. An overview of hereditary pancreatitis. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2012 Jan [cited 2024 Nov 7];44(1):8–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21907651/>
86. Shelton CA, Umapathy C, Stello K, Yadav D, Whitcomb DC. Hereditary Pancreatitis in the United States: Survival and Rates of Pancreatic Cancer. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2024 Nov 7];113(9):1376–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30018304/>

87. Rebours V, Boutron-Ruault MC, Schnee M, Férec C, Maire F, Hammel P, et al. Risk of pancreatic adenocarcinoma in patients with hereditary pancreatitis: a national exhaustive series. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2008 Jan [cited 2024 Nov 7];103(1):111–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18184119/>
88. De Snoo FA, Bishop DT, Bergman W, Van Leeuwen I, Van Der Drift C, Van Nieuwpoort FA, et al. Increased risk of cancer other than melanoma in CDKN2A founder mutation (p16-Leiden)-positive melanoma families. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2008 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];14(21):7151–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18981015/>
89. Hu C, Hart SN, Polley EC, Gnanaolivu R, Shimelis H, Lee KY, et al. Association Between Inherited Germline Mutations in Cancer Predisposition Genes and Risk of Pancreatic Cancer. *JAMA* [Internet]. 2018 Jun 19 [cited 2024 Nov 7];319(23):2401–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29922827/>
90. Kastrinos F, Mukherjee B, Tayob N, Wang F, Sparr J, Raymond VM, et al. Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome. *JAMA* [Internet]. 2009 [cited 2024 Nov 7];302(16):1790–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19861671/>
91. Møller P, Seppälä TT, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, et al. Cancer risk and survival in path_MMR carriers by gene and gender up to 75 years of age: a report from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Gut* [Internet]. 2018 [cited 2024 Nov 7];67(7):1306–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28754778/>
92. Roberts NJ, Norris AL, Petersen GM, Bondy ML, Brand R, Gallinger S, et al. Whole Genome Sequencing Defines the Genetic Heterogeneity of Familial Pancreatic Cancer. *Cancer Discov* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Nov 7];6(2):166–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26658419/>
93. Kratz CP, Achatz MI, Brugieres L, Frebourg T, Garber JE, Greer MLC, et al. Cancer Screening Recommendations for Individuals with Li-Fraumeni Syndrome. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Nov 7];23(11):e38–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28572266/>
94. Hsu FC, Roberts NJ, Childs E, Porter N, Rabe KG, Borgida A, et al. Risk of Pancreatic Cancer Among Individuals With Pathogenic Variants in the ATM Gene. *JAMA Oncol* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];7(11):1664–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34529012/>
95. Jones S, Hruban RH, Kamiyama M, Borges M, Zhang X, Parsons DW, et al. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science* [Internet]. 2009 Apr 10 [cited 2024 Nov 7];324(5924):217. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19264984/>
96. Van Asperen CJ, Brohet RM, Meijers-Heijboer EJ, Hoogerbrugge N, Verhoef S, Vasen HFA, et al. Cancer risks in BRCA2 families: estimates for sites other than breast and ovary. *J Med Genet* [Internet]. 2005 Sep [cited 2024 Nov 7];42(9):711–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16141007/>
97. Llach J, Carballal S, Moreira L. Familial Pancreatic Cancer: Current Perspectives. *Cancer Manag Res* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 Nov 7];12:743–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32099470/>
98. Slater EP, Langer P, Niemczyk E, Strauch K, Butler J, Habbe N, et al. PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families. *Clin Genet*. 2010 Nov;78(5):490–4.
99. Lucas AL, Frado LE, Hwang C, Kumar S, Khanna LG, Levinson EJ, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations are frequently demonstrated in both high-risk pancreatic cancer screening and pancreatic cancer cohorts. *Cancer* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2024 Nov 7];120(13):1960–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24737347/>
100. Rogers CD, Van Der Heijden MS, Brune K, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE, et al. The genetics of FANCC and FANCG in familial pancreatic cancer. *Cancer Biol Ther* [Internet]. 2004 [cited 2024 Nov 7];3(2):167–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14726700/>

101. Sawhney MS, Calderwood AH, Thosani NC, Rebbeck TR, Wani S, Canto MI, et al. ASGE guideline on screening for pancreatic cancer in individuals with genetic susceptibility: summary and recommendations. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Nov 7];95(5):817–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35183358/>
102. Klein AP, Brune KA, Petersen GM, Goggins M, Tersmette AC, Offerhaus GJA, et al. Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds. *Cancer Res* [Internet]. 2004 Apr 1 [cited 2024 Nov 7];64(7):2634–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15059921/>
103. Grover S, Syngal S. Hereditary pancreatic cancer. *Gastroenterology* [Internet]. 2010 [cited 2024 Nov 7];139(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20727885/>
104. Brune KA, Lau B, Palmisano E, Canto M, Goggins MG, Hruban RH, et al. Importance of age of onset in pancreatic cancer kindreds. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2010 Jan [cited 2024 Nov 7];102(2):119–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20068195/>
105. Park W, Chawla A, O'Reilly EM. Pancreatic Cancer: A Review. *JAMA* [Internet]. 2021 Sep 7 [cited 2024 Nov 9];326(9):851–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34547082/>
106. Walter FM, Mills K, Mendonça SC, Abel GA, Basu B, Carroll N, Ballard S, Lancaster J, Hamilton W, Rubin GP EJD. Symptoms and patient factors associated with diagnostic intervals for pancreatic cancer (SYMPTOM pancreatic study): a prospective cohort study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016;(Dec;1(4)):298–306.
107. Hart PA, Kamada P, Rabe KG, Srinivasan S, Basu A, Aggarwal G, et al. Weight loss precedes cancer-specific symptoms in pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. *Pancreas* [Internet]. 2011 Jul [cited 2024 Nov 8];40(5):768–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21654538/>
108. Casado D, Tocino RV, Fonseca E, Cigarral B, Barrios B, Escalera E et al. Cáncer de páncreas. *Medicine*. 2021;13(24):1345–1352. Available on: <https://doi.org/10.1016/J>.
109. Carrato Mena A, Hidalgo Medina M. Guía para el diagnóstico y tratamiento del Cáncer de Páncreas. Primera ed. Luzan 5 SA, editor. Madrid; 2017. 135 p.
110. Lupinacci RM, Faron M, Bachellier P, Sauvanet A, Beauchet A, Le Treut YP, et al. Acute Pancreatitis as the Initial Presentation of Pancreatic Adenocarcinoma does not Impact Short- and Long-term Outcomes of Curative Intent Surgery: A Study of the French Surgical Association. *World J Surg* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Nov 8];45(10):3146–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34191085/>
111. Sadr-Azodi O, Oskarsson V, Discacciati A, Videhult P, Askling J, Ekblom A. Pancreatic Cancer Following Acute Pancreatitis: A Population-based Matched Cohort Study. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2024 Nov 8];113(11):1711–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30315287/>
112. Guo M, Luo G, Lu R, Shi W, Cheng H, Lu Y, et al. Distribution of Lewis and Secretor polymorphisms and corresponding CA19-9 antigen expression in a Chinese population. *FEBS Open Bio* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2024 Nov 7];7(11):1660–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29123975/>
113. Kawa S, Tokoo M, Oguchi H, Furuta S, Homma T, Hasegawa Y, et al. Epitope analysis of SPan-1 and DUPAN-2 using Synthesized Glycoconjugates Sialyllact-N-Fucopentaose II and Sialyllact-N-Tetraose. *Pancreas*. 1994;9(6):692–7.
114. Okada KI, Kawai M, Tani M, Hirono S, Miyazawa M, Shimizu A, et al. Predicting factors for unresectability in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2014;21(9):648–53.
115. Yang J, Xu R, Wang C, Qiu J, Ren B, You L. Early screening and diagnosis strategies of pancreatic cancer: a comprehensive review. *Cancer Commun (Lond)* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Nov 7];41(12):1257–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34331845/>
116. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, Behrman SW, Benson AB, Cardin DB, et al. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr*

- Canc Netw [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Nov 7];19(4):439–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33845462/>
117. Morris-Stiff G, Taylor MA. Ca19-9 and pancreatic cancer: Is it really that good? J Gastrointest Oncol [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 7];3(2):88–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22811875/>
 118. Ćwik G, Wallner G, Skoczylas T, Ciechański A, Zinkiewicz K. Cancer antigens 19-9 and 125 in the differential diagnosis of pancreatic mass lesions. Arch Surg [Internet]. 2006 [cited 2024 Nov 8];141(10):968–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17043274/>
 119. Humphris JL, Chang DK, Johns AL, Scarlett CJ, Pajic M, Jones MD, et al. The prognostic and predictive value of serum CA19.9 in pancreatic cancer. Ann Oncol [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 8];23(7):1713–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22241899/>
 120. Kondo N, Murakami Y, Uemura K, Hayashidani Y, Sudo T, Hashimoto Y, et al. Prognostic impact of perioperative serum CA 19-9 levels in patients with resectable pancreatic cancer. Ann Surg Oncol [Internet]. 2010 Sep [cited 2024 Nov 8];17(9):2321–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20336387/>
 121. GOLD P, FREEDMAN SO. DEMONSTRATION OF TUMOR-SPECIFIC ANTIGENS IN HUMAN COLONIC CARCINOMATA BY IMMUNOLOGICAL TOLERANCE AND ABSORPTION TECHNIQUES. J Exp Med [Internet]. 1965 [cited 2024 Apr 11];121(3):439–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14270243/>
 122. Abdelhakam DA, Badr FM, Teama MAEM, Bahig Elmihy NM, El-Mohamdy MA. Serum amyloid A, ferritin and carcinoembryonic antigen as biomarkers of severity in patients with COVID-19. Biomed Rep [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2024 Nov 7];16(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34987797/>
 123. Nozawa H, Yokota Y, Emoto S, Yokoyama Y, Sasaki K, Muroto K, et al. Unexplained increases in serum carcinoembryonic antigen levels in colorectal cancer patients during the postoperative follow-up period: an analysis of its incidence and longitudinal pattern. Ann Med [Internet]. 2023 [cited 2024 Nov 7];55(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37963211/>
 124. Kane LE, Mellotte GS, Mylod E, O'Brien RM, O'Connell F, Buckley CE, et al. Diagnostic Accuracy of Blood-based Biomarkers for Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. Cancer research communications [Internet]. 2022 [cited 2024 Nov 12];2(10):1229–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36969742/>
 125. Xing H, Wang J, Wang Y, Tong M, Hu H, Huang C, et al. Diagnostic Value of CA 19-9 and Carcinoembryonic Antigen for Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. Gastroenterol Res Pract [Internet]. 2018 [cited 2024 Nov 12];2018. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30584422/>
 126. Ferri MJ, Saez M, Figueras J, Fort E, Sabat M, López-Ben S, et al. Improved Pancreatic Adenocarcinoma Diagnosis in Jaundiced and Non-Jaundiced Pancreatic Adenocarcinoma Patients through the Combination of Routine Clinical Markers Associated to Pancreatic Adenocarcinoma Pathophysiology. PLoS One [Internet]. 2016 Jan 25 [cited 2024 Nov 12];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26808421/>
 127. van Manen L, Groen J V., Putter H, Vahrmeijer AL, Swijnenburg RJ, Bonsing BA, et al. Elevated CEA and CA19-9 serum levels independently predict advanced pancreatic cancer at diagnosis. Biomarkers. 2020 Feb 17;25(2):186–93.
 128. Kato H, Kishiwada M, Hayasaki A, Chipaila J, Maeda K, Noguchi D, et al. Role of Serum Carcinoma Embryonic Antigen (CEA) Level in Localized Pancreatic Adenocarcinoma: CEA Level before Operation is a Significant Prognostic Indicator in Patients with Locally Advanced Pancreatic Cancer Treated with Neoadjuvant Therapy Followed by Surgical Resection: A Retrospective Analysis. Ann Surg [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Apr 11];275(5):E698–707. Available from: https://journals.lww.com/annalsurgery/fulltext/2022/05000/role_of_serum_carcinoma_embryonic_antigen__cea_.36.aspx

129. Nista EC, Schepis T, Candelli M, Giuli L, Pignataro G, Franceschi F, et al. Humoral Predictors of Malignancy in IPMN: A Review of the Literature. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Apr 11];22(23). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34884643/>
130. Gu YL, Lan C, Pei H, Yang SN, Liu YF, Xiao LL. Applicative Value of Serum CA19-9, CEA, CA125 and CA242 in Diagnosis and Prognosis for Patients with Pancreatic Cancer Treated by Concurrent Chemoradiotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev* [Internet]. 2015 [cited 2024 Nov 12];16(15):6569–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26434876/>
131. Dou H, Sun G, Zhang L. CA242 as a biomarker for pancreatic cancer and other diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 Nov 12];162:229–39. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30905452/>
132. Hasan Ozkan 1, Muhsin Kaya AC. Comparison of tumor marker CA 242 with CA 19-9 and carcinoembryonic antigen (CEA) in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology*. 2003;50(53):1669-1674.
133. Yimin Zhang 1, Jun Yang 2, Hongjuan Li 3, Yihua Wu 4, Honghe Zhang 4 WC 1. Tumor markers CA19-9, CA242 and CEA in the diagnosis of pancreatic cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* . 2015;8(7): eCol(7):11683-11691.
134. Lee JS, Park SS, Lee YK, Norton JA, Jeffrey SS. Liquid biopsy in pancreatic ductal adenocarcinoma: current status of circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Mol Oncol* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Nov 9];13(8):1623–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31243883/>
135. Al-Hawary MM, Francis IR, Chari ST, Fishman EK, Hough DM, Lu DS, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma radiology reporting template: consensus statement of the society of abdominal radiology and the american pancreatic association. *Gastroenterology* [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 9];146(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24355035/>
136. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, Bécouarn Y, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 May 12 [cited 2024 Nov 9];364(19):1817–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21561347/>
137. Conroy T, Pfeiffer P, Vilgrain V, Lamarca A, Seufferlein T, O'Reilly EM, et al. Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2024 Nov 9];34(11):987–1002. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37678671/>
138. Wang XY, Yang F, Jin C, Fu DL. Utility of PET/CT in diagnosis, staging, assessment of resectability and metabolic response of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Nov 14 [cited 2024 Nov 9];20(42):15580–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25400441/>
139. Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *Lancet* [Internet]. 2020 Jun 27 [cited 2024 Dec 1];395(10242):2008–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32593337/>
140. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2017 Mar [cited 2024 Dec 1];67(2):93–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28094848/>
141. Cortiana V, Vallabhaneni H, Gambill J, Nadar S, Itodo K, Park CH, et al. Advancing Pancreatic Cancer Surgical Treatments and Proposal of New Approaches. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2024 Aug 1 [cited 2024 Dec 1];16(16). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39199619/>
142. Bockhorn M, Uzunoglu FG, Adham M, Imrie C, Milicevic M, Sandberg AA, et al. Borderline resectable pancreatic cancer: a consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). *Surgery* [Internet]. 2014 [cited 2024 Dec 1];155(6):977–88. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24856119/>
143. Tempero M, Malafa M BAB et al. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 3.2024 NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. In: *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. 2024. p. M30–1.

144. Versteijne E, Van Dam JL, Suker M, Janssen QP, Groothuis K, Akkermans-Vogelaar JM, et al. Neoadjuvant Chemoradiotherapy Versus Upfront Surgery for Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Long-Term Results of the Dutch Randomized PREOPANC Trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2022 Apr 10 [cited 2024 Nov 9];40(11):1220–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35084987/>
145. Casolino R, Braconi C, Malleo G, Paiella S, Bassi C, Milella M, et al. Reshaping preoperative treatment of pancreatic cancer in the era of precision medicine. *Annals of Oncology* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2024 Nov 8];32(2):183–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33248227/>
146. Yamada S, Hashimoto D, Yamamoto T, Yamaki S, Oshima K, Murotani K, et al. Reconsideration of the clinical impact of neoadjuvant therapy in resectable and borderline resectable pancreatic cancer: A dual-institution collaborative clinical study. *Pancreatology*. 2024 Jun 1;24(4):592–9.
147. Johnson R, McClelland PH, Ahmad SA. Neoadjuvant and Adjuvant Therapy in Resectable Pancreatic Adenocarcinoma. *Surg Clin North Am* [Internet]. 2024 Oct 1 [cited 2024 Oct 31];104(5):987–1005. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39237173/>
148. de Jesus VHF, Riechelmann RP. Comparative efficacy of modified FOLFIRINOX, gemcitabine plus capecitabine and gemcitabine plus nab-paclitaxel as adjuvant treatment for resected pancreatic cancer: a Bayesian network meta-analysis. *Ecancermedalscience* [Internet]. 2021 [cited 2024 Oct 31];15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34567261/>
149. Wood LD, Canto MI, Jaffee EM, Simeone DM. Pancreatic Cancer: Pathogenesis, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterology* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Nov 9];163(2):386–402.e1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35398344/>
150. Nehme F, Lee JH. Preoperative biliary drainage for pancreatic cancer. *Dig Endosc* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Nov 9];34(3):428–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34275165/>
151. Chan MY, Chok KSH. Sarcopenia in pancreatic cancer - effects on surgical outcomes and chemotherapy. *World J Gastrointest Oncol* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Nov 10];11(7):527–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31367272/>
152. Michl P, Löhr M, Neoptolemos JP, Capurso G, Rebours V, Malats N, et al. UEG position paper on pancreatic cancer. Bringing pancreatic cancer to the 21st century: Prevent, detect, and treat the disease earlier and better. *United European Gastroenterol J* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Nov 9];9(7):860–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34431604/>
153. Domínguez-Muñoz JE, Nieto-García L, López-Díaz J, Lariño-Noia J, Abdulkader I, Iglesias-García J. Impact of the treatment of pancreatic exocrine insufficiency on survival of patients with unresectable pancreatic cancer: a retrospective analysis. *BMC Cancer* [Internet]. 2018 May 5 [cited 2024 Nov 10];18(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29728096/>
154. Roberts KJ, Schrem H, Hodson J, Angelico R, Dasari BVM, Coldham CA, et al. Pancreas exocrine replacement therapy is associated with increased survival following pancreatoduodenectomy for periampullary malignancy. *HPB (Oxford)* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2024 Nov 10];19(10):859–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28711377/>
155. Justo Alonso I, Marcauzco Quinto A, Caso Maestro O, Alonso Murillo L, Rioja Conde P, Fernández Fernández C, et al. Whipple's cephalic pancreaticoduodenectomy versus pyloric-preserving pancreaticoduodenectomy. Retrospective study. *Cir Esp* [Internet]. 2024 May [cited 2024 Nov 10];102(5):265–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38493929/>
156. Ergenc M, Karpuz S, Ergenc M, Yegen C. Enhanced recovery after pancreatic surgery: A prospective randomized controlled clinical trial. *J Surg Oncol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Dec 3];124(7):1070–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34287900/>
157. Pineño-Flores C, Ambrona-Zafra D, Rodríguez-Pino JC, Soldevila-Verdeguer C, Palma-Zamora E, Molina-Romero FX, et al. Cephalic pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma in the elderly. Can we do it safely? *Cir Esp* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Nov 11];100(3):125–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33714556/>

158. Simons JP, Shah SA, Ng SC, Whalen GF, Tseng JF. National complication rates after pancreatectomy: beyond mere mortality. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2009 Sep [cited 2024 Nov 11];13(10):1798–805. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19506975/>
159. Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, Koniaris L, Kaushal S, Abrams RA, et al. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2000 [cited 2024 Nov 11];4(6):567–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11307091/>
160. Mintziras I, Wächter S, Manoharan J, Kanngiesser V, Maurer E, Bartsch DK. Postoperative morbidity following pancreatic cancer surgery is significantly associated with worse overall patient survival; systematic review and meta-analysis. *Surg Oncol* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Dec 11];38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33857838/>
161. Winter JM, Cameron JL, Campbell KA, Arnold MA, Chang DC, Coleman JA, et al. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: A single-institution experience. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2006 Nov [cited 2024 Nov 11];10(9):1199–211. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17114007/>
162. Simon R. Complications After Pancreaticoduodenectomy. *Surg Clin North Am* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Nov 11];101(5):865–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34537148/>
163. Dominguez-Comesaña E, Gonzalez-Rodriguez FJ, Ulla-Rocha JL, Lede-Fernandez Á, Portela-Serra JL, Piñon-Cimadevila MÁ. [Morbidity and mortality in pancreatic resection]. *Cir Esp* [Internet]. 2013 Dec [cited 2024 Nov 11];91(10):651–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23541704/>
164. Standop J, Glowka T, Schmitz V, Schäfer N, Overhaus M, Hirner A, et al. Operative re-intervention following pancreatic head resection: indications and outcome. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2009 Jul [cited 2024 Nov 11];13(8):1503–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19421823/>
165. Téoule P, Bartel F, Birgin E, Rückert F, Wilhelm TJ. The Clavien-Dindo Classification in Pancreatic Surgery: A Clinical and Economic Validation. *J Invest Surg* [Internet]. 2019 May 19 [cited 2024 Nov 11];32(4):314–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29336625/>
166. Eshmuminov D, Aminjonov B, Palm RF, Malleo G, Schmocker RK, Abdallah R, et al. FOLFIRINOX or Gemcitabine-based Chemotherapy for Borderline Resectable and Locally Advanced Pancreatic Cancer: A Multi-institutional, Patient-Level, Meta-analysis and Systematic Review. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Oct 31];30(7):4417–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37020094/>
167. Van Der Merwe SW, Van Wanrooij RLJ, Bronswijk M, Everett S, Lakhtakia S, Rimbass M, et al. Therapeutic endoscopic ultrasound: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2024 Dec 21];54(2):185–205. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34937098/>
168. Chen YI, Sahai A, Donatelli G, Lam E, Forbes N, Mosko J, et al. Endoscopic Ultrasound-Guided Biliary Drainage of First Intent With a Lumen-Apposing Metal Stent vs Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography in Malignant Distal Biliary Obstruction: A Multicenter Randomized Controlled Study (ELEMENT Trial). *Gastroenterology* [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2025 Jan 1];165(5):1249–1261.e5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37549753/>
169. Wyse JM, Sahai A V. EUS-guided celiac plexus neurolysis for pancreas cancer - Finally established or still under review? *Best Pract Res Clin Gastroenterol* [Internet]. 2022 Sep 1 [cited 2024 Dec 21];60–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577532/>
170. Chary A, Edalat F. Celiac Plexus Cryoneurolysis. *Semin Intervent Radiol*. 2022 Apr 1;39(2):138–41.
171. National Cancer Institute. Bethesda. 2020. Cancer stat facts: pancreatic cancer. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>

172. Stoffel EM, Brand RE, Goggins M. Pancreatic Cancer: Changing Epidemiology and New Approaches to Risk Assessment, Early Detection, and Prevention. *Gastroenterology* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2024 Nov 9];164(5):752–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36804602/>
173. Modi S, Kir D, Saluja AK. Old Dog, New Tricks: Use of CA 19-9 for Early Diagnosis of Pancreatic Cancer. *Gastroenterology* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2024 Nov 12];160(4):1019–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33417931/>
174. Fahrman JF, Schmidt CM, Mao X, Irajizad E, Loftus M, Zhang J, et al. Lead-Time Trajectory of CA19-9 as an Anchor Marker for Pancreatic Cancer Early Detection. *Gastroenterology* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2024 Nov 12];160(4):1373-1383.e6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33333055/>
175. Bestari MB, Joewono IR, Syam AF. A Quest for Survival: A Review of the Early Biomarkers of Pancreatic Cancer and the Most Effective Approaches at Present. *Biomolecules* [Internet]. 2024 Mar 1 [cited 2024 Nov 7];14(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38540782/>
176. Sharma GG, Okada Y, Von Hoff D, Goel A. Non-coding RNA biomarkers in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Nov 7];75:153–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33049362/>
177. Amaral MJ, Oliveira RC, Donato P, Tralhão JG. Pancreatic Cancer Biomarkers: Oncogenic Mutations, Tissue and Liquid Biopsies, and Radiomics-A Review. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Nov 7];68(7):2811–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36988759/>
178. Singhi AD, Koay EJ, Chari ST, Maitra A. Early Detection of Pancreatic Cancer: Opportunities and Challenges. *Gastroenterology* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Nov 12];156(7):2024–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30721664/>
179. Canto MI, Hruban RH, Fishman EK, Kamel IR, Schulick R, Zhang Z, et al. Frequent detection of pancreatic lesions in asymptomatic high-risk individuals. *Gastroenterology* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 7];142(4):796–804. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22245846/>
180. Harinck F, Konings ICAW, Kluij I, Poley JW, Van Hooft JE, Van Dullemen HM, et al. A multicentre comparative prospective blinded analysis of EUS and MRI for screening of pancreatic cancer in high-risk individuals. *Gut* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2024 Nov 7];65(9):1505–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25986944/>
181. Ohtsuka T, Fernandez-del Castillo C, Furukawa T, Hijioka S, Jang JY, Lennon AM, et al. International evidence-based Kyoto guidelines for the management of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas. *Pancreatology* [Internet]. 2024 Mar 1 [cited 2024 Nov 15];24(2):255–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38182527/>
182. Del Chiaro M, Besselink MG, Scholten L, Bruno MJ, Cahen DL, Gress TM, et al. European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms. *Gut* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2024 Nov 14];67(5):789–804. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29574408/>
183. Vege SS, Ziring B, Jain R, Moayyedi P. American gastroenterological association institute guideline on the diagnosis and management of asymptomatic neoplastic pancreatic cysts. *Gastroenterology* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2024 Nov 26];148(4):819–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25805375/>
184. Megibow AJ, Baker ME, Morgan DE, Kamel IR, Sahani D V., Newman E, et al. Management of Incidental Pancreatic Cysts: A White Paper of the ACR Incidental Findings Committee. *J Am Coll Radiol* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Nov 26];14(7):911–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28533111/>
185. Tanaka M, Fernández-del Castillo C, Kamisawa T, Jang JY, Levy P, Ohtsuka T, et al. Revisions of international consensus Fukuoka guidelines for the management of IPMN of the pancreas. *Pancreatology* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2024 Nov 15];17(5):738–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28735806/>

186. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2024 Nov 17];76(2):182–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31433515/>
187. Vilela A, Quingalahua E, Vargas A, Hawa F, Shannon C, Carpenter ES, et al. Global Prevalence of Pancreatic Cystic Lesions in the General Population on Magnetic Resonance Imaging: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2024 Sep 1 [cited 2024 Nov 16];22(9):1798-1809.e6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38423346/>
188. Fernández-Del Castillo C, Targarona J, Thayer SP, Rattner DW, Brugge WR, Warshaw AL, et al. Incidental pancreatic cysts: clinicopathologic characteristics and comparison with symptomatic patients. *Arch Surg* [Internet]. 2003 Apr 1 [cited 2024 Nov 16];138(4):427–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12686529/>
189. Kromrey ML, Bülow R, Hübner J, Paperlein C, Lerch MM, Ittermann T, et al. Prospective study on the incidence, prevalence and 5-year pancreatic-related mortality of pancreatic cysts in a population-based study. *Gut* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2024 Nov 14];67(1):138–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28877981/>
190. Kimura W, Nagai H, Kuroda A, Muto T, Esaki Y. Analysis of small cystic lesions of the pancreas. *Int J Pancreatol* [Internet]. 1995 Dec [cited 2024 Nov 15];18(3):197–206. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8708390/>
191. Laffan TA, Horton KM, Klein AP, Berlanstein B, Siegelman SS, Kawamoto S, et al. Prevalence of unsuspected pancreatic cysts on MDCT. *AJR Am J Roentgenol* [Internet]. 2008 Sep [cited 2024 Nov 16];191(3):802–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18716113/>
192. Lee KS, Sekhar A, Rofsky NM, Pedrosa I. Prevalence of incidental pancreatic cysts in the adult population on MR imaging. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2010 Sep [cited 2024 Nov 14];105(9):2079–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20354507/>
193. Chang YR, Park JK, Jang JY, Kwon W, Yoon JH, Kim SW. Incidental pancreatic cystic neoplasms in an asymptomatic healthy population of 21,745 individuals: Large-scale, single-center cohort study. *Medicine* [Internet]. 2016 [cited 2024 Nov 25];95(51):e5535. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28002329/>
194. YR C, JK P, JY J, W K, JH Y, SW K. Incidental pancreatic cystic neoplasms in an asymptomatic healthy population of 21,745 individuals: Large-scale, single-center cohort study. *Medicine* [Internet]. 2016 [cited 2024 Nov 14];95(51). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28002329/>
195. Tanaka S, Tsujimae M, Masuda A, Inoue J, Inomata N, Uemura H, et al. Metabolic Syndrome Accelerates the Age-Related Increase of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm of the Pancreas. *Pancreas* [Internet]. 2024 Jan [cited 2024 Nov 14];53(1):e9–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37890158/>
196. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, et al. Classification of acute pancreatitis - 2012: Revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*. 2013;62(1):102–11.
197. Yoon WJ, Brugge WR. Pancreatic cystic neoplasms: diagnosis and management. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2012 Mar [cited 2024 Nov 16];41(1):103–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22341252/>
198. Schechter S, Shi J. Simple Mucinous Cyst of the Pancreas: Review and Update. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2024 Nov 14];141(10):1330–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28968161/>
199. Attiyeh M, Zhang L, Iacobuzio-Donahue C, Allen P, Imam R, Basturk O, et al. Simple mucinous cysts of the pancreas have heterogeneous somatic mutations. *Hum Pathol* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2024 Nov 14];101:1–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32380013/>
200. Milanetto AC, Tonello AS, Valotto G, Munari G, Luchini C, Fassan M, et al. Simple mucinous cyst: another potential cancer precursor in the pancreas? Case report with molecular characterization

- and systematic review of the literature. *Virchows Arch* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2024 Nov 14];479(1):179–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33511431/>
201. Satoh T, Kawaguchi S, Tsuchikabe C, Kanemoto H. Investigating morphological changes in a simple mucinous cyst during the follow-up period: a case report. *Clin J Gastroenterol* [Internet]. 2024 Aug 1 [cited 2024 Nov 14];17(4):737–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38519754/>
 202. Y F, F F, H H, S T, T A, N H, et al. Intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. Comparison of helical CT and MR imaging. *Acta Radiol* [Internet]. 2003 [cited 2024 Nov 16];44(5):447–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14510751/>
 203. Zhao Y, Zhong Y, Zhou L et al. Pancreatic cystic neoplasms: Current trends in diagnosis and management. *World J Gastroenterol*. 2017;23(9):1603–13.
 204. Halbrook CJ, Lyssiotis CA, Pasca di Magliano M, Maitra A. Pancreatic cancer: Advances and challenges. *Cell* [Internet]. 2023 Apr 13 [cited 2024 Nov 11];186(8):1729–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37059070/>
 205. Tanaka M, Fernández-Del Castillo C, Adsay V, Chari S, Falconi M, Jang JY, et al. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatology* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 15];12(3):183–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22687371/>
 206. VM CM, CI A, G LA, F CR. Pathological features and diagnosis of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas. *World J Gastrointest Oncol* [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 30];6(9):311. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25232456/>
 207. Nilsson LN, Keane MG, Shamali A, Millastre Bocos J, Marijinissen van Zanten M, Antila A, et al. Nature and management of pancreatic mucinous cystic neoplasm (MCN): A systematic review of the literature. *Pancreatology* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2024 Nov 17];16(6):1028–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27681503/>
 208. Bai XL, Zhang Q, Masood N, Masood W, Zhang Y, Liang TB. Pancreatic cystic neoplasms: a review of preoperative diagnosis and management. *J Zhejiang Univ Sci B* [Internet]. 2013 Mar [cited 2024 Nov 16];14(3):185–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23463761/>
 209. Valsangkar NP, Morales-Oyarvide V, Thayer SP, Ferrone CR, Wargo JA, Warshaw AL, et al. 851 resected cystic tumors of the pancreas: a 33-year experience at the Massachusetts General Hospital. *Surgery* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 16];152(3 Suppl 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22770958/>
 210. Fogliati A, Crippa S, Marchegiani G, Belfiori G, Pea A, Graham RP, et al. Implications of pregnancy on MCN of the pancreas: A multicentric case-control study. *Pancreatology* [Internet]. 2024 Aug 1 [cited 2024 Nov 17];24(5):747–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38702207/>
 211. Crippa S, Salvia R, Warshaw AL, Domínguez I, Bassi C, Falconi M, et al. Mucinous cystic neoplasm of the pancreas is not an aggressive entity: lessons from 163 resected patients. *Ann Surg* [Internet]. 2008 Apr [cited 2024 Nov 17];247(4):571–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18362619/>
 212. Zhao ZM, Jiang N, Gao YX, Yin ZZ, Zhao GD, Tan XL, et al. Clinical diagnosis and management of pancreatic mucinous cystadenoma and cystadenocarcinoma: Single-center experience with 82 patients. *World J Gastrointest Oncol* [Internet]. 2020 [cited 2024 Nov 17];12(6):642–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32699579/>
 213. Hozaka Y, Ohtsuka T, Nakamura M, Hijioka S, Unno M, Shimizu Y, et al. Feasibility of Surveillance for Mucinous Cystic Neoplasm of the Pancreas: A Multi-Institutional Retrospective Study of 328 Patients by the Japanese Pancreatic Society. *Pancreas* [Internet]. 2023 May 1 [cited 2024 Nov 17];52(5):E288–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37922344/>
 214. Keane MG, Shamali A, Nilsson LN, Antila A, Millastre Bocos J, Marijinissen Van Zanten M, et al. Risk of malignancy in resected pancreatic mucinous cystic neoplasms. *Br J Surg* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Nov 17];105(4):439–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29488646/>

215. Basturk O, Hong SM, Wood LD, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin A V., et al. A Revised Classification System and Recommendations From the Baltimore Consensus Meeting for Neoplastic Precursor Lesions in the Pancreas. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2024 Nov 17];39(12):1730–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26559377/>
216. Krasinskas AM, Oakley GJ, Bagci P, Jang KT, Kuan SF, Reid MD, et al. “Simple Mucinous Cyst” of the Pancreas: A Clinicopathologic Analysis of 39 Examples of a Diagnostically Challenging Entity Distinct From Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms and Mucinous Cystic Neoplasms. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Nov 17];41(1):121–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27740966/>
217. Cao W, Adley BP, Liao J, Lin X, Talamonti M, Bentrem DJ, et al. Mucinous nonneoplastic cyst of the pancreas: apomucin phenotype distinguishes this entity from intraductal papillary mucinous neoplasm. *Hum Pathol* [Internet]. 2010 Apr [cited 2024 Nov 17];41(4):513–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19954814/>
218. Kosmahl M, Egawa N, Schröder S, Carneiro F, Lüttges J, Klöppel G. Mucinous nonneoplastic cyst of the pancreas: a novel nonneoplastic cystic change? *Mod Pathol* [Internet]. 2002 [cited 2024 Nov 17];15(2):154–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11850544/>
219. Nadig SN, Pedrosa I, Goldsmith JD, Callery MP, Vollmer CM. Clinical implications of mucinous nonneoplastic cysts of the pancreas. *Pancreas* [Internet]. 2012 Apr [cited 2024 Nov 17];41(3):441–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22015974/>
220. Hruban RH, Maitra A, Kern SE, Goggins M. Precursors to pancreatic cancer. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2007 Dec [cited 2024 Nov 18];36(4):831–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17996793/>
221. Schlitter AM, Segler A, Steiger K, Michalski CW, Jäger C, Konukiewitz B, et al. Molecular, morphological and survival analysis of 177 resected pancreatic ductal adenocarcinomas (PDACs): Identification of prognostic subtypes. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2024 Nov 18];7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28145465/>
222. Patra KC, Bardeesy N, Mizukami Y. Diversity of Precursor Lesions For Pancreatic Cancer: The Genetics and Biology of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm. *Clin Transl Gastroenterol* [Internet]. 2017 Apr 6 [cited 2024 Nov 18];8(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28383565/>
223. Caldas C, Hahn SA, Da-Costa LT, Redston MS, Schutte M, Seymour AB, et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet* [Internet]. 1994 [cited 2024 Nov 18];8(1):27–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7726912/>
224. Real FX. A “catastrophic hypothesis” for pancreas cancer progression. *Gastroenterology* [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2024 Nov 18];124(7):1958–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12806629/>
225. Hata T, Suenaga M, Marchionni L, Macgregor-Das A, Yu J, Shindo K, et al. Genome-Wide Somatic Copy Number Alterations and Mutations in High-Grade Pancreatic Intraepithelial Neoplasia. *Am J Pathol* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2024 Nov 18];188(7):1723–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29684357/>
226. Kosmahl M, Pauser U, Anlauf M, Klöppel G. Pancreatic ductal adenocarcinomas with cystic features: neither rare nor uniform. *Mod Pathol* [Internet]. 2005 Sep [cited 2024 Nov 18];18(9):1157–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15920540/>
227. Seidel G, Zahurak M, Iacobuzio-Donahue C, Sohn TA, Adsay N V., Yeo CJ, et al. Almost all infiltrating colloid carcinomas of the pancreas and periampullary region arise from in situ papillary neoplasms: a study of 39 cases. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2002 [cited 2024 Nov 18];26(1):56–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11756769/>
228. Nasca V, Chiaravalli M, Piro G, Esposito A, Salvatore L, Tortora G, et al. Intraductal Pancreatic Mucinous Neoplasms: A Tumor-Biology Based Approach for Risk Stratification. *Int J Mol Sci*

- [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 Nov 18];21(17):1–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32887490/>
229. Zaccari P, Cardinale V, Severi C, Pedica F, Carpino G, Gaudio E, et al. Common features between neoplastic and preneoplastic lesions of the biliary tract and the pancreas. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2019 Aug 21 [cited 2024 Nov 18];25(31):4343–59. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31496617/>
 230. Kelly PJ, Shinagare S, Sainani N, Hong X, Ferrone C, Yilmaz O, et al. Cystic papillary pattern in pancreatic ductal adenocarcinoma: a heretofore undescribed morphologic pattern that mimics intraductal papillary mucinous carcinoma. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2012 May [cited 2024 Nov 18];36(5):696–701. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22367300/>
 231. Sato H, Mizukami Y, Sato H, Liss AS, Mizukami Y. Large-duct pattern invasive adenocarcinoma of the pancreas—a variant mimicking pancreatic cystic neoplasms: A minireview. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2021 Jun 21 [cited 2024 Nov 15];27(23):3262–78. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34163110/>
 232. Bagci P, Andea AA, Basturk O, Jang KT, Erbarut I, Adsay V. Large duct type invasive adenocarcinoma of the pancreas with microcystic and papillary patterns: a potential microscopic mimic of non-invasive ductal neoplasia. *Mod Pathol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2024 Nov 18];25(3):439–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22056954/>
 233. Brun A, Agarwal N, Pitchumoni CS. Fluid collections in and around the pancreas in acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2024 Nov 15];45(7):614–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21750432/>
 234. Aghdassi A, Mayerle J, Kraft M, Sielenkämper AW, Heidecke CD, Lerch MM. Diagnosis and treatment of pancreatic pseudocysts in chronic pancreatitis. *Pancreas* [Internet]. 2008 Mar [cited 2024 Nov 16];36(2):105–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18376299/>
 235. Cannon JW, Callery MP, Vollmer CM. Diagnosis and management of pancreatic pseudocysts: what is the evidence? *J Am Coll Surg* [Internet]. 2009 Sep [cited 2024 Nov 16];209(3):385–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19717045/>
 236. Aziz H, Acher AW, Krishna SG, Cloyd JM, Pawlik TM. Comparison of Society Guidelines for the Management and Surveillance of Pancreatic Cysts: A Review. *JAMA Surg* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Nov 16];157(8):723–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35731507/>
 237. Jivani A, Shinde RK, Nagtode T, Vaidya K, Goel S. The Surgical Management of Pancreatic Pseudocysts: A Narrative Review. *Cureus* [Internet]. 2024 Sep 10 [cited 2024 Nov 16];16(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39391462/>
 238. Jais B, Rebours V, Malleo G, Salvia R, Fontana M, Maggino L, et al. Serous cystic neoplasm of the pancreas: a multinational study of 2622 patients under the auspices of the International Association of Pancreatology and European Pancreatic Club (European Study Group on Cystic Tumors of the Pancreas). *Gut* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Nov 18];65(2):305–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26045140/>
 239. Strobel O, Z'graggen K, Schmitz-Winnenthal FH, Friess H, Kappeler A, Zimmermann A, et al. Risk of malignancy in serous cystic neoplasms of the pancreas. *Digestion* [Internet]. 2003 [cited 2024 Nov 18];68(1):24–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12949436/>
 240. Elta GH, Enestvedt BK, Sauer BG, Lennon AM. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Pancreatic Cysts. *American Journal of Gastroenterology*. 2018 Apr 1;113(4):464–79.
 241. Jena SS, Ray S, Das SAP, Mehta NN, Yadav A, Nundy S. Rare Pseudopapillary Neoplasm of the Pancreas: A 10-Year Experience. *Surg Res Pract* [Internet]. 2021 Sep 17 [cited 2024 Nov 19];2021:1–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34568545/>
 242. Law JK, Ahmed A, Singh VK, Akshintala VS, Olson MT, Raman SP, et al. A systematic review of solid-pseudopapillary neoplasms: are these rare lesions? *Pancreas* [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 18];43(3):331–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24622060/>

243. Chang MK, Kyung SK, Jin SC, Kim H, Woo JL, Byong RK. Solid pseudopapillary tumor of the pancreas suggesting malignant potential. *Pancreas* [Internet]. 2006 Apr [cited 2024 Nov 19];32(3):276–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16628083/>
244. Kos-Kudła B, Castaño JP, Denecke T, Grande E, Kjaer A, Koumariou A, et al. European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS) 2023 guidance paper for nonfunctioning pancreatic neuroendocrine tumours. *J Neuroendocrinol* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2024 Nov 14];35(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37877341/>
245. Dasari A, Shen C, Halperin D, Zhao B, Zhou S, Xu Y, et al. Trends in the Incidence, Prevalence, and Survival Outcomes in Patients With Neuroendocrine Tumors in the United States. *JAMA Oncol* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2024 Nov 19];3(10):1335–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28448665/>
246. Cheng Y, Wu D, Wang L, Liu H, Xiong Y, Xu J, et al. Cystic Pancreatic Neuroendocrine Tumors Represent a Distinct Clinical Entity with Less Aggressive Biological Behaviors. *J Surg Res* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Nov 14];260:134–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33340866/>
247. Zhu J kang, Wu D, Xu J wei, Huang X, Jiang Y yuan, Edil BH, et al. Cystic pancreatic neuroendocrine tumors: A distinctive subgroup with indolent biological behavior? A systematic review and meta-analysis. *Pancreatology* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Nov 14];19(5):738–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31160191/>
248. Rindi G, Mete O, Uccella S, Basturk O, La Rosa S, Brosens LAA, et al. Overview of the 2022 WHO Classification of Neuroendocrine Neoplasms. *Endocr Pathol* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Nov 19];33(1):115–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35294740/>
249. Sewkani A, Purohit D, Singh V, Jain A, Varshney R, Varshney S. Lymphoepithelial cyst of the pancreas: a rare case report and review of literature. *Indian J Surg* [Internet]. 2010 [cited 2024 Nov 20];72(6):427–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22131649/>
250. Samuel S, Singh A, Bain A. Pancreatic lymphoepithelial cyst. *VideoGIE* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2024 Nov 20];2(5):110–1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29905275/>
251. Luque JAB, Reyes AG, Muñoz ÁN. Giant pancreatic cystic lymphangioma. *Revista española de enfermedades digestivas* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Nov 20];113(1):75–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33207886/>
252. De Perrot M, Rostan O, Morel P, Le Coultre C. Abdominal lymphangioma in adults and children. *Br J Surg* [Internet]. 1998 [cited 2024 Nov 20];85(3):395–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9529502/>
253. Viscosi F, Fleres F, Mazzeo C, Vulcano I, Cucinotta E. Cystic lymphangioma of the pancreas: a hard diagnostic challenge between pancreatic cystic lesions-review of recent literature. *Gland Surg* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Nov 20];7(5):487–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30505770/>
254. CS. PETLH. A clinicopathologic and immunohistochemical study of ten pancreatic lymphangiomas and a review of the literature. *Cancer*. 1998;82(1):2150–8.
255. Morales-Oyarvide V, Mino-Kenudson M, Ferrone CR, Gonzalez-Gonzalez LA, Warshaw AL, Lillemoe KD, et al. Acute pancreatitis in intraductal papillary mucinous neoplasms: A common predictor of malignant intestinal subtype. *Surgery* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2024 Nov 30];158(5):1219–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26077509/>
256. Baron TH, DiMaio CJ, Wang AY, Morgan KA. American Gastroenterological Association Clinical Practice Update: Management of Pancreatic Necrosis. *Gastroenterology* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2024 Nov 16];158(1):67-75.e1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31479658/>
257. Del Chiaro M, Segersvärd R, Pozzi Mucelli R, Rangelova E, Kartalis N, Ansorge C, et al. Comparison of preoperative conference-based diagnosis with histology of cystic tumors of the pancreas. *Ann*

- Surg Oncol [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 25];21(5):1539–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24385209/>
258. Procacci C, Biasiutti C, Carbognin G, Accordini S, Bicego E, Guarise A, et al. Characterization of cystic tumors of the pancreas: CT accuracy. *J Comput Assist Tomogr* [Internet]. 1999 [cited 2024 Nov 16];23(6):906–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10589565/>
 259. Fisher WE, Hodges SE, Yagnik V, Morón F, Wu MF, Hilsenbeck SG, et al. Accuracy of CT in predicting malignant potential of cystic pancreatic neoplasms. *HPB (Oxford)* [Internet]. 2008 [cited 2024 Nov 16];10(6):483–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19088937/>
 260. Abraham AS, Simon B, Eapen A, Sathyakumar K, Chandramohan A, Raju RS, et al. Role of Cross-sectional Imaging (CT/MRI) in Characterization and Distinguishing Benign from Malignant/Potentially Malignant Cystic Lesions of Pancreas. *J Clin Imaging Sci* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Nov 16];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32494507/>
 261. Jang DK, Song BJ, Ryu JK, Chung KH, Lee BS, Park JK, et al. Preoperative Diagnosis of Pancreatic Cystic Lesions: The Accuracy of Endoscopic Ultrasound and Cross-Sectional Imaging. *Pancreas* [Internet]. 2015 [cited 2024 Nov 25];44(8):1329–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26465956/>
 262. Habashi S, Draganov P V. Pancreatic pseudocyst. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2009 Jan 7 [cited 2024 Nov 16];15(1):38–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19115466/>
 263. Ahlawat SK. Lymphoepithelial Cyst of Pancreas. Role of Endoscopic Ultrasound Guided Fine Needle Aspiration No Title. *Journal of the Pancreas*. 2008;9(2):230–4.
 264. Davidson AJ, Hartman DS. Lymphangioma of the retroperitoneum: CT and sonographic characteristic. *Radiology* [Internet]. 1990 [cited 2024 Nov 20];175(2):507–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2183287/>
 265. De Jong K, Nio CY, Mearadji B, Phoa SS, Engelbrecht MR, Dijkgraaf MG, et al. Disappointing interobserver agreement among radiologists for a classifying diagnosis of pancreatic cysts using magnetic resonance imaging. *Pancreas* [Internet]. 2012 Mar [cited 2024 Nov 25];41(2):278–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22015970/>
 266. Visser BC, Muthusamay VR, Mulvihill SJ, Coakley F. Diagnostic imaging of cystic pancreatic neoplasms. *Surg Oncol* [Internet]. 2004 [cited 2024 Nov 25];13(1):27–39. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15145031/>
 267. Curry CA, Eng J, Horton KM, Urban B, Siegelman S, Kuszyk BS, et al. CT of primary cystic pancreatic neoplasms: can CT be used for patient triage and treatment? *AJR Am J Roentgenol* [Internet]. 2000 [cited 2024 Nov 25];175(1):99–103. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10882255/>
 268. Waters JA, Schmidt CM, Pinchot JW, White PB, Cummings OW, Pitt HA, et al. CT vs MRCP: optimal classification of IPMN type and extent. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2008 Jan [cited 2024 Nov 25];12(1):101–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17917784/>
 269. Ahmad NA, Kochman ML, Brensinger C, Brugge WR, Faigel DO, Gress FG, et al. Interobserver agreement among endosonographers for the diagnosis of neoplastic versus non-neoplastic pancreatic cystic lesions. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2003 [cited 2024 Nov 25];58(1):59–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12838222/>
 270. Kamata K, Kitano M, Omoto S, Kadosaka K, Miyata T, Yamao K, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for differential diagnosis of pancreatic cysts. *Endoscopy*. 2016 Jan 1;48(1):35–41.
 271. Brugge WR, Lewandrowski K, Lee-Lewandrowski E, Centeno BA, Szydlo T, Regan S, et al. Diagnosis of Pancreatic Cystic Neoplasms: A Report of the Cooperative Pancreatic Cyst Study. *Gastroenterology* [Internet]. 2004 [cited 2024 Nov 25];126(5):1330–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15131794/>
 272. Cizginer S, Turner B, Bilge AR, Karaca C, Pitman MB, Brugge WR. Cyst fluid carcinoembryonic antigen is an accurate diagnostic marker of pancreatic mucinous cysts. *Pancreas* [Internet]. 2011

- Oct [cited 2024 Nov 25];40(7):1024–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21775920/>
273. Lekkerkerker SJ, Besselink MG, Busch OR, Verheij J, Engelbrecht MR, Rauws EA, et al. Comparing 3 guidelines on the management of surgically removed pancreatic cysts with regard to pathological outcome. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2024 Nov 22];85(5):1025–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27693645/>
 274. Correa-Gallego C, Miyasaka Y, Hozaka Y, Nishino H, Kawamoto M, Vieira DL, et al. Surveillance after resection of non-invasive intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMN). A systematic review. *Pancreatology* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2024 Nov 22];23(3):258–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36906508/>
 275. Lira-Treviño A, Carranza Mendoza IG, Borbolla Arizti JP, Soriano-Ríos A, Uscanga-Domínguez L, Peláez-Luna M. Pancreatic cystic lesions. Differential diagnosis and treatment strategy. *Revista de gastroenterología de México (English)* [Internet]. 2022 Apr [cited 2024 Nov 25];87(2):188–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35610168/>
 276. Udare A, Agarwal M, Alabousi M, McInnes M, Rubino JG, Marcaccio M, et al. Diagnostic Accuracy of MRI for Differentiation of Benign and Malignant Pancreatic Cystic Lesions Compared to CT and Endoscopic Ultrasound: Systematic Review and Meta-analysis. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Nov 27];54(4):1126–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33847435/>
 277. Hwang J, Kim YK, Min JH, Jeong WK, Hong SS, Kim H joo. Comparison between MRI with MR cholangiopancreatography and endoscopic ultrasonography for differentiating malignant from benign mucinous neoplasms of the pancreas. *Eur Radiol* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2024 Nov 25];28(1):179–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28779397/>
 278. Kim JH, Eun HW, Park HJ, Hong SS, Kim YJ. Diagnostic performance of MRI and EUS in the differentiation of benign from malignant pancreatic cyst and cyst communication with the main duct. *Eur J Radiol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2024 Nov 25];81(11):2927–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22227264/>
 279. Lisotti A, Napoleon B, Facciorusso A, Cominardi A, Crinò SF, Brighi N, et al. Contrast-enhanced EUS for the characterization of mural nodules within pancreatic cystic neoplasms: systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Nov 21];94(5):881-889.e5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34217751/>
 280. Harima H, Kaino S, Shinoda S, Kawano M, Suenaga S, Sakaida I. Differential diagnosis of benign and malignant branch duct intraductal papillary mucinous neoplasm using contrast-enhanced endoscopic ultrasonography. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2015 May 28 [cited 2024 Nov 25];21(20):6252–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26034360/>
 281. Gonda TA, Cahen DL, Farrell JJ. Pancreatic Cysts. Longo DL, editor. *N Engl J Med* [Internet]. 2024 Sep 5 [cited 2024 Nov 19];391(9):832–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39231345/>
 282. Kim JR, Jang JY, Kang MJ, Park T, Lee SY, Jung W, et al. Clinical implication of serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 for the prediction of malignancy in intraductal papillary mucinous neoplasm of pancreas. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2024 Nov 27];22(9):699–707. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26178866/>
 283. De Jong K, Van Hooft JE, Nio CY, Gouma DJ, Dijkgraaf MGW, Bruno MJ, et al. Accuracy of preoperative workup in a prospective series of surgically resected cystic pancreatic lesions. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2012 Sep [cited 2024 Nov 25];47(8–9):1056–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22571417/>
 284. Sedlack R, Affi A, Vazquez-Sequeiros E, Norton ID, Clain JE, Wiersema MJ. Utility of EUS in the evaluation of cystic pancreatic lesions. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2002 Oct [cited 2024 Nov 25];56(4):543–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12297771/>

285. Gillis A, Cipollone I, Cousins G, Conlon K. Does EUS-FNA molecular analysis carry additional value when compared to cytology in the diagnosis of pancreatic cystic neoplasm? A systematic review. *HPB (Oxford)* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2024 Nov 25];17(5):377–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25428782/>
286. Hirabayashi K, Saika T, Nakamura N. Background features in the cytology of pancreatic neoplasms. *DEN open* [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2024 Nov 20];2(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35873514/>
287. Abdelkader A, Hunt B, Hartley CP, Panarelli NC, Giorgadze T. Cystic Lesions of the Pancreas: Differential Diagnosis and Cytologic-Histologic Correlation. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2020 [cited 2024 Nov 20];144(1):47–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31538798/>
288. Morales-Oyarvide V, Yoon WJ, Ingkakul T, Forcione DG, Casey BW, Brugge WR, et al. Cystic pancreatic neuroendocrine tumors: the value of cytology in preoperative diagnosis. *Cancer Cytopathol* [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 25];122(6):435–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24591417/>
289. Raval JS, Zeh HJ, Moser AJ, Lee KK, Sanders MK, Navina S, et al. Pancreatic lymphoepithelial cysts express CEA and can contain mucous cells: potential pitfalls in the preoperative diagnosis. *Mod Pathol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2024 Nov 20];23(11):1467–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802468/>
290. Åkerman M, Domanski H. Orell and Sterrett's Fine Needle Aspiration Cytology. *Orell and Sterrett's Fine Needle Aspiration Cytology* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 30];387–411. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702031519000153>
291. Wu J, Matthaei H, Maitra A, Dal Molin M, Wood LD, Eshleman JR, et al. Recurrent GNAS mutations define an unexpected pathway for pancreatic cyst development. *Sci Transl Med* [Internet]. 2011 Jul 20 [cited 2024 Nov 27];3(92). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21775669/>
292. Bick BL, Enders FT, Levy MJ, Zhang L, Henry MR, Dayyeh BKA, et al. The string sign for diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Endoscopy* [Internet]. 2015 Jul 29 [cited 2024 Nov 26];47(7):626–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25730281/>
293. Hakim S, Coronel E, González G, Ge P, Chari S, Thosani N, et al. An international study of interobserver variability of “string sign” of pancreatic cysts among experienced endosonographers. *Endosc Ultrasound* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Nov 25];10(1):39–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33473044/>
294. Ngamruengphong S, Bartel MJ, Raimondo M. Cyst carcinoembryonic antigen in differentiating pancreatic cysts: a meta-analysis. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2013 Nov [cited 2024 Nov 26];45(11):920–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23790480/>
295. Kanani T, Isherwood J, Chung WY, Dennison A. Diagnostic approaches for pancreatic cystic lesions. *ANZ J Surg* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2024 Nov 26];90(11):2211–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32815222/>
296. Maker A V., Carrara S, Jamieson NB, Pelaez-Luna M, Lennon AM, Dal Molin M, et al. Cyst fluid biomarkers for intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: a critical review from the international expert meeting on pancreatic branch-duct-intraductal papillary mucinous neoplasms. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2024 Nov 26];220(2):243–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25592469/>
297. Pflüger MJ, Jamouss KT, Afghani E, Lim SJ, Rodriguez Franco S, Mayo H, et al. Predictive ability of pancreatic cyst fluid biomarkers: A systematic review and meta-analysis. *Pancreatology* [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2024 Nov 26];23(7):868–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37230894/>
298. Ribeiro T, Vilas-Boas F, Lopes S, Moutinho-Ribeiro P, Macedo G. Performance of Intracystic Glucose Measurement for the Characterization of Pancreatic Cystic Lesions. *J Gastrointest Liver Dis* [Internet]. 2024 [cited 2024 Nov 27];33(1):74–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38554431/>

299. Smith ZL, Satyavada S, Simons-Linares R, Mok SRS, Martinez Moreno B, Aparicio JR, et al. Intracystic Glucose and Carcinoembryonic Antigen in Differentiating Histologically Confirmed Pancreatic Mucinous Neoplastic Cysts. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Nov 27];117(3):478–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35034045/>
300. WANG W, ZHANG L, CHEN L, WEI J, SUN Q, XIE Q, et al. Serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 for prediction of malignancy and invasiveness in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: A meta-analysis. *Biomed Rep* [Internet]. 2015 Jan [cited 2024 Nov 26];3(1):43–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25469245/>
301. Yamaguchi T, Takahashi H, Kagawa R, Takeda R, Sakata S, Yamamoto M, et al. Lymphoepithelial cyst of the pancreas associated with elevated CA 19-9 levels. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* [Internet]. 2008 [cited 2024 Nov 20];15(6):652–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18987938/>
302. Khalid A, Zahid M, Finkelstein SD, LeBlanc JK, Kaushik N, Ahmad N, et al. Pancreatic cyst fluid DNA analysis in evaluating pancreatic cysts: a report of the PANDA study. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2009 May [cited 2024 Nov 26];69(6):1095–102. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19152896/>
303. McCarty TR, Paleti S, Rustagi T. Molecular analysis of EUS-acquired pancreatic cyst fluid for KRAS and GNAS mutations for diagnosis of intraductal papillary mucinous neoplasia and mucinous cystic lesions: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2024 Nov 26];93(5):1019-1033.e5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33359054/>
304. Kadayifci A, Atar M, Wang JL, Forcione DG, Casey BW, Pitman MB, et al. Value of adding GNAS testing to pancreatic cyst fluid KRAS and carcinoembryonic antigen analysis for the diagnosis of intraductal papillary mucinous neoplasms. *Dig Endosc* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Nov 26];29(1):111–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27514845/>
305. Habib GM, Ramadan A, El-Ansary M, Abdellatif Z, El-Serafy M, Okasha H. Value of pancreatic cyst fluid SPINK1 and glucose in differentiating potentially malignant cysts from those of benign nature: A prospective cohort study. *Saudi J Gastroenterol* [Internet]. 2022 Sep [cited 2024 Nov 26];28(5):348–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35848704/>
306. Rätty S, Sand J, Laukkanen J, Vasama K, Bassi C, Salvia R, et al. Cyst fluid SPINK1 may help to differentiate benign and potentially malignant cystic pancreatic lesions. *Pancreatology* [Internet]. 2013 [cited 2024 Nov 26];13(5):530–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24075519/>
307. Singhi AD, McGrath K, Brand RE, Khalid A, Zeh HJ, Chennat JS, et al. Preoperative next-generation sequencing of pancreatic cyst fluid is highly accurate in cyst classification and detection of advanced neoplasia. *Gut* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2024 Dec 14];67(12):2131–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28970292/>
308. Facciorusso A, Buccino VR, Sacco R. Needle-based confocal laser endomicroscopy in pancreatic cysts: a meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 Nov 21];32(9):1084–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32282543/>
309. Facciorusso A, Kovacevic B, Yang D, Vilas-Boas F, Martínez-Moreno B, Stigliano S, et al. Predictors of adverse events after endoscopic ultrasound-guided through-the-needle biopsy of pancreatic cysts: a recursive partitioning analysis. *Endoscopy* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Nov 21];54(12):1158–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35451041/>
310. Marchegiani G, Andrianello S, Pollini T, Caravati A, Biancotto M, Secchetin E, et al. “Trivial” Cysts Redefine the Risk of Cancer in Presumed Branch-Duct Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas: A Potential Target for Follow-Up Discontinuation? *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 Nov 26];114(10):1678–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31449158/>
311. Pergolini I, Sahara K, Ferrone CR, Morales-Oyarvide V, Wolpin BM, Mucci LA, et al. Long-term Risk of Pancreatic Malignancy in Patients With Branch Duct Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm

- in a Referral Center. *Gastroenterology* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2024 Nov 26];153(5):1284-1294.e1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28739282/>
312. Crippa S, Pezzilli R, Bissolati M, Capurso G, Romano L, Brunori MP, et al. Active Surveillance Beyond 5 Years Is Required for Presumed Branch-Duct Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms Undergoing Non-Operative Management. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Nov 26];112(7):1153–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28244498/>
313. Chen CW, Hsu S Der, Lin CH, Cheng MF, Yu JC. Cystic lymphangioma of the jejunal mesentery in an adult: a case report. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2005 Aug 28 [cited 2024 Nov 20];11(32):5084–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16124074/>
314. Millastre Bocos J. Pancreatitis Aguda. Complicaciones locales y sistémicas: tratamiento. In: Editorial Médica Panamericana S, editor. *Pancreatología y Vía Biliar* [Internet]. Primera. Madrid; 2024. p. 97–108. Available from: <http://www.medicapanamericana.com>
315. Garbett NC, Miller JJ, Jenson AB, Chaires JB. Calorimetric analysis of the plasma proteome. *Semin Nephrol* [Internet]. 2007 Nov [cited 2024 Nov 29];27(6):621–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18061844/>
316. Zhou M, Lucas DA, Chan KC, Issaq HJ, Petricoin EF, Liotta LA, et al. An investigation into the human serum “interactome.” *Electrophoresis* [Internet]. 2004 [cited 2024 Nov 29];25(9):1289–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15174051/>
317. Vidal M, Cusick ME, Barabási AL. Interactome networks and human disease. *Cell* [Internet]. 2011 Mar 18 [cited 2024 Nov 29];144(6):986–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21414488/>
318. McIntyre CA, Rodrigues C, Santharaman AV, Goldman DA, Javed AA, Ciprani D, et al. Multiinstitutional Validation Study of Cyst Fluid Protein Biomarkers in Patients With Cystic Lesions of the Pancreas. *Ann Surg* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Dec 2];276(2):E129–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34793354/>
319. Al Efishat MA, Attiyeh MA, Eaton AA, Gönen M, Prosser D, Lokshin AE, et al. Multi-institutional Validation Study of Pancreatic Cyst Fluid Protein Analysis for Prediction of High-risk Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Ann Surg* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2024 Dec 2];268(2):340–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28700444/>
320. Kane LE, Mellotte GS, Conlon KC, Ryan BM, Maher SG. Multi-Omic Biomarkers as Potential Tools for the Characterisation of Pancreatic Cystic Lesions and Cancer: Innovative Patient Data Integration. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2024 Nov 29];13(4):1–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33673153/>
321. Hu JX, Zhao CF, Wang SL, Tu XY, Huang W Bin, Chen JN, et al. Acute pancreatitis: A review of diagnosis, severity prediction and prognosis assessment from imaging technology, scoring system and artificial intelligence. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2023 [cited 2024 Nov 30];29(37):5268–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37899784/>
322. Gao X, Lin J, Wu A, Gu H, Liu X, Yin M, et al. [Application of machine learning model based on XGBoost algorithm in early prediction of patients with acute severe pancreatitis]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2024 Nov 30];35(4):421–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37308200/>
323. Privalov G, Kavina V, Freire E, Privalov PL. Precise scanning calorimeter for studying thermal properties of biological macromolecules in dilute solution. *Anal Biochem* [Internet]. 1995 [cited 2024 Dec 2];232(1):79–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8600837/>
324. Garbett NC, Miller JJ, Jenson AB, Chaires JB. Calorimetry outside the box: a new window into the plasma proteome. *Biophys J* [Internet]. 2008 Feb 15 [cited 2024 Nov 29];94(4):1377–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17951300/>
325. Garbett NC, Brock GN. Differential scanning calorimetry as a complementary diagnostic tool for the evaluation of biological samples. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2024 Dec 2];1860(5):981–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26459005/>

326. Briere LAK, Brandt JM, Medley JB. Measurement of protein denaturation in human synovial fluid and its analogs using differential scanning calorimetry. *J Therm Anal Calorim*. 2010 Oct;102(1):99–106.
327. Dandé, Nöt LG, Wiegand N, Kocsis B, Lőrinczy D. DSC analysis of human synovial fluid samples in the diagnostics of non-septic and septic arthritis. *J Therm Anal Calorim*. 2017 Dec 1;130(3):1249–52.
328. Chagovetz AA, Jensen RL, Recht L, Glantz M, Chagovetz AM. Preliminary use of differential scanning calorimetry of cerebrospinal fluid for the diagnosis of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* [Internet]. 2011 Dec [cited 2024 Dec 2];105(3):499–506. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21720810/>
329. Pultrone L, Schmid R, Waltimo T, Braissant O, Astasov-Frauenhoffer M. Saliva profiling with differential scanning calorimetry: A feasibility study with ex vivo samples. *PLoS One* [Internet]. 2022 Jun 1 [cited 2024 Dec 2];17(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35687571/>
330. Garbett NC, Merchant ML, Helm CW, Jenson AB, Klein JB, Chaires JB. Detection of cervical cancer biomarker patterns in blood plasma and urine by differential scanning calorimetry and mass spectrometry. *PLoS One* [Internet]. 2014 Jan 8 [cited 2024 Dec 2];9(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24416269/>
331. Garbett NC, Mekmaysy CS, Helm CW, Jenson AB, Chaires JB. Differential scanning calorimetry of blood plasma for clinical diagnosis and monitoring. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2009 Jun [cited 2024 Nov 29];86(3):186–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19146849/>
332. Ferencz A, Szatmári D, Lőrinczy D. Thermodynamic Sensitivity of Blood Plasma Components in Patients Afflicted with Skin, Breast and Pancreatic Forms of Cancer. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Nov 29];14(24). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36551631/>
333. Danailova A, Todinova S, Gartcheva L, Bogdanova D, Zlatareva E, Kalaydzhev N, et al. Thermodynamic Signatures of Blood Plasma Proteome in Neurodegenerative Pathologies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2024 Nov 29];24(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36614231/>
334. Tsvetkov PO, Tabouret E, Roman AY, Romain S, Bequet C, Ishimbaeva O, et al. Differential scanning calorimetry of plasma in glioblastoma: toward a new prognostic / monitoring tool. *Oncotarget* [Internet]. 2018 [cited 2024 Nov 29];9(10):9391–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29507697/>
335. Nguyen TQ, Schneider G, Kaliappan A, Buscaglia R, Brock GN, Hall MB, et al. Plasma Thermogram Parameters Differentiate Status and Overall Survival of Melanoma Patients. *Curr Oncol* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Nov 29];30(7):6079–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37504313/>
336. Schneider G, Kaliappan A, Nguyen TQ, Buscaglia R, Brock GN, Hall MB, et al. The Utility of Differential Scanning Calorimetry Curves of Blood Plasma for Diagnosis, Subtype Differentiation and Predicted Survival in Lung Cancer. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Nov 29];13(21). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34771491/>
337. Hermoso-Durán S, García-Rayado G, Ceballos-Laita L, Sostres C, Vega S, Millastre J, et al. Thermal Liquid Biopsy (TLB) Focused on Benign and Premalignant Pancreatic Cyst Diagnosis. *J Pers Med* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2024 Nov 29];11(1):1–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33396529/>
338. Theodore Armand TP, Nfor KA, Kim JI, Kim HC. Applications of Artificial Intelligence, Machine Learning, and Deep Learning in Nutrition: A Systematic Review. *Nutrients* [Internet]. 2024 Apr 6 [cited 2024 Nov 29];16(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38613106/>
339. Vega S, Garcia-Gonzalez MA, Lanás A, Velazquez-Campoy A, Abian O. Deconvolution analysis for classifying gastric adenocarcinoma patients based on differential scanning calorimetry serum thermograms. *Sci Rep* [Internet]. 2015 [cited 2024 Nov 29];5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25614381/>

340. Rodrigo A, Ojeda JL, Vega S, Sanchez-Gracia O, Lanas A, Isla D, et al. Thermal Liquid Biopsy (TLB): A Predictive Score Derived from Serum Thermograms as a Clinical Tool for Screening Lung Cancer Patients. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Nov 29];11(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31331013/>
341. Annesi F, Hermoso-Durán S, Rizzuti B, Bruno R, Pirritano D, Petrone A, et al. Thermal Liquid Biopsy (TLB) of Blood Plasma as a Potential Tool to Help in the Early Diagnosis of Multiple Sclerosis. *J Pers Med* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Nov 29];11(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33924346/>
342. Velazquez-Campoy A, Vega S, Sanchez-Gracia O, Lanas A, Rodrigo A, Kaliappan A, et al. Thermal liquid biopsy for monitoring melanoma patients under surveillance during treatment: A pilot study. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2024 Nov 29];1862(8):1701–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29705200/>
343. Rodrigo A, Abian O, Velázquez-Campoy A, Callejo A, Vega-Sánchez S, Fernandez A, et al. Liquid thermal biopsy as a new non-invasive method of diagnosis for lung cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36(15_suppl):e21207–e21207.
344. Arrambide G, Comabella M, Tur C. Big data and artificial intelligence applied to blood and CSF fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Front Immunol* [Internet]. 2024 [cited 2024 Nov 29];15:1459502. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39493759/>
345. Slabaugh G, Beltran L, Rizvi H, Deloukas P, Marouli E. Applications of machine and deep learning to thyroid cytology and histopathology: a review. *Front Oncol* [Internet]. 2023 [cited 2024 Nov 29];13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38023130/>
346. Hermoso-Durán S, Fraunhofer N, Millastre-Bocos J, Sanchez-Gracia O, Garrido PF, Vega S, et al. Development of a Machine-Learning Model for Diagnosis of Pancreatic Cancer from Serum Samples Analyzed by Thermal Liquid Biopsy. *Advanced Intelligent Systems* [Internet]. 2024 Oct 8 [cited 2024 Dec 2];2400308. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/aisy.202400308>
347. Hermoso Duran S. Biopsia Líquida Térmica en muestras de sangre periférica: modelos de clasificación basados en aprendizaje automatizado para el diagnóstico y pronóstico de patología oncológica pancreática y colorrectal. Universidad de Zaragoza; 2024.
348. Millastre J, Hermoso-Durán S, Solórzano MO de, Fraunhofer N, García-Rayado G, Vega S, et al. Thermal Liquid Biopsy: A Promising Tool for the Differential Diagnosis of Pancreatic Cystic Lesions and Malignancy Detection. *Cancers* 2024, Vol 16, Page 4024 [Internet]. 2024 Nov 30 [cited 2024 Dec 3];16(23):4024. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/16/23/4024/htm>
349. Oken MM, Creech RH, Davis TE. Sci-Hub | Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *AMERICAN JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*, 5(6), 649–656 | 10.1097/0000421-198212000-00014. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials* [Internet]. 1982 [cited 2024 Dec 3];5(6):undefined-undefined. Available from: https://www.mendeley.com/catalogue/b7b7e507-4702-3e47-bc9c-20b366074738/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.8&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7Bcaf62118-4f0a-3506-8001-250ea5104955%7D
350. Afsari B, Fertig EJ, Geman D, Marchionni L. switchBox: an R package for k-Top Scoring Pairs classifier development. *Bioinformatics* [Internet]. 2015 Jan 15 [cited 2024 Dec 3];31(2):273–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25262153/>
351. Breheny P, Huang J. COORDINATE DESCENT ALGORITHMS FOR NONCONVEX PENALIZED REGRESSION, WITH APPLICATIONS TO BIOLOGICAL FEATURE SELECTION. *Ann Appl Stat* [Internet]. 2011 Mar [cited 2024 Dec 3];5(1):232–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22081779/>
352. Grossberg AJ, Chu LC, Deig CR, Fishman EK, Hwang WL, Maitra A, et al. Multidisciplinary standards of care and recent progress in pancreatic ductal adenocarcinoma. *CA Cancer J Clin*. 2020 Sep 19;70(5):375–403.

353. Cronin KA, Lake AJ, Scott S, Sherman RL, Noone AM, Howlader N, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, part I: National cancer statistics. *Cancer*. 2018 Jul 1;124(13):2785–800.
354. Rahib L, Wehner MR, Matrisian LM, Nead KT. Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2021 Apr 7 [cited 2024 Nov 19];4(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33825840/>
355. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res* [Internet]. 2014 Jun 1 [cited 2024 Nov 19];74(11):2913–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24840647/>
356. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2023 Jan [cited 2024 Nov 19];73(1):17–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36633525/>
357. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2018 Nov [cited 2024 Nov 29];68(6):394–424. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30207593/>
358. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2021 May [cited 2024 Nov 29];71(3):209–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33538338/>
359. Balsano R, Tommasi C, Garajova I. State of the Art for Metastatic Pancreatic Cancer Treatment: Where Are We Now? *Anticancer Res* [Internet]. 2019 [cited 2024 Nov 29];39(7):3405–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31262862/>
360. Omori Y, Ono Y, Tanino M, Karasaki H, Yamaguchi H, Furukawa T, et al. Pathways of Progression From Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm to Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Based on Molecular Features. *Gastroenterology* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 Nov 19];156(3):647–661.e2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30342036/>
361. R H Hruban MGJPSEK. Progression model for pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2000 Aug;6(8):2969–72.
362. Yachida S, Jones S, Bozic I, Antal T, Leary R, Fu B, et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature* [Internet]. 2010 Oct 28 [cited 2024 Nov 19];467(7319):1114–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20981102/>
363. Egawa S, Takeda K, Fukuyama S, Motoi F, Sunamura M, Matsuno S. Clinicopathological aspects of small pancreatic cancer. *Pancreas* [Internet]. 2004 Apr [cited 2024 Nov 22];28(3):235–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15084963/>
364. Ahmad NA, Lewis JD, Ginsberg GG, Haller DG, Morris JB, Williams NN, et al. Long term survival after pancreatic resection for pancreatic adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2001 Sep [cited 2024 Nov 22];96(9):2609–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11569683/>
365. Henrikson NB, Aiello Bowles EJ, Blasi PR, Morrison CC, Nguyen M, Pillarisetty VG, et al. Screening for Pancreatic Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA* [Internet]. 2019 Aug 6 [cited 2024 Nov 20];322(5):445–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31386140/>
366. Konings IC, Almario JA, Canto MI, Saxena P, Harinck F, Lucas AL, et al. 1145 Detection and Treatment of Pancreatic Cancer and High-Grade Precursor Lesions in High-Risk Individuals Undergoing Surveillance: Results From the International CAPS Consortium Registry. *Gastroenterology*. 2016 Apr;150(4):S234.
367. Daly MB, Pal T, Maxwell KN, Churpek J, Kohlmann W, AlHilli Z, et al. NCCN Guidelines® Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2024. *J Natl*

- Compr Canc Netw [Internet]. 2023 Oct 1 [cited 2024 Nov 19];21(10):1001–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37856201/>
368. Calderwood AH, Sawhney MS, Thosani NC, Rebbeck TR, Wani S, Canto MI, et al. American Society for Gastrointestinal Endoscopy guideline on screening for pancreatic cancer in individuals with genetic susceptibility: methodology and review of evidence. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Dec 21];95(5):827-854.e3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35183359/>
369. Gram IT, Park SY, Wilkens LR, Le Marchand L, Setiawan VW. Smoking and pancreatic cancer: a sex-specific analysis in the Multiethnic Cohort study. *Cancer Causes and Control*. 2023 Jan 1;34(1):89–100.
370. Silverman DT, Dunn JA, Hoover RN, Schiffman M, Lillemoe KD, Schoenberg JB, et al. Cigarette smoking and pancreas cancer: A case - control study based on direct interviews. *J Natl Cancer Inst*. 1994 Oct 19;86(20):1510–6.
371. Shan YS, Chen LT, Wu CH, Chang YF, Lee CT, Chiang NJ, et al. No association between alcohol consumption and pancreatic cancer even among individuals genetically susceptible to the carcinogenicity of alcohol. *Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1).
372. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Whitcomb DC, Lerch MM, DiMagno EP. Cigarette smoking as a risk factor for pancreatic cancer in patients with hereditary pancreatitis. *JAMA* [Internet]. 2001 Jul 11 [cited 2024 Dec 7];286(2):169–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11448279/>
373. Rulyak SJ, Lowenfels AB, Maisonneuve P, Brentnall TA. Risk factors for the development of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds. *Gastroenterology* [Internet]. 2003 May 1 [cited 2024 Dec 4];124(5):1292–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12730869/>
374. Duell EJ. Epidemiology and potential mechanisms of tobacco smoking and heavy alcohol consumption in pancreatic cancer. *Mol Carcinog* [Internet]. 2012 Jan [cited 2024 Nov 20];51(1):40–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22162230/>
375. Serio RN, Gudas LJ. Modification of stem cell states by alcohol and acetaldehyde. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2019 Jan 25 [cited 2024 Nov 20];316:108919. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7036011/>
376. Yu W, Ma Y, Shankar S, Srivastava RK. Chronic ethanol exposure of human pancreatic normal ductal epithelial cells induces cancer stem cell phenotype through SATB2. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2024 Nov 20];22(8):3920. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6050497/>
377. McWilliams RR, Maisonneuve P, Bamlet WR, Petersen GM, Li D, Risch HA, et al. Risk Factors for Early-Onset and Very-Early-Onset Pancreatic Adenocarcinoma: A Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4) Analysis. *Pancreas* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Dec 2];45(2):311–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26646264/>
378. Anderson MA, Zolotarevsky E, Cooper KL, Sherman S, Shats O, Whitcomb DC, et al. Alcohol and tobacco lower the age of presentation in sporadic pancreatic cancer in a dose-dependent manner: a multicenter study. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2024 Dec 3];107(11):1730–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22929760/>
379. Lin JC, Chan DC, Chen PJ, Chu HC, Chueh TH, Huang HH, et al. Clinical characteristics of early onset pancreatic adenocarcinoma: a medical center experience and review of the literature. *Pancreas* [Internet]. 2011 May [cited 2024 Dec 3];40(4):638–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21483255/>
380. Villeneuve PJ, Johnson KC, Hanley AJG, Mao Y, Paulse B, Dewar R, et al. Alcohol, tobacco and coffee consumption and the risk of pancreatic cancer: results from the Canadian Enhanced Surveillance System case-control project. *Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. Eur J Cancer Prev* [Internet]. 2000 [cited 2024 Dec 3];9(1):49–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10777010/>

381. Azam F, Latif MF, Farooq A, Tirmazy SH, Alshahrani S, Bashir S, et al. Performance Status Assessment by Using ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) Score for Cancer Patients by Oncology Healthcare Professionals. *Case Rep Oncol* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2024 Nov 20];12(3):728–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31616281/>
382. Janssen F, El Gewily S, Bardoutsos A. Smoking epidemic in Europe in the 21st century. *Tob Control* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Nov 20];30(5):523–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32769210/>
383. Korpela T, Udd M, Mustonen H, Ristimäki A, Haglund C, Seppänen H, et al. Association between chronic pancreatitis and pancreatic cancer: A 10-year retrospective study of endoscopically treated and surgical patients. *Int J Cancer* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 Nov 20];147(5):1450–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32162688/>
384. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* [Internet]. 1993 May 20 [cited 2024 Nov 20];328(20):1433–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8479461/>
385. Hart PA, Kamisawa T, Brugge WR, Chung JB, Culver EL, Czako L, et al. Long-term outcomes of autoimmune pancreatitis: a multicentre, international analysis. *Gut* [Internet]. 2013 Dec [cited 2024 Nov 20];62(12):1771–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23232048/>
386. Gupta R, Khosroshahi A, Shinagare S, Fernandez C, Ferrone C, Lauwers GY, et al. Does autoimmune pancreatitis increase the risk of pancreatic carcinoma?: a retrospective analysis of pancreatic resections. *Pancreas* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Nov 20];42(3):506–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23271394/>
387. Madela F, Ferndale L, Aldous C. Diagnostic Differentiation between Pancreatitis and Pancreatic Cancer: A Scoping Review. *Diagnostics (Basel)* [Internet]. 2024 Jan 29 [cited 2024 Nov 20];14(3). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38337806>
388. Kirkegård J, Gaber C, Lund JL, Hinton SP, Ladekarl M, Heide-Jørgensen U, et al. Acute pancreatitis as an early marker of pancreatic cancer and cancer stage, treatment, and prognosis. *Cancer Epidemiol* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 Nov 20];64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31811984/>
389. Koltai T. Earlier Diagnosis of Pancreatic Cancer: Is It Possible? *Cancers (Basel)* [Internet]. 2023 Sep 5 [cited 2024 Feb 28];15(18). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/37760400>
390. Liu J, Wang Y, Yu Y. Meta-analysis reveals an association between acute pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. *World J Clin Cases* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Nov 20];8(19):4416–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33083401/>
391. Xu JH, Ni CY, Zhuang YY, Li L, Lin Y, Xia ZS, et al. Acute pancreatitis in intraductal papillary mucinous neoplasm: a single-center retrospective cohort study with systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2024 Nov 30];23(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38041073/>
392. Jeon CY, Arain MA, Korc M, Kozarek RA, Phillips AE. Bidirectional relationship between acute pancreatitis and pancreatic cancer. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2024 Sep 1 [cited 2024 Nov 20];40(5):431–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38935270/>
393. Lee H, Chae W, Sung M, ... JKTJ of, 2023 undefined. Difference of risk of pancreatic cancer in new-onset diabetes and long-standing diabetes: a population-based cohort study. *academic.oup.com* HS Lee, W Chae, MJ Sung, J Keum, JH Jo, MJ Chung, JY Park, SW Park, SY Song, EC Park *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2023 • *academic.oup.com* [Internet]. [cited 2024 Nov 21]; Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-abstract/108/6/1338/6957364>
394. Pannala R, Leirness JB, Bamlet WR, Basu A, Petersen GM, Chari ST. Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. *Gastroenterology* [Internet]. 2008 [cited 2024 Nov 21];134(4):981–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18395079/>

395. Ben Q, Cai Q, Li Z, Yuan Y, Ning X, Deng S, et al. The relationship between new-onset diabetes mellitus and pancreatic cancer risk: a case-control study. *Eur J Cancer* [Internet]. 2011 Jan [cited 2024 Nov 21];47(2):248–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20709528/>
396. Everhart J, Wright D. Diabetes Mellitus as a Risk Factor for Pancreatic Cancer: A Meta-analysis. *JAMA* [Internet]. 1995 May 24 [cited 2024 Nov 21];273(20):1605–9. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/388591>
397. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington De González A, Barzi F, Woodward M. Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. *Br J Cancer* [Internet]. 2005 Jun 6 [cited 2024 Nov 21];92(11):2076–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15886696/>
398. Stolzenberg-Solomon RZ, Graubard BI, Chari S, Limburg P, Taylor PR, Virtamo J, et al. Insulin, glucose, insulin resistance, and pancreatic cancer in male smokers. *JAMA* [Internet]. 2005 Dec 14 [cited 2024 Nov 19];294(22):2872–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16352795/>
399. Tan PS, Garriga C, Clift A, Liao W, Patone M, Coupland C, et al. Temporality of body mass index, blood tests, comorbidities and medication use as early markers for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC): a nested case-control study. *Gut* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2024 Dec 5];72(3):512–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35760494/>
400. Liu J, Knezetic JA, Strömmer L, Permert J, Larsson J, Adrian TE. The intracellular mechanism of insulin resistance in pancreatic cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2000 Mar [cited 2024 Nov 21];85(3):1232–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10720068/>
401. Saruç M, Karaarslan M, Rasa K, Saygili Ö, Ince Ü, Baysal Ç, et al. Pancreatic cancer and glucose metabolism. *Turk J Gastroenterol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2024 Nov 21];20(4):257–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20084568/>
402. Permert J, Ihse I, Jorfeldt L, Von Schenck H, Arnquist HJ, Larsson J. Improved glucose metabolism after subtotal pancreatectomy for pancreatic cancer. *Br J Surg* [Internet]. 1993 [cited 2024 Nov 21];80(8):1047–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8402064/>
403. Permert J, Larsson J, Fruin AB, Tatemoto K, Herrington MK, Von Schenck H, et al. Islet hormone secretion in pancreatic cancer patients with diabetes. *Pancreas* [Internet]. 1997 [cited 2024 Nov 21];15(1):60–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9211494/>
404. Wang F, Larsson J, Abdiu A, Gasslander T, Westermark P, Adrian TE, et al. Dissociated secretion of islet amyloid polypeptide and insulin in serum-free culture media conditioned by human pancreatic adenocarcinoma cell lines. *Int J Pancreatol* [Internet]. 1997 [cited 2024 Nov 21];21(2):157–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9209957/>
405. Basso D, Millino C, Greco E, Romualdi C, Fogar P, Valerio A, et al. Altered glucose metabolism and proteolysis in pancreatic cancer cell conditioned myoblasts: searching for a gene expression pattern with a microarray analysis of 5000 skeletal muscle genes. *Gut* [Internet]. 2004 Aug [cited 2024 Nov 21];53(8):1159–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15247186/>
406. Basso D, Brigato L, Veronesi A, Panozzo MP, Amadori A, Plebani M. The pancreatic cancer cell line MIA PaCa2 produces one or more factors able to induce hyperglycemia in SCID mice. *Anticancer Res* [Internet]. 1995 [cited 2024 Nov 21];15(6B):2585–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8669828/>
407. Stoeltzing O, Liu W, Reinmuth N, Fan F, Parikh AA, Bucana CD, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 α , vascular endothelial growth factor, and angiogenesis by an insulin-like growth factor-I receptor autocrine loop in human pancreatic cancer. *American Journal of Pathology* [Internet]. 2003 Sep 1 [cited 2024 Nov 21];163(3):1001–11. Available from: <http://ajp.amjpathol.org/article/S0002944010634608/fulltext>
408. Zeng H, Datta K, Neid M, Li J, Parangi S, Mukhopadhyay D. Requirement of different signaling pathways mediated by insulin-like growth factor-I receptor for proliferation, invasion, and VPF/VEGF expression in a pancreatic carcinoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Feb 28;302(1):46–55.

409. Rahn S, Zimmermann V, Viol F, Knaack H, Stemmer K, Peters L, et al. Diabetes as risk factor for pancreatic cancer: Hyperglycemia promotes epithelial-mesenchymal-transition and stem cell properties in pancreatic ductal epithelial cells. *Cancer Lett* [Internet]. 2018 Feb 28 [cited 2024 Nov 21];415:129–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29222037/>
410. Pannala R, Basu A, Petersen GM, Chari ST. New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. *Lancet Oncol* [Internet]. 2009 [cited 2024 Nov 21];10(1):88–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19111249/>
411. Sharma A, Kandlakunta H, Nagpal SJS, Feng Z, Hoos W, Petersen GM, et al. Model to Determine Risk of Pancreatic Cancer in Patients With New-Onset Diabetes. *Gastroenterology* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2024 Nov 21];155(3):730-739.e3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29775599/>
412. Overview | Suspected cancer: recognition and referral | Guidance | NICE.
413. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE, Bernstein L, Van Den Brandt PA, Calle EE, et al. A pooled analysis of 14 cohort studies of anthropometric factors and pancreatic cancer risk. *Int J Cancer* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2024 Nov 21];129(7):1708–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21105029/>
414. Michaud DS, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, Stampfer MJ, Fuchs CS. Physical activity, obesity, height, and the risk of pancreatic cancer. *JAMA* [Internet]. 2001 Aug 22 [cited 2024 Nov 21];286(8):921–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11509056/>
415. Incio J, Liu H, Suboj P, Chin SM, Chen IX, Pinter M, et al. Obesity-Induced Inflammation and Desmoplasia Promote Pancreatic Cancer Progression and Resistance to Chemotherapy. *Cancer Discov* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2024 Nov 21];6(8):852–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27246539/>
416. Kashiwagi K, Seino T, Fukuhara S, Minami K, Horibe M, Iwasaki E, et al. Pancreatic Fat Content Detected by Computed Tomography and Its Significant Relationship With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm. *Pancreas* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Nov 21];47(9):1087–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30028443/>
417. Sreedhar UL, DeSouza S V., Park B, Petrov MS. A Systematic Review of Intra-pancreatic Fat Deposition and Pancreatic Carcinogenesis. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2024 Nov 21];24(11):2560–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31749093/>
418. Rumyantsev KA, Polyakova V V., Sorokina I V., Feoktistova PS, Khatkov IE, Bodunova NA, et al. The Gut Microbiota Impacts Gastrointestinal Cancers through Obesity, Diabetes, and Chronic Inflammation. *Life (Basel)* [Internet]. 2024 Oct 1 [cited 2024 Nov 21];14(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39459519/>
419. Hartl K, Sigal M. Microbe-Driven Genotoxicity in Gastrointestinal Carcinogenesis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Oct 2 [cited 2024 Nov 21];21(20):1–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33050171/>
420. Ren Z, Jiang J, Xie H, Li A, Lu H, Xu S, et al. Gut microbial profile analysis by MiSeq sequencing of pancreatic carcinoma patients in China. *Oncotarget* [Internet]. 2017 [cited 2024 Nov 21];8(56):95176–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29221120/>
421. Paluszkiwicz P, Smolińska K, Debińska I, Turski WA. Main dietary compounds and pancreatic cancer risk. The quantitative analysis of case-control and cohort studies. *Cancer Epidemiol* [Internet]. 2012 Feb [cited 2024 Nov 21];36(1):60–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22018953/>
422. Heinen MM, Verhage BAJ, Goldbohm RA, Van Den Brandt PA. Intake of vegetables, fruits, carotenoids and vitamins C and E and pancreatic cancer risk in The Netherlands Cohort Study. *Int J Cancer* [Internet]. 2012 Jan 11 [cited 2024 Nov 21];130(1):147–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21328344/>

423. Yang Q, Zhang J, Zhu Y. Potential Roles of the Gut Microbiota in Pancreatic Carcinogenesis and Therapeutics. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2022 Apr 6 [cited 2024 Nov 21];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35463649/>
424. Ciernikova S, Mego M, Novisedlakova M, Cholujova D, Stevurkova V. The Emerging Role of Microbiota and Microbiome in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Biomedicines* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Nov 21];8(12):1–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33287196/>
425. Yıldırım İ, Kaya T, İşsever K, Genç AC, Karacan A, Önmez A, et al. Psoas muscle mass, nutritional status, inflammation, and their relationship with prognosis in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Nutr Hosp* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Dec 24];38(5):1009–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34223769/>
426. Suárez-Llanos JP, Suárez-Llanos JP. Controversia 1. Papel de la albúmina en la valoración nutricional. *Nutr Hosp* [Internet]. 2023 Mar 29 [cited 2024 Dec 12];40(SPE1):26–8. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112023000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
427. Xu SS, Li S, Xu HX, Li H, Wu CT, Wang WQ, et al. Haemoglobin, albumin, lymphocyte and platelet predicts postoperative survival in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2020 Feb 28;26(8):828–38.
428. Shirai Y, Shiba H, Haruki K, Horiuchi T, Saito N, Fujiwara Y, et al. Preoperative platelet-to-albumin ratio predicts prognosis of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma after pancreatic resection. *Anticancer Res*. 2017;37(2):787–94.
429. Vujic J, Marsoner K, Wienerroither V, Mischinger HJ, Kornprat P. The predictive value of the CRP-to-albumin ratio for patients with pancreatic cancer after curative resection: A retrospective single center study. *In Vivo (Brooklyn)*. 2019;33(6):2071–8.
430. Fang L, Yan FH, Liu C, Chen J, Wang D, Zhang CH, et al. Systemic Inflammatory Biomarkers, Especially Fibrinogen to Albumin Ratio, Predict Prognosis in Patients with Pancreatic Cancer. *Cancer Res Treat* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Dec 21];53(1):131–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32854494/>
431. Kim JE, Lee KT, Lee JK, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. Clinical usefulness of carbohydrate antigen 19-9 as a screening test for pancreatic cancer in an asymptomatic population. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2004 [cited 2024 Nov 19];19(2):182–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14731128/>
432. Satake K, Takeuchi T, Homma T, Ozaki H. CA19-9 as a screening and diagnostic tool in symptomatic patients: the Japanese experience. *Pancreas* [Internet]. 1994 [cited 2024 Nov 20];9(6):703–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7846012/>
433. la Greca G, Sofia M, Lombardo R, Latteri S, Ricotta A, Puleo S, et al. Adjusting CA19-9 values to predict malignancy in obstructive jaundice: influence of bilirubin and C-reactive protein. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 22];18(31):4150–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22919247/>
434. Ferrone CR, Finkelstein DM, Thayer SP, Muzikansky A, Fernandez-Del Castillo C, Warshaw AL. Perioperative CA19-9 levels can predict stage and survival in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 Jun 20 [cited 2024 Nov 22];24(18):2897–902. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16782929/>
435. Ballehaninna UK, Chamberlain RS. The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: An evidence based appraisal. *J Gastrointest Oncol* [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 22];3(2):105–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22811878/>
436. Groot VP, Gemenetzis G, Blair AB, Rivero-Soto RJ, Yu J, Javed AA, et al. Defining and Predicting Early Recurrence in 957 Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Ann Surg* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2024 Nov 22];269(6):1154–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31082915/>

437. Ermiah E, Eddfair M, Abdulrahman O, Elfagieh M, Jebriel A, Al-Sharif M, et al. Prognostic value of serum CEA and CA19-9 levels in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Clin Oncol* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Nov 23];17(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35832472/>
438. Sugawara T, Rodriguez Franco S, Sherman S, Kirsch MJ, Colborn K, Franklin O, et al. Characteristics and prognosis of patients with pancreatic adenocarcinoma not expressing CA19-9: Analysis of the National Cancer Database. *Pancreatology*. 2024 Dec 1;24(8):1340–7.
439. Szkandera J, Stotz M, Absenger G, Stojakovic T, Samonigg H, Kornprat P, et al. Validation of C-reactive protein levels as a prognostic indicator for survival in a large cohort of pancreatic cancer patients. *Br J Cancer* [Internet]. 2014 [cited 2024 Dec 21];110(1):183–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24201751/>
440. Douglas JB, Silverman DT, Weinstein SJ, Graubard BI, Pollak MN, Tao Y, et al. Serum C-reactive protein and risk of pancreatic cancer in two nested, case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2011 Feb [cited 2024 Dec 21];20(2):359–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21173171/>
441. Furukawa H, Iwata R, Moriyama N. Growth rate of pancreatic adenocarcinoma: initial clinical experience. *Pancreas* [Internet]. 2001 [cited 2024 Nov 21];22(4):366–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11345136/>
442. Ahn SJ, Choi SJ, Kim HS. Time to Progression of Pancreatic Cancer: Evaluation with Multi-Detector Computed Tomography. *J Gastrointest Cancer* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Nov 21];48(2):164–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27699624/>
443. Kay K, Dolcy K, Bies R, Shah DK. Estimation of Solid Tumor Doubling Times from Progression-Free Survival Plots Using a Novel Statistical Approach. *AAPS J* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2024 Nov 21];21(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30737615/>
444. Liao W, Clift AK, Patone M, Coupland C, Izquierdo AG, Pereira SP, et al. Identifying symptoms associated with diagnosis of pancreatic exocrine and neuroendocrine neoplasms: a nested case-control study of the UK primary care population. *Br J Gen Pract* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Nov 18];71(712):E836–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34544691/>
445. Nicholson BD, Hamilton W, Koshiaris C, Oke JL, Hobbs FDR, Aveyard P. The association between unexpected weight loss and cancer diagnosis in primary care: a matched cohort analysis of 65,000 presentations. *Br J Cancer* [Internet]. 2020 Jun 9 [cited 2024 Nov 21];122(12):1848–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32291391/>
446. Stapley S, Peters TJ, Neal RD, Rose PW, Walter FM, Hamilton W. The risk of pancreatic cancer in symptomatic patients in primary care: a large case-control study using electronic records. *Br J Cancer* [Internet]. 2012 Jun 5 [cited 2024 Nov 21];106(12):1940–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22617126/>
447. Hue JJ, Winter JM, Markt SC. ASO Author Reflections: Prediagnosis Weight Loss: Early Detection and Postoperative Prognosis Among Patients with Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Nov 21];28(11):6293. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33768399/>
448. Hue JJ, Sugumar K, Kyasaram RK, Shanahan J, Lyons J, Ocuin LM, et al. Weight Loss as an Untapped Early Detection Marker in Pancreatic and Periampullary Cancer. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Nov 21];28(11):6283–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33835301/>
449. Hippisley-Cox J, Coupland C. Identifying patients with suspected pancreatic cancer in primary care: derivation and validation of an algorithm. *Br J Gen Pract* [Internet]. 2012 Jan [cited 2024 Dec 20];62(594). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22520674/>
450. Demir IE, Jäger C, Melissa Schlitter A, Konukiewicz B, Stecher L, Schorn S, et al. R0 Versus R1 Resection Matters after Pancreaticoduodenectomy, and Less after Distal or Total Pancreatectomy for Pancreatic Cancer. *Ann Surg* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2024 Dec 11];268(6):1058–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28692477/>

451. Augustinus S, Schafrat PJM, Janssen B V., Bonsing BA, Brosens LAA, Busch OR, et al. Nationwide Impact of Centralization, Neoadjuvant Therapy, Minimally Invasive Surgery, and Standardized Pathology Reporting on R0 Resection and Overall Survival in Pancreatoduodenectomy for Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2024 Dec 11];30(8):5051–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37210448/>
452. Ozcariz E, Guardiola M, Amigó N, Valdés S, Oualla-Bachiri W, Rehues P, et al. H-NMR metabolomics identifies three distinct metabolic profiles differentially associated with cardiometabolic risk in patients with obesity in the Di@bet.es cohort. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2024 Dec 27];23(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39511627/>
453. Romutis S, Brand R. Burden of New Pancreatic Cyst Diagnosis. *Gastrointest Endosc Clin N Am* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Nov 28];33(3):487–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37245931/>
454. Ohno E, Hirooka Y, Kawashima H, Ishikawa T, Kanamori A, Ishikawa H, et al. Natural history of pancreatic cystic lesions: A multicenter prospective observational study for evaluating the risk of pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2024 Dec 16];33(1):320–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28872701/>
455. Schweber AB, Agarunov E, Brooks C, Hur C, Gonda TA. Prevalence, Incidence, and Risk of Progression of Asymptomatic Pancreatic Cysts in Large Sample Real-world Data. *Pancreas* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Dec 16];50(9):1287–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34860813/>
456. Siddappa PK, Park WG. Pancreatic Cyst Fluid Analysis. *Gastrointest Endosc Clin N Am* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Dec 16];33(3):599–612. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37245938/>
457. de Pretis N, Mukewar S, Aryal-Khanal A, Bi Y, Takahashi N, Chari S. Pancreatic cysts: Diagnostic accuracy and risk of inappropriate resections. *Pancreatology* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2024 Nov 28];17(2):267–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28117220/>
458. Lobo JM, Scheiman JM, Zaydfudim VM, Shami VM, Sauer BG. Clinical and Economic Outcomes of Patients Undergoing Guideline-Directed Management of Pancreatic Cysts. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Nov 26];115(10):1689–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32558682/>
459. Xu MM, Yin S, Siddiqui AA, Salem RR, Schrope B, Sethi A, et al. Comparison of the diagnostic accuracy of three current guidelines for the evaluation of asymptomatic pancreatic cystic neoplasms. *Medicine* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2024 Nov 26];96(35). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28858107/>
460. Horvath KD, Chabot JA. An aggressive resectional approach to cystic neoplasms of the pancreas. *Am J Surg* [Internet]. 1999 Oct [cited 2024 Nov 18];178(4):269–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10587182/>
461. Salla C, Chatzipantelis P, Konstantinou P, Karoumpalis I, Pantazopoulou A, Dappola V. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology diagnosis of solid pseudopapillary tumor of the pancreas: a case report and literature review. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2007 Oct 14 [cited 2024 Nov 25];13(38):5158–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17876886/>
462. Gaddam S, Ge PS, Keach JW, Mullady D, Fukami N, Edmundowicz SA, et al. Suboptimal accuracy of carcinoembryonic antigen in differentiation of mucinous and nonmucinous pancreatic cysts: results of a large multicenter study. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2024 Nov 28];82(6):1060–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26077458/>
463. Noia JL, Mejuto R, Oria I, De la Iglesia-García D, Villaverde A, Voces A, et al. Rapid diagnosis of mucinous cystic pancreatic lesions by on-site cyst fluid glucometry. *Surg Endosc* [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2024 Nov 27];36(4):2473–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33988771/>
464. Carr RA, Yip-Schneider MT, Simpson RE, Dolejs S, Schneider JG, Wu H, et al. Pancreatic cyst fluid glucose: rapid, inexpensive, and accurate diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Surgery*

- [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Nov 27];163(3):600–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29241991/>
465. Armstrong MT, Saadat L V., Chou JF, Gönen M, Balachandran VP, D’Angelica MI, et al. Risk Factors for Progression in Patients Undergoing Surveillance for Pancreatic Cysts. *Ann Surg* [Internet]. 2024 Jan 1 [cited 2024 Nov 28];279(1):119–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37212166/>
466. Levink IJM, Jaarsma SC, Koopmann BDM, van Riet PA, Overbeek KA, Meziani J, et al. The additive value of CA19.9 monitoring in a pancreatic cyst surveillance program. *United European Gastroenterol J* [Internet]. 2023 Sep 1 [cited 2024 Nov 28];11(7):601–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37435855/>

5. ABREVIATURAS

ACDP: Adenocarcinoma Ductal de Páncreas

ACDPq: ACDP con componente quístico

AJCC: American Joint Committee on Cancer

Angio-TAC: angiografía por tomografía axial computarizada

AP: anatomía patológica

ASCO: American Society of Clinical Oncology

ASGE: American Society for Gastrointestinal Endoscopy

ATM: Ataxia telangiectasia *mutated*

AUC: área bajo la curva (*area under curve*)

AVAD: Años de Vida Ajustados por Discapacidad

BAG: biopsia con aguja gruesa

BRCA1: Breast cancer gene1

BRCA2: Breast Cancer gene 2

Ca 19.9: Antígeno Carbohidrato 19.9

cagA+: gen asociado a producción de citotoxina A (*cytotoxin-associated gene-A- Positive*)

CAPS: Cancer of the Pancreas Screening Study

CAS: Cistoadenoma Seroso

CCR: Cáncer colorectal

CDB: Calorimetría Diferencial de Barrido

CEA: antígeno carcinoembrionario

CEICA: Comité de Ética de Investigación de la Comunidad Autónoma de Aragón

CI: Carcinoma invasor

CPP: Conducto pancreático principal

CPRE: Colangiopancreatografía Retrógrada Endoscópica

CPRM: colangiopancreatografía por RM

DAG: displasia de alto grado

DBP: drenaje biliar preoperatorio

DM: Diabetes Mellitus

DPC: duodenopancreatectomía cefálica

DSC: Differential Scanning Calorimetry

DUPAN-2: Duke pancreatic monoclonal antigen type 2

ECOG: escala de calidad de vida (Eastern Cooperative Oncology Group)

FAMMM: Familiar Atypical Multiple Mola Melanoma (síndrome familiar atípico de la mola melanoma múltiple)

FDA: *Food and Drugs Administration* de Estados Unidos
FOLFIRINOX: fluorouracil, irinotecan, leucovorin y oxaliplatin
5-FU/LV: 5-fluorouracil/leucovorin
GLOBOCAN: *Global Cancer Observatory*
GPC: Guías de práctica clínica
GSTT1: gen de la enzima metabolizadora de carcinógenos *Glutathión-S-Transferasa theta 1*.
HC-USE: USE con contraste armónico
HCE: historia clínica electrónica
HCULB: Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa
HDA: hemorragia digestiva alta
HRS: *high risk stimata*
HUMS: Hospital Universitario Miguel Servet
IC: intervalo de confianza
ICC: índice de Comorbilidad de Charlson
IMC: índice de masa corporal
IPE: insuficiencia pancreática exocrina
iTLB: *intelligent- Thermal Liquid Biopsy*
iTLBcp1: *intelligent- Thermal Liquid Biopsy* cáncer de pancreas 1
iTLBcp2: *modelo intelligent-Thermal Liquid Biopsy* cáncer de páncreas 2
iTLBcp3: *modelo intelligent-Thermal Liquid Biopsy* cáncer de páncreas 3
iTLBcp4: *modelo intelligent-Thermal Liquid Biopsy* cáncer de páncreas 4
iTLBq1: *modelo intelligent-Thermal Liquid Biopsy* quísticas 1
iTLBq2: *modelo intelligent-Thermal Liquid Biopsy* quísticas 2
KTSP: *K-Top-Scoring-Pair*
LINF: Quiste linfoepitelial/linfangioma
LIQ: líquido intraquístico
LOES: Lesiones Ocupantes de Espacio
LQP: Lesiones Quísticas Pancreáticas
LQP-M: lesión quística pancreática mucinosa
LQP-Mb: LQP Mucinoso Benigna
LQP-Mm: LQP Mucinoso Maligna
LQP-NM: lesión quística pancreática no mucinosa
MCN: Cistoadenoma Mucinoso (*Mucinous Cystic Neoplasm*)
MEN: neoplasia endocrina múltiple (*multiple endocrine neoplasm*)
n-CLE: *needle based-Confocal Laser Endomicroscopy*
NCCN: *National Comprehensive Cancer Network*
NICE: *National Institute for Health and Care Excellence*
NQP-M: neoplasia quística pancreática mucinosa
NQP-NM: neoplasia quística pancreática no mucinosa
OR: *odds ratio*
ORS: *overall risk stimated*

PA: pancreatitis aguda
PAAF: punción aspiración con aguja fina
PAI: pancreatitis autoinmune
PALB2: partner and localizer of BRCA2
PanC4: Pancreatic Cancer Case–Control Consortium
pancTNEq: TNE pancreáticos con degeneración quística
PanIN: neoplasia intrapitelial pancreática
PBS: solución salina tamponada filtrada con fosfato
PC: Pancreatitis Crónica
PD: pancreatectomía distal
PET-TC: tomografía por emisión de positrones-TC
PQ: Pseudoquiste inflamatorio
PRSS1: serine protease 1
PRSS2: serine protease 2
SPINK1: serine proteasa inhibitor kazal tipo 1
CTRC: chymotrypsin C
CFTR: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
PT: pancreatectomía total
PTR: Proteína transportadora del retinol
RO: resección completa con márgenes libres de tumor
R1: resección con márgenes infiltrados por el tumor
REDECAN: Red Española de Registros de Cáncer
RM: Resonancia Magnética
ROC: Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*)
RR: riesgo relativo
SCASEST: síndrome coronario agudo sin elevación de ST
SEER: Surveillance Epidemiology and End Results Program
SFMMM: Síndrome Familiar atípico de la Mola-Melanoma Maligno, o de la Mola-Melanoma Múltiple.
SMC: Quiste simple Mucinoso (*simple mucinous cyst*)
STK11: serine/threonine kinase 11
TAC: Tomografía Axial Computarizada
TAC-MD: TAC multidetector
TB: tasa bruta
TES: Terapia Enzimática Sustitutiva
TLB: Thermal Liquid Biopsy
TNM: Sistema de estadificación del tumor T: tumor primario, N: nódulos linfáticos regionales, M: metástasis
TPMI: Tumor Papilar Mucinoso Intraductal
TPMI-CP: Tumor Papilar Mucinoso Intraductal de conducto principal
TPMI-Mx: Tumor Papilar Mucinoso intraductal mixto
TPMI-RS: Tumor Papilar Mucinoso Intraductal de conducto secundario

TSSP: Tumor Sólido Pseudopapilar

USE: ultrasonografía endoscópica

USE-TTNB: USE-through the needle biopsy

USE-ELC: endomicroscopía confocal guiada por USE

USE-TTNB: USE a través de la aguja de biopsia (*EUS through the needle biopsy*)

VHB: virus de la hepatitis B

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

WF: worrisome features

WHO: World Health Organisation

WON: Necrosis encapsulada (*Walled off Necrosis*)

6. Anexos.

ACEPTACIÓN CEICA

CONSENTIMIENTO INFORMADO

DOCUMENTO INFORMATIVO ACDP

DOCUMENTO INFORMATIVO LQP

Ver páginas siguientes.

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 17/04/2013, Acta Nº CP08/2013 ha evaluado la documentación presentada por el investigador referida al estudio:

Título: Identificación de termogramas de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para el diagnóstico y monitorización clínica de patologías digestiva.

Investigador Principal: Olga Abián Franco.

Versión Protocolo: abril /2013

Versión Hoja de Información y consentimiento informado proyecto: 08/04/2013

Versión Hoja de Información y consentimiento informado colección de patología digestiva: 08/04/2013

1º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE.**

Lo que firmo en Zaragoza, a 17 de abril de 2013

Fdo:


Dña. María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

Yo,, con DNI

- He leído las hojas de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio y sobre la colección y he recibido suficiente información sobre los mismos.

He hablado con el Dr. _____

- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - 1) cuando quiera
 - 2) sin tener que dar explicaciones
 - 3) sin que esto repercuta en mis cuidados médicos
- Presto libremente mi conformidad para:
 - 1) Que mis muestras biológicas y mis datos clínicos se incorporen a la colección de muestras con fines de investigación biomédica Patologías Digestivas y se utilicen en proyectos de investigación autorizados llevados a cabo por el grupo de investigación indicado en la hoja de información al paciente. Sí No
 - 2) Que mis muestras biológicas y mis datos clínicos se incorporen a la colección de muestras con fines de investigación biomédica del consorcio europeo PANDORA y se utilicen en proyectos de investigación de los miembros del consorcio tal como se indica en la hoja de información al paciente. Sí No

Quiero incluir las siguientes restricciones en el uso de mis muestras (si es el caso):

- Autorizo que se me comunique la información relevante para la mi salud derivada de la investigación con mis muestras. Sí No
- Autorizo ser contactado en el caso de que la Investigación con las muestras necesite más información. Sí No

He recibido una copia firmada de este Consentimiento Informado

Firma del participante:

Fecha:

He explicado la naturaleza y el propósito del estudio al paciente mencionado

Firma del Investigador:

Fecha:

Este documento se firmará por triplicado, quedándose una copia el paciente, otra el investigador y la tercera el centro

INFORMACION SOBRE EL ESTUDIO

Este documento tiene por objeto pedirle su consentimiento para ser incluido como participante o voluntario sano en un Proyecto de Investigación que el Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud está llevando a cabo y que lleva por título: “**Análisis de las interacciones proteínas/metabolitos en plasma mediante calorimetría: aplicación como método diagnóstico rápido y no invasivo para detección precoz y seguimiento de patologías digestivas (DIGCAL)**”. La persona responsable de dicho proyecto de investigación es la Dra. Olga Abian Franco, investigadora del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (omabian.iacs@aragon.es Teléfono: 876555417).

El Objetivo de este estudio es validar una nueva técnica con la que se podrían diagnosticar una determinada enfermedad, mediante la observación de las diferencias entre las proteínas en sangre de pacientes con esa patología e individuos sanos.

Descripción de los procedimientos del estudio:

Para este estudio se le realizará una encuesta para conocer aspectos relativos a su historia médica y esta información será recogida en una base de datos. Si usted lo autoriza, también se le extraerán 1-2 tubos de sangre (7 ml/tubo) de los que se analizará el suero para estudiar los patrones de desnaturalización térmica mediante la técnica Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

Riesgos:

Su participación en este estudio no supondrá ningún riesgo adicional, salvo el mínimo que pueda derivarse de la extracción de sangre en su brazo como se hace de manera rutinaria al extraer sangre para análisis generales, y no implica ningún cambio en las medidas de diagnóstico y tratamiento que se le van a aplicar.

Participación voluntaria:

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Su negativa a participar no implica ni implicará ninguna merma en el trato del personal con usted ni en el tratamiento de su actual o futuros procesos en este servicio y hospital. Su participación en el estudio no le supondrá ningún beneficio directo, si bien posiblemente ayudará al mejor conocimiento y tratamiento de la enfermedad en un futuro. No está prevista ninguna compensación económica por este motivo y tampoco hay contratado un seguro para este estudio pues se considera que el riesgo de la extracción de sangre es mínimo.

No hay prevista tampoco ninguna explotación comercial de los datos ni cesión de datos a terceros. Igualmente no se prevé que de los resultados obtenidos se derive la posibilidad de consejo genético alguno.

Confidencialidad:

Las muestras de sangre y los datos recogidos sobre su historial serán tratados de acuerdo con la legislación vigente, Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter Personal. Su nombre en ningún momento aparecerá asociado a la muestra ya que ésta será identificada únicamente por un número o conjunto de dígitos. A la relación de estos datos con su persona sólo tendrán acceso los investigadores del estudio.

Le solicitamos que done el sobrante de las muestras para ser incluidas en la colección Patologías Digestivas. Las muestras se almacenarán en los Laboratorios del Grupo de Investigación en Patología Digestiva del Hospital Clínico Universitario (HCU) Lozano Blesa, para que puedan ser utilizadas en futuras investigaciones de este grupo de investigación según se explica en la hoja adjunta. En caso contrario, al finalizar el estudio sus muestras serán destruidas. En caso de que una vez comenzado el estudio decida revocar su consentimiento de ser incluido, la muestra/s se destruirán y sus datos no serán utilizados.

Información:

Se le proporcionará una copia de este documento de consentimiento informado y usted podrá solicitar información adicional contactando con el doctor _____ del Servicio de Digestivo del HCU que le responderán a todas la dudas que tenga sobre el estudio a través del teléfono _____ extensión _____.

Zaragoza a..... de.....de.....

Consentimiento informado estudio "Identificación de perfiles termodinámicos de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para el diagnóstico y monitorización clínica de patologías digestivas".

Versión fecha 08-04-2013

DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE
UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO PARA INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UNA COLECCIÓN

- **Línea de investigación:** Investigación en patologías digestivas.
- **Nombre de la colección:** 3189 Olga Abian
- **Responsable de la colección:** Olga Abian Franco (876555417; email: oabifra@unizar.es. Investigadora del IACS. Grupo de Patología Digestiva, Hospital Clínico Universitario, Zaragoza, España

Es importante que lea detenidamente esta hoja de consentimiento informado, que comprenda su contenido y el objeto de la misma y que, en su caso, haga todas las preguntas que crea preciso acerca de la misma.

Como en cualquier estudio con fines de investigación, le recordamos que su participación, y por consiguiente la autorización que le solicitamos, es libre y voluntaria. Su aceptación implica la aceptación de las condiciones que a continuación se exponen y su denegación no ocasionará perjuicio alguno para usted.

Línea de investigación y participantes

Nuestro grupo de investigación Patología Digestiva trabaja en distintas líneas de patología digestiva como nuevas formas de diagnóstico y monitorización de las patologías digestivas más relevantes; y su respuesta a tratamiento de pacientes; evolución de la enfermedad; identificación de nuevas dianas terapéuticas de interés en el tratamiento de patologías digestivas. El investigador responsable del grupo Patología Digestiva (DGA B01) es el Dr. Ángel Lanás Arbeola del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.

Utilización de las muestras

Solicitamos su autorización para, aprovechando que le tenemos que hacer una analítica general y si es el caso ecoendoscopia, extraerle entre 8 a 15 ml de sangre adicionales, con el objeto de incorporar sus muestras de sangre, plasma y líquido intraquístico a una **colección con fines de investigación biomédica**.

Esta colección se conservará en el Servicio de Digestivo del Hospital Clínico Universitario bajo la responsabilidad del investigador Olga Abian Franco, y será registrada por el responsable de la colección en el Registro Nacional de Biobancos, sección colecciones, que depende del Instituto de Salud Carlos III.

Las muestras de la colección pasarán a formar parte de la colección 3189 y podrán utilizarse en el grupo de investigación antes referido y en la línea de investigación en patologías digestivas. Todos los proyectos deberán ser previamente aprobados por un Comité Científico y un Comité Ético acreditados.

Al mismo tiempo, si el tipo de muestra biológica es adecuada para su inclusión en el consorcio europeo PANDORA, una cantidad de la misma, se enviará a dicha colección. La colección será custodiada por Federico Canzian en Heilderberg, Alemania. Los estudios que se llevan a cabo en los grupos que forman el consorcio tienen como objetivo principal evaluar las posibles asociaciones entre la variabilidad genética de cada persona y el riesgo de padecer cáncer de páncreas, progresión, supervivencia y su respuesta a tratamiento.

Requerimos también su autorización para recoger la información contenida en su historia clínica, incorporarla a la colección y utilizarla en nuestras investigaciones.

En el caso de que se suspendiese la actividad investigadora de este grupo, sus muestras podrán ser destruidas o cedidas a un biobanco oficial y autorizado según la normativa vigente, en cuyo caso volveremos a contactarle para recabar su consentimiento.

Todos los procedimientos del estudio se llevarán a cabo según lo estipulado en la Ley de Investigación Biomédica 14/2007 y el Real Decreto 1716/2011.

Beneficios e Inconvenientes

Usted no obtendrá ningún beneficio directo de los estudios que llevemos a cabo. El beneficio esperado de nuestra investigación es el avance en el diagnóstico de enfermedades.

El único inconveniente para usted es la extracción de la muestra de sangre, que siempre se hará aprovechando una analítica general necesaria para los controles rutinarios de la evolución de su enfermedad.

Si no tiene inconveniente, y así lo indica al final del documento, es posible que en el futuro tengamos que ponernos en contacto con Ud. para recabar datos o muestras adicionales, en dependencia del progreso de los resultados que se vayan obteniendo.

Confidencialidad y protección de datos

Sus datos clínicos, sus muestras y la información derivada del análisis de las mismas se incluirán en una base de datos codificada, asignándoles un código numérico de forma que sólo el investigador principal y sus colaboradores puedan relacionar dichos datos con usted y su historia clínica.

Como garantía de confidencialidad, dichos datos serán tratados con las medidas de seguridad establecidas en la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal. Usted podrá ejercer el derecho de acceso, rectificación y cancelación de los mismos en cualquier momento. Para ejercer este derecho debe ponerse en contacto con el investigador principal.

Los resultados de las investigaciones derivadas de la utilización de las muestras podrán ser publicadas en revistas científicas, pero siempre de forma que sea imposible identificar la identidad del donante.

Derecho de Revocación

Usted puede ejercer el derecho de revocación de este consentimiento cuando considere oportuno, sin que esto repercuta en sus cuidados médicos, solicitándolo al responsable de la colección. Desde ese momento ningún dato nuevo será añadido a la investigación y, además, puede exigir la destrucción de todas sus muestras extraídas previamente para evitar la realización de nuevas determinaciones.

Derecho de Información

Si está interesado en recibir información sobre los resultados generales obtenidos en relación a esta investigación podrá solicitársela al responsable de la colección.

Es posible que, durante el desarrollo de alguno de los proyectos de investigación se obtenga información relativa a su salud. El Comité de Ética que autorizó el proyecto decidirá cuándo se le debería enviar la información a usted personalmente. Al final del documento puede decidir si desea ser informado de estos resultados en el caso que se produzcan.

Asimismo, en caso de dudas respecto a sus derechos, puede dirigirse al Servicio de Atención al Paciente del hospital del centro donde firmó el consentimiento.

Le agradecemos sinceramente su colaboración, que servirá para que adquiramos mayor experiencia y podamos prestar una mejor atención a nuestros pacientes.

7. Tablas

TABLAS ACDP Y DE LQP

| TABLA DE DATOS DEMOGRÁFICOS, ANTECEDENTES, COMORBILIDAD, SUPERVIVENCIA Y CAUSA DE MUERTE | | | | | | | | | | | | |
|--|------|------|--------------|---------|-----------|------------|-------|------------------------|-------|------|-----------|----------------------|
| | Sexo | Edad | Genética | Fumador | PC previa | Síntomas | DM | ICC corregido por edad | IMC | ECOG | SPV meses | Causa de muerte |
| 1 | M | 65 | No | No | No | 3, 7 | Sí | 3 | 30,34 | 1 | 0 | Prog. tumoral |
| 2 | H | 77 | No | No | No | 2, 3, 5 | Sí | 4 | 27,12 | 2 | 19 | Prog. tumoral |
| 3 | H | 67 | Sí A.F. 1º G | Ex | No | 2, 3 | DEBUT | 2 | ND | 2 | 10 | Prog. tumoral |
| 4 | M | 76 | No | No | No | 1, 7 | No | 4 | 34,28 | 1 | ND | ND |
| 5 | H | 41 | No | Sí | No | 2 | No | 0 | ND | 0 | 4 | Prog. tumoral |
| 6 | M | 72 | No | No | Sí | 1, 2, 5 | No | 6 | 22,89 | 2 | 14 | Prog. tumoral |
| 7 | H | 80 | No | No | Sí | 2, 6 | No | 6 | ND | 2 | 35 | Prog. tumoral |
| 8 | H | 72 | No | No | No | 2, 3 | No | 3 | ND | 2 | 4 | Prog. tumoral |
| 9 | M | 84 | No | No | No | 2, 3 | No | 4 | 27,68 | 2 | 3 | Prog. tumoral |
| 10 | H | 33 | Sí A.F. 1º G | Sí | No | 1, 2, 3 | No | 0 | 29,32 | 0 | 18 | Prog. tumoral |
| 11 | M | 65 | Sí A.F. 1º G | No | No | 1 | No | 2 | ND | 0 | 14 | Prog. tumoral |
| 12 | M | 68 | No | No | No | 7 | No | 3 | 40,86 | 2 | 17 | Prog. tumoral |
| 13 | M | 69 | No | Ex | No | 1, 3, 5 | No | 2 | ND | 2 | 13 | Prog. tumoral |
| 14 | H | 44 | No | Sí | No | 1, 2 | No | 0 | ND | 1 | 2 | Prog. tumoral |
| 15 | H | 70 | No | No | No | 1, 2, 3 | No | 3 | 26,88 | 2 | 16 | Prog. tumoral |
| 16 | H | 73 | No | Ex | No | 1, 3 | Sí | 5 | 24,17 | 2 | 27 | Prog. tumoral |
| 17 | H | 83 | No | No | Sí | 1 | No | 4 | ND | 2 | 12 | Prog. tumoral |
| 18 | H | 74 | No | No | No | 2, 3 | No | 5 | 35 | 2 | 1 | Prog. tumoral |
| 19 | H | 62 | No | Sí | No | 1, 3, 5, 7 | No | 2 | 30,42 | 0 | 12 | Prog. tumoral+SEPSIS |
| 20 | H | 69 | No | Sí | Sí | 1, 5 | No | 2 | 28,72 | 0 | 23 | Prog. tumoral + HDA |
| 21 | H | 62 | No | Ex | No | 1, 3 | No | 2 | 38,27 | 0 | 1 | Prog. tumoral |
| 22 | M | 78 | No | No | No | 1, 2, 3 | No | 3 | 25,78 | 2 | 12 | Prog. tumoral |
| 23 | M | 73 | No | No | No | 2,3 | No | 3 | 21,34 | 2 | 2 | Prog. tumoral |
| 24 | H | 66 | No | Sí | No | 1, 2, 3 | Sí | 5 | 36,41 | 3 | 1 | Prog. tumoral |
| 25 | M | 60 | No | Ex | No | 1, 2, 5 | Sí | 3 | 27,93 | 1 | 7 | Prog. tumoral |
| 26 | M | 63 | No | Sí | No | 1, 6 | Sí | 6 | ND | 1 | 33 | Prog. tumoral |
| 27 | M | 68 | No | No | No | 1 | No | 2 | 29,52 | 2 | 8 | Prog. tumoral |
| 28 | H | 82 | No | No | No | 1, 6 | Sí | 6 | 30,48 | 2 | 8 | Prog. tumoral |
| 29 | H | 54 | No | Ex | Sí | 2, 3 | Sí | 2 | ND | 1 | 10 | Prog. tumoral |
| 30 | H | 60 | No | No | No | 1, 3 | Sí | 3 | 29,24 | 1 | 84 | VIVO |
| 31 | H | 59 | No | Ex | No | 1, 2, 3, 5 | No | 3 | 26,76 | 1 | 22 | Prog. tumoral |
| 32 | M | 55 | No | No | No | 2, 3, 5 | No | 1 | 23,07 | 1 | 7 | Prog. tumoral |
| 33 | H | 51 | Sí BRCA 2 | No | No | 1 | No | 1 | 22,22 | 0 | 93 | VIVO |

| TABLA DE DATOS DEMOGRÁFICOS, ANTECEDENTES, COMORBILIDAD, SUPERVIVENCIA Y CAUSA DE MUERTE | | | | | | | | | | | | |
|--|------|------|----------|---------|-----------|----------|-------|------------------------|-------|------|-----------|---------------------|
| | Sexo | Edad | Genética | Fumador | PC previa | Síntomas | DM | ICC corregido por edad | IMC | ECOG | SPV meses | Causa de muerte |
| 34 | M | 73 | No | No | No | 1, 5, 6 | No | 3 | 23,61 | 2 | 21 | Prog. tumoral |
| 35 | M | 82 | no | no | no | 1, 2, 3 | Si | 5 | 32,31 | 2 | 0 | Prog. tumoral |
| 36 | H | 84 | No | No | No | 1, 2 | No | 6 | 25,85 | 3 | 1 | Prog. tumoral |
| 37 | M | 70 | No | No | No | 1, 2 | No | 4 | 27,78 | 2 | 4 | SEPSIS Biliar |
| 38 | M | 60 | No | No | No | 2 | No | 2 | 21,48 | 1 | 70 | Prog. tumoral |
| 39 | H | 60 | No | Ex | Si | 1, 4 | DEBUT | 2 | 27,85 | 2 | 14 | Prog. tumoral |
| 40 | H | 63 | No | Si | No | 3 | DEBUT | 2 | 29,98 | 2 | 2 | TEP |
| 41 | H | 68 | No | Ex | No | 2 | No | 5 | 40,26 | 2 | 1 | HDA masiva |
| 42 | M | 79 | No | Si | No | 2, 3 | Si | 4 | 30,73 | 2 | 2 | Prog. tumoral |
| 43 | M | 71 | No | No | No | 2 | No | 3 | 34,24 | 2 | 5 | ICTUS isquémico |
| 44 | M | 76 | No | No | No | 2, 3 | Si | 4 | 34,22 | 2 | 5 | Prog. tumoral |
| 45 | M | 63 | No | Ex | No | 2 | No | 3 | 29,09 | 1 | 8 | Prog. tumoral |
| 46 | H | 77 | No | No | No | 1, 3 | No | 3 | 25,18 | 2 | 6 | Prog. tumoral |
| 47 | M | 60 | No | No | No | 2 | No | 3 | 26,11 | 1 | 16 | Prog. tumoral |
| 48 | M | 62 | No | Ex | No | 1, 2, 3 | No | 2 | 30,17 | 1 | 2 | ICTUS isquémico |
| 49 | M | 69 | No | No | No | 1, 3, 6 | Si | 3 | 22,16 | 2 | 69 | Prog. tumoral |
| 50 | M | 80 | No | No | No | 2,3 | No | 5 | 22,09 | 2 | 20 | Prog. tumoral |
| 51 | H | 84 | No | Ex | No | 1, 3, 6 | Si | 8 | 27,94 | 2 | 19 | Progresión tumoral |
| 52 | H | 73 | No | No | No | 3, 7 | No | 4 | 25,95 | 2 | 8 | Progresión tumoral |
| 53 | H | 66 | No | No | No | 2 | No | 2 | 25,91 | 1 | 37 | Prog. tumoral + HDA |
| 54 | M | 63 | No | No | No | 1, 3 | DEBUT | 2 | 29,3 | 1 | 3 | Post-CIRUGÍA |
| 55 | M | 67 | No | No | No | 1 | No | 2 | 28,23 | 1 | 3 | Post-CIRUGÍA |
| 56 | M | 62 | No | Si | No | 2,3 | No | 4 | 33,25 | 2 | 14 | Progresión tumoral |
| 57 | H | 73 | No | Ex | No | 1, 4, 5 | No | 4 | 25,22 | 1 | 25 | Progresión tumoral |
| 58 | H | 57 | No | No | No | 1, 3, 6 | No | 2 | 24,97 | 1 | 40 | Progresión tumoral |
| 59 | M | 70 | No | No | No | 1, 2, 7 | No | 4 | 34,95 | 2 | 1 | Prog. tumoral + HDA |
| 60 | H | 55 | No | Si | No | 1, 2 | No | 1 | 25,1 | 2 | 1 | SEPSIS Biliar |
| 61 | H | 69 | No | Si | No | 7 | No | 4 | 32,24 | 2 | 1 | Progresión tumoral |
| 62 | M | 82 | No | No | No | 2 | No | 4 | 34,84 | 2 | 3 | Progresión tumoral |
| 63 | M | 75 | No | No | No | 2, 3 | No | 3 | 29,24 | 2 | 0 | Post-CIRUGÍA |
| 64 | M | 80 | No | No | No | 1, 2, 3 | Si | 5 | ND | 2 | 6 | Progresión tumoral |
| 65 | H | 70 | No | Si | Si | 1, 6 | No | 5 | 38,74 | 2 | 11 | Progresión tumoral |
| 66 | M | 69 | No | No | No | 1, 2 | No | 3 | 28,44 | 3 | 14 | Prog. tumoral. |

| TABLA DE DATOS DEMOGRÁFICOS, ANTECEDENTES, COMORBILIDAD, SUPERVIVENCIA Y CAUSA DE MUERTE | | | | | | | | | | | | |
|--|------|------|-----------------|---------|-----------|----------|-------|------------------------|-------|------|-----------|---------------------|
| | Sexo | Edad | Genética | Fumador | PC previa | Síntomas | DM | ICC corregido por edad | IMC | ECOG | SPV meses | Causa de muerte |
| 67 | H | 43 | Si A.F. 1º G | No | No | 2 | No | 0 | 28,36 | 0 | 25 | Prog. tumoral |
| 68 | M | 87 | No | No | No | 2, 3 | No | 6 | 25,27 | 3 | 2 | Progresión tumoral |
| 69 | H | 55 | No | Si | Si | 1, 3, 6 | No | 1 | 32,18 | 0 | 25 | Prog. tumoral |
| 70 | H | 60 | Si A.F. 1º G | Ex | No | 7 | DEBUT | 2 | 22,14 | 0 | 31 | Prog. tumoral |
| 71 | M | 54 | No | Si | No | 1, 4 | No | 1 | 29,3 | 1 | 21 | Prog. tumoral |
| 72 | H | 63 | No | Ex | Si | 1, 3, 6 | DEBUT | 2 | 26,23 | 1 | 69 | Prog. tumoral |
| 73 | H | 60 | No | Ex | No | 1, 2, 3 | No | 3 | 30,22 | 1 | 21 | Prog. tumoral |
| 74 | H | 78 | No | Si | No | 2 | No | 4 | 30,12 | 2 | 6 | Prog. tumoral |
| 75 | M | 69 | No | Ex | Si | 1 | No | 2 | 23,69 | 1 | 4 | Progresión tumoral |
| 76 | H | 70 | No | Si | No | 2, 3 | Si | 6 | 29,1 | 3 | 1 | Prog. tumoral |
| 77 | M | 67 | No | Ex | No | 1, 3 | No | 3 | 22,93 | 1 | 34 | Prog. tumoral |
| 78 | H | 30 | Si A.F. 1º G | Si | No | 1, 2, 3 | No | 0 | ND | 1 | | N.D. |
| 79 | M | 51 | No | No | No | 1 | No | 1 | 22,47 | 0 | 91 | VIVO |
| 80 | H | 68 | No | Ex | No | 1, 2, 3 | No | 3 | 27,22 | 1 | 14 | Progresión tumoral |
| 81 | H | 73 | No | Ex | No | 2, 3 | Si | 4 | 26,51 | 1 | 8 | Progresión tumoral |
| 82 | M | 58 | No | No | No | 1, 2, 3 | No | 1 | 30,73 | 1 | 10 | Progresión tumoral |
| 83 | H | 59 | No | Ex | No | 2, 3 | No | 1 | 28,4 | 1 | 3 | Prog. tumoral |
| 84 | M | 54 | No | Ex | No | 2, 3 | DEBUT | 1 | 21,88 | 0 | 12 | Progresión tumoral |
| 85 | H | 72 | No | No | No | 2, 3 | Si | 7 | 31,2 | 0 | 5 | Prog. tumoral + HDA |
| 86 | M | 65 | No | No | No | 1, 2 | No | 2 | 22,2 | 0 | 20 | COVID |
| 87 | H | 69 | Si A.F. 1º G | SI | NO | 3 | SI | 4 | 20 | 1 | 63 | VIVO |
| 88 | H | 76 | NO | NO | NO | 1, 3, 5 | NO | 3 | 32,5 | 0 | 63 | VIVO |
| 89 | H | 60 | NO | NO | NO | 1, 3, 6 | DEBUT | 3 | 32,7 | 0 | 25 | Progresión tumoral |
| 90 | H | 69 | NO | NO | NO | 1, 3, 6 | SI | 5 | 37,7 | 0 | 15 | Progresión tumoral |
| 91 | H | 74 | No | Si | No | 1, 3 | Si | 4 | 26,28 | 0 | | N.D. |
| 92 | H | 67 | No | Si | No | 1, 2, 3 | DEBUT | 6 | 30,1 | 2 | 8 | Progresión tumoral |
| 93 | H | 83 | No | No | No | 1, 2 | Si | 6 | 24,27 | 1 | | N.D. |
| 94 | H | 76 | No | Si | No | 3 | Si | 4 | 28,16 | 1 | 14 | Progresión tumoral |
| 95 | H | 90 | No | Ex | No | 1, 3 | DEBUT | 8 | 24,13 | 1 | 1 | Progresion tumoral |
| 96 | M | 86 | No | No | No | 1 | No | 5 | 24,2 | 1 | 2 | ND |
| 97 | M | 86 | No | No | No | 1 | Si | 6 | 28,37 | 2 | 21 | Progresion tumoral |
| 98 | H | 68 | No | Si | Si | 7 | Si | 5 | 21,83 | 0 | 4 | Prog. tumoral + HDA |
| 99 | M | 85 | No | No | No | 1, 3 | Si | 6 | 33,15 | 2 | 1 | Prog. tumoral |

| TABLA DE DATOS DEMOGRÁFICOS, ANTECEDENTES, COMORBILIDAD, SUPERVIVENCIA Y CAUSA DE MUERTE | | | | | | | | | | | | |
|--|------|------|--------------|---------|-----------|----------|-------|------------------------|-------|------|-----------|-----------------------|
| | Sexo | Edad | Genética | Fumador | PC previa | Síntomas | DM | ICC corregido por edad | IMC | ECOG | SPV meses | Causa de muerte |
| 100 | M | 89 | No | No | No | 1, 2 | No | 7 | 28 | 3 | 1 | Prog. tumoral |
| 101 | H | 89 | No | No | No | 1, 2, 3 | Si | 8 | ND | 3 | 11 | Prog. tumoral |
| 102 | M | 81 | No | No | No | 2 | DEBUT | 8 | 26,4 | 3 | 1 | Prog. tumoral |
| 103 | H | 82 | No | No | No | 2, 3, 5 | No | 4 | 30,1 | 0 | 17 | Prog. tumoral |
| 104 | M | 83 | No | No | No | 1 | DEBUT | 6 | 29,27 | 0 | 10 | Prog. tumoral |
| 105 | M | 88 | No | No | No | 1, 2 | No | 4 | 28,35 | 0 | 8 | Prog. tumoral |
| 106 | M | 75 | No | No | No | 1, 3, 5 | No | 4 | 27,19 | 4 | 3 | SEPSIS biliar |
| 107 | M | 81 | No | No | Si | 1, 2 | No | 4 | 27,02 | 0 | 1 | SEPSIS respiratoria |
| 108 | H | 88 | No | No | No | 2, 3 | DEBUT | 6 | 22,12 | 0 | 2 | Prog. tumoral |
| 109 | M | 82 | No | No | No | 3 | No | 5 | 26,5 | 0 | 3 | Progresión tumoral |
| 110 | M | 94 | No | No | No | 1, 2, 3 | No | 5 | 22,36 | 2 | 2 | Progresión tumoral. |
| 111 | H | 86 | No | No | NO | 1, 6 | No | 6 | 32,98 | 1 | 4 | SEPSIS biliar |
| 112 | M | 84 | No | No | No | 2 | Si | 5 | 25,47 | 0 | 12 | Progresión tumoral |
| 113 | H | 83 | No | No | No | 1, 2, 3 | Si | 8 | 25,64 | 1 | 2 | Prog. tumoral |
| 114 | M | 78 | No | No | No | 2, 3 | No | 3 | 22,3 | 0 | 10 | Progresión tumoral |
| 115 | M | 78 | No | No | No | 1 | No | 3 | ND | 1 | 16 | Prog. tumoral + ICTUS |
| 116 | H | 53 | No | Si | No | 2 | No | 1 | 31,83 | 0 | 9 | Progresión tumoral |
| 117 | M | 83 | No | No | No | 3, 5 | Si | 6 | 30,34 | 1 | 1 | Progresión tumoral |
| 118 | M | 38 | Si PRSS1 | Si | Si | 1, 2 | No | 0 | 23,4 | 0 | 2 | Progresión tumoral |
| 119 | M | 42 | Si A.F. 1º G | Si | No | 2, 3 | No | 0 | 20,7 | 0 | 5 | Progresión tumoral |
| 120 | H | 47 | No | Si | Si | 1, 2, 3 | DEBUT | 1 | 22,4 | 0 | 32 | Progresión tumoral |
| 121 | M | 74 | No | No | No | 2 | No | 3 | 30,26 | 0 | 2 | SEPSIS biliar |
| 122 | H | 58 | No | No | No | 3 | DEBUT | 1 | 22 | 0 | 15 | Progresión tumoral |

| TABLA DE LOCALIZACIÓN, ESTADIFICACIÓN, ANALÍTICAS Y ANATOMIA PATOLÓGICA. | | | | | | | | | | |
|--|-----------------------|-----|------------|-------|---------|-------------------|-------|-------------------|----------|-----------------------|
| | LOCALIZACION | TMN | Estadio Qx | CEA | CA 19.9 | Bilirrubina Total | PCR | Proteínas Totales | Albúmina | Anatomía Patológica |
| 1 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 3,81 | 1,22 | 0,37 | ND | 5,22 | 2,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 2 | Cabeza | IV | 4 | 207,1 | 8718 | 1,45 | 1,47 | 5,3 | 2,5 | Adenocarcinoma Ductal |
| 3 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 18,86 | 5331 | 0,28 | 0,79 | 6,09 | 3,2 | Adenocarcinoma Ductal |
| 4 | Cabeza | IV | 4 | 3,54 | 6,35 | 9,74 | ND | 5,51 | 2,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 5 | Cabeza, cuerpo y cola | IIA | 1 | 2,79 | 386 | 0,41 | 1,21 | 6,66 | 3,8 | Adenocarcinoma Ductal |
| 6 | Cabeza | IIA | 1 | 7,71 | 229,1 | 5,08 | 0,801 | 5,9 | 2,78 | Adenocarcinoma Ductal |
| 7 | Cabeza | IA | 1 | 4,48 | 53,18 | 1,3 | 5,32 | 7,71 | 2,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 8 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 11,29 | 750,2 | 0,29 | 0,461 | 5,75 | 2,84 | Adenocarcinoma Ductal |
| 9 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 4,26 | 645,1 | 0,55 | 0,18 | 5,8 | 3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 10 | Cabeza | IV | 4 | 5,18 | 899,4 | 5,53 | ND | 7,31 | 3,79 | Adenocarcinoma Ductal |
| 11 | Cabeza | IA | 1 | 3,71 | 174,5 | 9,92 | 0,631 | 6,14 | 3,16 | Adenocarcinoma Ductal |
| 12 | Cabeza | IIB | 1 | 1,06 | 10,44 | 0,59 | 1,11 | 7,19 | 3,18 | Adenocarcinoma Ductal |
| 13 | Cabeza | IB | 1 | 7,67 | 129,7 | 4,48 | 0,715 | 6,16 | 2,8 | Adenocarcinoma Ductal |
| 14 | Cabeza | IV | 4 | 496,6 | 10000 | 18,93 | 11,4 | 5,7 | 2,69 | Adenocarcinoma Ductal |
| 15 | Cabeza | IV | 4 | ND | 1717 | 4,9 | 1,08 | 6,89 | 3,47 | Adenocarcinoma Ductal |
| 16 | Cabeza | III | 3 | 4,98 | 6037 | 7,52 | ND | 5,3 | 3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 17 | Cabeza | IIB | 2 | 1,3 | 34,93 | 28,95 | 0,43 | 6,66 | 3,33 | Adenocarcinoma Ductal |
| 18 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 14,72 | 10000 | 1,33 | ND | 4,91 | 2,24 | Adenocarcinoma Ductal |
| 19 | Cabeza | IIB | 1 | 9,76 | 279,7 | 11,43 | 0,46 | 6,1 | 3,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 20 | Cabeza | IB | 1 | 2,72 | 72 | 28,07 | 3,96 | 4,55 | 1,46 | Adenocarcinoma Ductal |
| 21 | Cabeza | IV | 4 | ND | 2796 | 13,49 | ND | 5,95 | 2,04 | Adenocarcinoma Ductal |
| 22 | Cabeza | IB | 2 | ND | 2065 | 2,75 | 1,06 | 5,78 | 2,89 | Adenocarcinoma Ductal |
| 23 | Cabeza | IV | 4 | 33,9 | 9762,4 | 0,35 | ND | 6,8 | 3,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 24 | Cabeza | IV | 4 | 32,1 | 33261 | 13,8 | 8,28 | 5,21 | 1,16 | Adenocarcinoma Ductal |
| 25 | Cabeza | IV | 4 | 59,2 | 9401 | 9,49 | 0,84 | 6,78 | 3,22 | Adenocarcinoma Ductal |
| 26 | Cabeza | IB | 2 | 7,18 | 8,69 | 2,76 | 0,84 | 6,65 | 3,41 | Adenocarcinoma Ductal |
| 27 | Cabeza | IB | 1 | ND | ND | 22,78 | 0,95 | ND | ND | Adenocarcinoma Ductal |
| 28 | Cabeza | IIB | 1 | 6,52 | 3321 | 26,05 | 0,74 | 6,26 | 2,28 | Adenocarcinoma Ductal |
| 29 | Cuerpo-cola | III | 3 | 1,7 | 32,2 | 0,76 | 0,13 | 6,1 | 3,22 | Adenocarcinoma Ductal |
| 30 | Cabeza | IIB | 3 | ND | 1495 | 24,68 | 4,62 | 5,7 | 1,79 | Adenocarcinoma Ductal |
| 31 | Cabeza | IIB | 1 | 5,5 | 176 | 10,9 | ND | 4,97 | 1,97 | Adenocarcinoma Ductal |
| 32 | Cabeza | IV | 4 | 21,7 | 1453 | 0,41 | 3,22 | 4,34 | 2,26 | Adenocarcinoma Ductal |
| 33 | Cabeza | IIB | 1 | 1,98 | 69,3 | 15,3 | 0,06 | 5,68 | 2,37 | Adenocarcinoma Ductal |
| 34 | cabeza | IIA | 2 | 5,29 | 49,7 | 7,22 | 0,59 | 6,35 | 3,12 | Adenocarcinoma Ductal |

| TABLA DE LOCALIZACIÓN, ESTADIFICACIÓN, ANALÍTICAS Y ANATOMIA PATOLÓGICA. | | | | | | | | | | |
|--|--------------|-----|------------|-------|---------|-------------------|-------|-------------------|----------|-----------------------|
| | LOCALIZACION | TMN | Estadio Qx | CEA | CA 19.9 | Bilirrubina Total | PCR | Proteínas Totales | Albúmina | Anatomía Patológica |
| 35 | cabeza | IV | 4 | 100 | 56397 | 7,88 | 10,1 | 6,12 | ND | Adenocarcinoma Ductal |
| 36 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 2,4 | 2001,8 | 20,01 | ND | 6,2 | 2,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 37 | Cabeza | III | 3 | 1,2 | 529,9 | 26,52 | ND | 5,7 | 3,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 38 | Cuerpo-cola | IIB | 1 | 0,9 | 118 | 0,25 | ND | 6,3 | 3,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 39 | Cabeza | IIB | 3 | 2,6 | 284,9 | 9,64 | ND | 5,8 | 3,6 | Adenocarcinoma Ductal |
| 40 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 1,6 | 6331 | 0,41 | ND | 6,3 | 3,7 | Adenocarcinoma Ductal |
| 41 | Cuerpo-cola | IIB | 1 | 2,1 | 262 | 0,61 | ND | 6,6 | 4,5 | Adenocarcinoma Ductal |
| 42 | Cabeza | IV | 4 | 17,8 | 598,5 | 0,93 | ND | 6,5 | 3,8 | Adenocarcinoma Ductal |
| 43 | Cabeza | IIB | 1 | 0,8 | 75,8 | 0,41 | ND | 6,3 | 3,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 44 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 7,2 | 102,3 | 0,42 | ND | 6,3 | 3,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 45 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 3,6 | 6499,9 | 0,68 | ND | 6,7 | 4,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 46 | Cabeza | IV | 4 | 9,6 | 1264 | 16,99 | ND | 5,3 | 2,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 47 | Cuerpo-cola | III | 3 | 1,4 | 175,9 | 0,37 | ND | 7,2 | 4,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 48 | Cabeza | IB | 2 | 2,1 | 534,9 | 8,09 | 0,78 | 6,4 | 4,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 49 | cabeza | IB | 1 | 4,1 | 909,4 | 2,42 | ND | 6,5 | 3,5 | Adenocarcinoma Ductal |
| 50 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 500,3 | 4 | 0,63 | ND | 6,1 | 3,2 | Adenocarcinoma Ductal |
| 51 | Cabeza | III | 3 | 3,7 | 1201,7 | 36,49 | ND | 5,8 | 3,6 | Adenocarcinoma Ductal |
| 52 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 4,5 | 486,8 | 1,4 | ND | 5,8 | 3,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 53 | Cabeza | IB | 2 | 0,9 | 56,9 | 0,95 | ND | 6,4 | 3,6 | Adenocarcinoma Ductal |
| 54 | Cabeza | IB | 1 | 4 | 446,3 | 6,91 | ND | 6,6 | 3,6 | Adenocarcinoma Ductal |
| 55 | Cabeza | IB | 1 | ND | 166 | 18,61 | ND | 6,6 | 4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 56 | Cuerpo-cola | IV | 4 | ND | 1509 | 0,48 | 0,11 | 6,6 | 3,8 | Adenocarcinoma Ductal |
| 57 | Cabeza | IV | 4 | 1,67 | 289 | 17,59 | 1,82 | 5,4 | 3,3 | NIPM Adenoc. Ductal |
| 58 | Cabeza | IIA | 1 | ND | 674,8 | 9,64 | ND | 6,3 | 3,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 59 | Cabeza | IV | 4 | 3,4 | 298,9 | 5,91 | 25,32 | 6,5 | 3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 60 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 541 | 25421 | 19 | 2,57 | 6,3 | 3,5 | Adenocarcinoma Ductal |
| 61 | Cabeza | IV | 4 | 307,4 | 66015,1 | 2,02 | 11,35 | 5,5 | 3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 62 | Cabeza | IV | 4 | 3,1 | 2357,1 | 0,75 | ND | 6,6 | 3,7 | Adenocarcinoma Ductal |
| 63 | Cabeza | IB | 2 | ND | ND | 0,53 | 0,49 | 7,1 | 4,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 64 | Cabeza | III | 2 | 1,9 | 146,6 | 5,54 | 5,78 | 6 | 3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 65 | Cabeza | IV | 4 | 8,3 | 702,3 | 34,18 | ND | 5,4 | 2,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 66 | Cabeza | IV | 4 | ND | 154,6 | 3,39 | ND | 6,5 | 4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 67 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 4,9 | 788,1 | 0,4 | ND | 6,9 | 4,3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 68 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 0,9 | 1857 | 0,9 | 4,97 | 6,7 | 3,8 | Adenocarcinoma Ductal |

| TABLA DE LOCALIZACIÓN, ESTADIFICACIÓN, ANALÍTICAS Y ANATOMÍA PATOLÓGICA. | | | | | | | | | | |
|--|--------------|-----|------------|-------|---------|-------------------|-------|-------------------|----------|-----------------------|
| | LOCALIZACION | TMN | Estadio Qx | CEA | CA 19.9 | Bilirrubina Total | PCR | Proteínas Totales | Albúmina | Anatomía Patológica |
| 69 | Cabeza | IV | 4 | 66,5 | 1219,3 | 15,12 | ND | 6 | 3,3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 70 | Cabeza | IIB | 1 | 13,9 | 73,2 | 1,12 | 1,02 | 7,1 | 4,2 | Adenocarcinoma Ductal |
| 71 | Cabeza | IV | 4 | 3,6 | 2661 | 48,51 | ND | 5,9 | 3,7 | Adenocarcinoma Ductal |
| 72 | Cabeza | IIA | 1 | 14 | 963,7 | 25,41 | 1,1 | 5,2 | 3,2 | Adenocarcinoma Ductal |
| 73 | Cabeza | IV | 4 | 3,7 | 180,3 | 4,27 | 0,46 | 6,6 | 4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 74 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 121,5 | 26104,5 | 1,87 | 10,6 | 5,8 | 3,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 75 | Cabeza | IIA | 3 | 20,2 | 38477 | 1,08 | 7,02 | 5,7 | 2,7 | Adenocarcinoma Ductal |
| 76 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 2,1 | 377,4 | 0,74 | 42,36 | 6,2 | 2,7 | Adenocarcinoma Ductal |
| 77 | Cabeza | III | 3 | 1,4 | 149,9 | 2,41 | 0,4 | 6,9 | 4,3 | Adenocarcinoma Ductal |
| 78 | Cabeza | III | 3 | 1 | 87,1 | 14,18 | 0,7 | 6,7 | 4,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 79 | cabeza | IA | 1 | 0,9 | 24,5 | 20,63 | 1,09 | 6,6 | 3,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 80 | Cabeza | III | 3 | 1,8 | 435 | 3,47 | 0,76 | 6,1 | 3,4 | Adenocarcinoma Ductal |
| 81 | Cabeza | IV | 4 | 1,6 | 122,9 | 0,48 | ND | 6,6 | 4,2 | Adenocarcinoma Ductal |
| 82 | Cabeza | III | 3 | 3,1 | 1124,3 | 14,47 | 3,8 | 6,5 | 2,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 83 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 3 | 2413 | 0,79 | ND | 6,4 | 3,7 | Adenocarcinoma Ductal |
| 84 | Cabeza | IV | 4 | 22,9 | 2779 | 0,64 | ND | 6,3 | 4,1 | Adenocarcinoma Ductal |
| 85 | Cuerpo-Cola | III | 3 | 303 | 3100 | 0,17 | 2,37 | 5,3 | 2,51 | Adenocarcinoma Ductal |
| 86 | cabeza | IB | 2 | 5,53 | 289 | 11,8 | 0,48 | 6,54 | 3,72 | Adenocarcinoma Ductal |
| 87 | CUERPO-COLA | IIA | 3 | 64 | 1380 | 0,6 | 0,11 | 5,52 | 3,21 | Adenocarcinoma Ductal |
| 88 | CABEZA | IB | 1 | 5,42 | 68,7 | 16,8 | 1,48 | 6,09 | 3,14 | Adenocarcinoma Ductal |
| 89 | CABEZA | IB | 1 | 11,7 | 3 | 16,54 | ND | 7 | 3,86 | Adenocarcinoma Ductal |
| 90 | CABEZA | IIA | 2 | 4,75 | 54,5 | 3 | 1,62 | 7,46 | 3,31 | Adenocarcinoma Ductal |
| 91 | Cabeza | IV | 4 | 1,9 | 203 | 23,8 | 2,3 | 5,13 | 2,9 | Adenocarcinoma Ductal |
| 92 | Cabeza | IV | 4 | 6,01 | 814 | 6,7 | 45,1 | 6,22 | 2,56 | Adenocarcinoma Ductal |
| 93 | Cabeza | IB | 2 | 14,6 | FN | 11,3 | 4,4 | 6,41 | 3,6 | Adenocarcinoma Ductal |
| 94 | Cuerpo-cola | IV | 4 | 3,73 | 449,9 | 0,45 | ND | 6,45 | 3,14 | Biopsia no indicada |
| 95 | Cabeza | IV | 4 | ND | ND | 14,9 | 2,42 | 5,79 | 2,68 | Biopsia no indicada |
| 96 | cabeza | IB | 1 | 6,17 | 129,8 | 14,6 | 3,31 | 4,49 | 1,63 | Biopsia no indicada |
| 97 | Cabeza | IA | 1 | ND | 1274 | 25,57 | 2,54 | ND | ND | Biopsia no indicada |
| 98 | Cuerpo-cola | IV | 4 | ND | ND | 0,4 | ND | 5,76 | 2,15 | Biopsia no indicada |
| 99 | Cabeza | IV | 4 | ND | 1866 | 14,15 | 3,79 | 5,34 | 1,39 | Biopsia no indicada |
| 100 | Cabeza | III | 3 | ND | ND | 27,05 | 3,68 | 5,3 | 1,92 | Biopsia no indicada |
| 101 | Cabeza | IB | 1 | 7,35 | 2063 | 19,1 | 1,87 | 6 | 2,21 | Biopsia no indicada |
| 102 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 5,56 | 1549 | 0,62 | ND | 6,01 | 2,25 | Biopsia no indicada |

| TABLA DE LOCALIZACIÓN, ESTADIFICACIÓN, ANALÍTICAS Y ANATOMÍA PATOLÓGICA. | | | | | | | | | | |
|--|--------------|-----|------------|------|---------|------------------|------|-------------------|----------|-----------------------|
| | LOCALIZACION | TMN | Estadio Qx | CEA | CA 19.9 | Bilirubina Total | PCR | Proteínas Totales | Albúmina | Anatomía Patológica |
| 103 | Cuerpo-Cola | IIA | 3 | ND | 928,5 | 0,58 | 0,18 | 6,03 | ND | Biopsia no indicada |
| 104 | Cabeza | IA | 1 | 1,63 | 443,6 | 5,55 | 2,33 | 6,16 | 2,61 | Biopsia no indicada |
| 105 | Cabeza | IB | 1 | ND | 524,8 | 2,7 | 1,36 | ND | ND | Biopsia no indicada |
| 106 | Cabeza | IIA | 1 | 12,2 | 2850 | 6,31 | 3,83 | 6,36 | 2,28 | Biopsia no indicada |
| 107 | Cabeza | IV | 4 | 5,47 | 30566 | 15,05 | ND | 4,57 | 1,4 | Biopsia no indicada |
| 108 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 386 | 400000 | 0,5 | 1,64 | 6,18 | 3,01 | Biopsia no indicada |
| 109 | Cabeza | IV | 4 | 4 | 124,9 | 0,52 | ND | 6,3 | 3,6 | Biopsia no indicada |
| 110 | Cabeza | IV | 4 | ND | 389,4 | 17,07 | ND | 5,9 | 3 | Biopsia no indicada |
| 111 | Cabeza | IB | 1 | ND | ND | 12,29 | ND | 6,2 | 3,1 | Biopsia no indicada |
| 112 | Cabeza | IIA | 1 | 8 | 1260 | 0,77 | ND | 6,8 | 4,2 | Biopsia no indicada |
| 113 | Cabeza | IV | 4 | ND | 4732 | 5,58 | 0,34 | 5,9 | 2,9 | Biopsia no indicada |
| 114 | Cabeza | IIB | 1 | 7,4 | 6335,5 | 0,64 | ND | 7,3 | 4,2 | Biopsia no indicada |
| 115 | Cabeza | IB | 3 | 4,5 | 422,9 | 4,64 | 3,76 | 5,6 | 3,1 | Biopsia no indicada |
| 116 | Cabeza | IB | 3 | 4,12 | 116 | 0,3 | ND | 7,12 | 3,96 | Adenocarcinoma Ductal |
| 117 | Cabeza | IV | 4 | 4,87 | 754 | 0,6 | 3,8 | 5,13 | 2,26 | Biopsia no indicada |
| 118 | Cabeza | IB | 1 | 7,48 | 2 | 13,15 | 0,46 | 6,2 | 3,14 | Adenocarcinoma Ductal |
| 119 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 2,92 | 155 | 0,1 | 1,91 | 5,78 | 2,81 | Adenocarcinoma Ductal |
| 120 | Cabeza | IB | 1 | 5,62 | 113 | 7,1 | 0,46 | 6,36 | 2,75 | Adenocarcinoma Ductal |
| 121 | Cuerpo-Cola | IV | 4 | 9,49 | 8440 | 0,4 | 0,84 | 6,44 | 3,34 | Adenocarcinoma Ductal |
| 122 | Cabeza | IB | 1 | 2,12 | 51,5 | 0,4 | 0,35 | 5,69 | 3,14 | Adenocarcinoma Ductal |

| TABLA DE TRATAMIENTO, COMPLICACIONES QUIRÚRGICAS Y DRENAJE BILIAR | | | | | | | | | | |
|---|-------------|------------------|---------------|--------------|----|-----------------------|---------------|-----------|-----------------|------------------------|
| | TT curativo | Tipo TT CURATIVO | Cirugía SI/NO | Cirugía TIPO | R0 | Cx Técnica | Clavien-Dindo | CPRE/CTPH | Prótesis (CPRE) | Bilirrubina a fecha IQ |
| 1 | No | | SI | 2 | | Exploradora | | No | | |
| 2 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 3 | No | | NO | | | | | No | | |
| 4 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 5 | Si | Cx + Rt | SI | 1 | No | P. Total | I | No | | 0,41 |
| 6 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | 0 | No | | 10,02 |
| 7 | Si | Cx | SI | 1 | Si | DPC | IVA | 1 | 2 | 3,47 |
| 8 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 9 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 10 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 11 | Si | Cx + Qt | SI | 1 | Si | DPC | IIIB | No | | 11,34 |
| 12 | Si | Cx | SI | 1 | Si | DPC | II | No | | 0,59 |
| 13 | Si | Cx | SI | 1 | Si | Pancreatectomía total | I | No | | 6,99 |
| 14 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 15 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 16 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 17 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | IIIB | No | | 28,95 |
| 18 | No | | NO | | | | | No | | |
| 19 | Si | Cx + Qt + Rt | SI | 1 | No | DPC | II | 1 | 3 | 25,38 |
| 20 | Si | Cx | SI | 1 | Si | DPC | IVB | No | | 11,78 |
| 21 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 22 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | 0 | No | | 2,75 |
| 23 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 24 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 25 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 26 | Si | Cx + Qt + Rt | SI | 1 | No | DPC | I | No | | 2,76 |
| 27 | Si | Cx | SI | 1 | No | Pancreatectomía total | IVA | 1 | 3 | 15,14 |
| 28 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | IVA | 1 | 1 | 18,55 |
| 29 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | 1 | 2 | |
| 30 | No | Cx + Qt + Rt | SI | 2 | | Derivativa | | 1 | 2 | |
| 31 | Si | Cx + Qt + Rt | SI | 1 | No | DPC | IVB | 1 | 1 | 11,57 |
| 32 | No | | NO | | | | | No | | |
| 33 | Si | Cx + Qt + Rt | SI | 1 | Si | DPC | 0 | 1 | 2 | 2,06 |
| 34 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | I | 1 | 3 | 14,4 |

| TABLA DE TRATAMIENTO, COMPLICACIONES QUIRÚRGICAS Y DRENAJE BILIAR | | | | | | | | | | |
|---|-------------|------------------|---------------|--------------|----|-----------------------|---------------|-----------|-----------------|------------------------|
| | TT curativo | Tipo TT CURATIVO | Cirugía SI/NO | Cirugía TIPO | R0 | Cx Técnica | Clavien-Dindo | CPRE/CTPH | Prótesis (CPRE) | Bilirrubina a fecha IQ |
| 35 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 36 | No | | NO | | | | | No | | |
| 37 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 38 | Si | Cx + Qt + Rt | SI | 1 | Si | Pancreatectomía total | IVA | No | | 1,24 |
| 39 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 40 | No | | NO | | | | | No | | |
| 41 | Si | Cx | SI | 1 | No | P.Corporocaudal | 0 | No | | 0,61 |
| 42 | No | | NO | | | | | 2 | | |
| 43 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | IVA | No | | 0,62 |
| 44 | No | | NO | | | | | No | | |
| 45 | No | | NO | | | | | No | | |
| 46 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 47 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 48 | Si | Cx | SI | 1 | Si | DPC | II | No | | 17,84 |
| 49 | Si | Cx + Qt | SI | 1 | No | DPC | II | No | | 9,76 |
| 50 | No | | NO | | | | | No | | |
| 51 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 52 | No | | NO | | | | | No | | |
| 53 | Si | Cx+QT | SI | 1 | No | DPC | IVB | No | | 1,98 |
| 54 | SI | Cx | SI | 1 | No | DPC | V | No | | 6,58 |
| 55 | Si | Cx | SI | 1 | Si | DPC | V | No | | |
| 56 | No | | NO | | | | | No | | |
| 57 | Si | Cx + Qt | SI | 1 | Si | DPC | IVA | 1 | 1 | 9,23 |
| 58 | Si | Cx+ QT+ RT | SI | 1 | No | DPC | IVA | 1 | 1 | 9,04 |
| 59 | No | | NO | | | | | No | | |
| 60 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 61 | No | | NO | | | | | No | | |
| 62 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 63 | Si | Cx | SI | 1 | No | DPC | V | No | | 0,32 |
| 64 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 65 | No | | SI | 2 | | Exploradora | | 1 | 1 | |
| 66 | No | | NO | | | | | 2 | | |
| 67 | No | | NO | | | | | No | | |
| 68 | No | | NO | | | | | No | | |

| TABLA DE TRATAMIENTO, COMPLICACIONES QUIRÚRGICAS Y DRENAJE BILIAR | | | | | | | | | | |
|---|-------------|------------------|---------------|--------------|-----------|-----------------|---------------|-----------|-----------------|------------------------|
| | TT curativo | Tipo TT CURATIVO | Cirugía SI/NO | Cirugía TIPO | R0 | Cx Técnica | Clavien-Dindo | CPRE/CTPH | Prótesis (CPRE) | Bilirrubina a fecha IQ |
| 69 | No | | SI | 2 | | Exploradora | | 1 | 1 | |
| 70 | Si | Cx+QT+RT | SI | 1 | Si | DPC | II | No | | 0,59 |
| 71 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 72 | Si | Cx + Qt | SI | 1 | No | DPC | II | 1 | 1 | 6,37 |
| 73 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 74 | No | | NO | | | | | No | | |
| 75 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | 2 | | |
| 76 | No | | NO | | | | | No | | |
| 77 | No | | SI | 2 | | Exploradora | | 1 | 1 | |
| 78 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 79 | Si | Cx + QT | SI | 1 | Si | DPC | 0 | 1 | 2 | 20,63 |
| 80 | No | | SI | 2 | | Exploradora | | 1 | 1 | |
| 81 | No | | NO | | | | | No | | |
| 82 | No | | SI | 2 | | Exploradora | | 1 | 1 | |
| 83 | No | | NO | | | | | 1 | 1 | |
| 84 | No | | NO | | | | | 2 | | |
| 85 | No | | NO | | | | | No | | |
| 86 | Si | Cx + QT | SI | 1 | No | DPC | II | 1 | 1 | 1,76 |
| 87 | SI | QT + Qx | SI | 1 | Si | P.Corporocaudal | IVa | NO | | 0,16 |
| 88 | SI | QX + QT | SI | 1 | No | DPC | 0 | 1 | 2 | 20,17 |
| 89 | SI | QX + QT | SI | 1 | Si | DPC | 0 | 1 | 3 | 25,51 |
| 90 | SI | Qx + QT + RT | SI | 1 | Si | DPC | 0 | 1 | 2 | 2,97 |
| 91 | No | Cx + QT | Si | 2 | | Derivativa | | 2 | | 7,2 |
| 92 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 93 | No | QT + RT/QT | No | | | | | 1 | 1 | |
| 94 | No | | SI | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 95 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 96 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 97 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 98 | No | | No | | | | | No | | |
| 99 | No | | No | | | | | 2 | | |
| 100 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 101 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 102 | No | | No | | | | | No | | |

| TABLA DE TRATAMIENTO, COMPLICACIONES QUIRÚRGICAS Y DRENAJE BILIAR | | | | | | | | | | |
|---|-------------|------------------|---------------|--------------|----|-------------|---------------|-----------|-----------------|------------------------|
| | TT curativo | Tipo TT CURATIVO | Cirugía SI/NO | Cirugía TIPO | R0 | Cx Técnica | Clavien-Dindo | CPRE/CTPH | Prótesis (CPRE) | Bilirrubina a fecha IQ |
| 103 | No | | No | | | | | 2 | | |
| 104 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 105 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 106 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 107 | No | | No | | | | | No | | |
| 108 | No | | No | | | | | No | | |
| 109 | No | | Si | 2 | | | | No | | |
| 110 | No | | No | | | | | No | | |
| 111 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 112 | No | | No | | | | | No | | |
| 113 | No | | No | | | | | 1 | 1 | |
| 114 | No | | No | | | | | No | | |
| 115 | No | | Si | 2 | | | | 1 | 3 | |
| 116 | No | | Si | 2 | | Derivativa | | No | | |
| 117 | No | | No | | | | | No | | |
| 118 | No | | Si | 2 | | Exploradora | | Si | 1 | 2,5 |
| 119 | No | | No | | | | | No | | |
| 120 | Si | Cx + Qt + Rt | Si | 1 | Si | DPC | 0 | Si | 1 | 2,4 |
| 121 | No | | No | | | | | No | | |
| 122 | Si | Cx + Qt | Si | 1 | Si | DPC | 0 | No | | 0,5 |







| | LOC | Tamaño (mm) | Contexto Clínico | LIQ | WF/ Comunicación Wirsung | BQ-LIQ | Marcadores suero | Síntomas | Cirugía | Diagnóstico | Otra información relevante | Diagnóstico de confirmación |
|-----|--------|-------------|--|--------------------------------|--|--|---|------------------------------------|---------|-------------|---|-----------------------------|
| Q1 | Cuerpo | 50 | ♂ 72 años | Serohemático | No/No | CEA = 0.69 ng/mL Amilasa = 41 U/L | Brrb T = 0.65 mg/dL Ca 19.9 = 45.7 U/mL | - | - | CAS | Morfología Patognomónica Sangrado intraquístico post-punción | |
| Q4 | Cuerpo | 55 | ♂ 49 años -Alcohol y Tabaco -Pancreatitis Crónica | Marronáceo con sedimento (WON) | No/No | CEA = 9.23 ng/mL Amilasa = 29272 U/L | Brrb T = 0.12 mg/dL Ca 19.9 = 20 U/mL | Dolor Abdominal | SI | PQ (WON) | Fístula pancreática secundaria a cirugía de Aorta abdominal | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q10 | Cola | 64 | ♀ 72 años DM - Pancreatitis Crónica | Marronáceo con sedimento (WON) | No/No | CEA = 2.45 ng/mL Amilasa = 30926 U/L | Brrb T = 0.32 mg/dL Ca 19.9 = 8.59 U/mL | Dolor Abdominal | - | PQ (WON) | Involución en controles por imagen (TAC) Ig G 4 + | |
| Q12 | Cabeza | 49 | ♀ 52 años DM | Chylous | No/No | CEA = 0.78 ng/mL Amilasa = 24 U/L | Brrb T = 0.52 mg/dL | - | - | LINF | Quiste linfopitelial: abundantes elementos linfoides maduros y folículos en LIQ | ✓ Citología |
| Q13 | Cabeza | 100 | ♂ 63 años DM -Alcohol y Tabaco - Pancreatitis Crónica | Brownish | Wirsung 10mm*/Si | CEA = 68,4 ng/mL Amilasa = 5635 U/L | Brrb T = 0.5 mg/dL Ca 19.9 = 29.6 U/mL | Dolor Abdominal | SI | PQ | Síndrome de desconexión del ducto | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q15 | Cabeza | 100 | ♂ 59 años - Pancreatitis Crónica | Marronáceo con sedimento (WON) | No/No | CEA = 1.99 ng/mL Amilasa = 53159 U/L | Brrb T = 0.45 mg/dL | Dolor Abdominal | SI | PQ (WON) | Cirugía urgente por Hemoperitoneo | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q16 | Cuerpo | 40 | ♂ 54 años - Alcohol - Pancreatitis Aguda Grave | Brownish | No/No | CEA = 59 ng/mL Amilasa > 11000 U/L | Brrb T = 0.3 mg/dL | Dolor Abdominal | - | PQ | Involución en controles por imagen (TAC) | |
| Q18 | Cuerpo | 150 | ♀ 71 años | Marronáceo con sedimento (WON) | No/No | - | Brrb T = 0.3 mg/dL | Dolor Abdominal | SI | PQ (WON) | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q20 | Cabeza | 30 | ♂ 58 años DM - Alcohol y Tabaco - Pancreatitis Crónica | Transparente String sign | Nódulo sólido 8mm. Wirsung dilatado irregular*/No | CEA = 28.8 ng/mL Amilasa > 50000 U/L | Brrb T = 0.5 mg/dL Ca 19.9 = 10.1 U/mL | Dolor Abdominal | - | PQ | Involución en controles por imagen (TAC + USE) Citología: material proteináceo y células inflamatorias aisladas. | |
| Q22 | Cabeza | 45 | ♀ 70 años Debut DM | Serohemático No filante | Paredes engrosadas /No | CEA = 377 ng/mL Amilasa = 835 U/L | Brrb T = 0.24 mg/dL Ca 19.9 = 29.7 U/mL | - | SI | CAS | Sangrado intraquístico post-punción | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q26 | Cuerpo | 47 | ♂ 59 años | Quiloso | No/No | CEA = 0.3 ng/mL Glc = 68 mg/dL Amilasa = 29 U/L | Brrb T = 0.5 mg/dL Ca 19.9 = 8.83 U/mL | - | - | LINF | Linfangioma: triglicéridos elevados en LIQ ICF retroperitoneal. Sin cambios en TAC de control | ✓ Citología |
| Q27 | Cabeza | 45 | ♀ 73 años | Seroso | No/No | CEA = 47 ng/mL Glc = 107 mg/dL Amilasa = 43 U/L | Brrb T = 0.5 mg/dL Ca 19.9 = 0.6 U/mL | - | - | CAS | Morfología Patognomónica Sin cambios en controles por imagen (TAC) | |
| Q28 | Cabeza | 40 | ♀ 60 años Debut DM - Tabaco | Transparente String sign | No/Si | CEA = 93 ng/mL Glc = 117 mg/dL Amilasa > 86000 U/L | Brrb T = 0.29 mg/dL Ca 19.9 = 111 U/mL | Dolor Abdominal | SI | CAS | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q32 | Cuerpo | 29 | ♀ 86 años DM | Seroso | No/Si (RM) | CEA = 25 ng/mL Glc = 0 mg/dL Amilasa = 2 U/L | Brrb T = 0.8 mg/dL | Dolor Abdominal | - | CAS | Sin cambios en controles por imagen (ECO) | |
| Q33 | Cuerpo | 29 | ♂ 52 años - Alcohol y Tabaco - Pancreatitis Crónica | Serohemático String sign | No/No | CEA = 91.7 ng/mL Amilasa = 114800 U/L | Brrb T = 0.47 mg/dL | Dolor Abdominal | - | PQ | Sin cambios en controles por imagen (TC) | |
| Q37 | Cabeza | 37 | ♀ 61 años - Pancreatitis Crónica | Marronáceo | Wirsung dilatado irregular */No | CEA = 3186 ng/mL Amilasa = 12160 U/L | Brrb T = 0.39 mg/dL Ca 19.9 = 81.9 U/mL | Dolor Abdominal | - | PQ | Involución en controles por imagen (RM) Citología: detritus e inflamación aguda. | |
| Q40 | Cabeza | 30 | ♂ 69 años - Alcohol y Tabaco - Pancreatitis Crónica | Marronáceo | Wirsung dilatado irregular, Paredes engrosadas */No | CEA = 92 ng/mL Glc = 42 mg/dL Amilasa = 54336 U/L | Brrb T = 0.2 mg/dL Ca 19.9 = 18.2 U/mL | Dolor Abdominal Pérdida de peso | - | PQ | Involución en controles por imagen (ECO) | |
| Q41 | Cabeza | 70 | ♂ 75 años DM - Tabaco | Marronáceo | No/No | CEA = 225 ng/mL Glc = 60 mg/dL Amilasa = 27640 U/L | Brrb T = 0.7 mg/dL Ca 19.9 = 76.3 U/mL | - | - | PQ | Involución en controles por imagen (RM) | |

| | LOC | Tamaño (mm) | Contexto clínico | LIQ | WF/Comunicación Wirsung | BQ-LIQ | Marcadores suero | Síntomas | Cirugía | Diagnóstico | Otra información relevante | Diagnóstico de confirmación |
|------------|-----------------|-------------|--|------------------------------------|---|--|--|-------------------------------------|---------|-------------|--|-----------------------------|
| Q2 | Cuerpo | 26 | ♂ 74 años -Alcohol and Tabaco | Transparente String sign | No/No | CEA = 489 ng/mL Amilasa = 17337 U/L | Brrb T = 0.95 mg/dL Ca 19.9 = 2 U/mL | - | - | TPMI (RS) | Múltiples pequeños quistes en USE de control, "en racimo de uvas" muy sugestivo de TPMI | |
| Q3 | Cuerpo | 20 | ♀ 79 años | Transparente String sign | Wirsung 5 mm/No | CEA = 1488 ng/mL Amilasa = 162 U/L | Brrb T = 0.45 mg/dL Ca 19.9 = 12.47 U/mL | - | - | TPMI (Mx) | Múltiples pequeños quistes. Sin cambios en control por USE | |
| Q5 | Cuerpo | 32 | ♀ 42 años | Transparente String sign | No/No | CEA = 1617 ng/mL Amilasa = 3401 U/L | Brrb T = 0.68 mg/dL Ca 19.9 = 24.4 U/mL | Dolor Abdominal | SI | MCN | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q7 | Cabeza | 25 | ♂ 76 años DM | Transparente String sign | No/Sí | CEA = 156 ng/mL Amilasa = 56593 U/L | Brrb T = 0.5 mg/dL | - | - | TPMI (RS) | Múltiples pequeños quistes. IRC hemodialysis | |
| Q8 | Cabeza | 25 | ♂ 72 años -Pancreatitis Aguda | Transparente String sign | Nódulo sólido 7mm/ Sí | CEA = 556 ng/mL Amilasa = 28600 U/L | Brrb T = 0.4 mg/dL Ca 19.9 = 805 U/mL | Dolor Abdominal | SI | TPMI (RS) | Citología: células columnares productoras de mucina sin atipia. | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q9 | Cabeza | 30 | ♂ 53 años - Pancreatitis Crónica | Transparente String sign | Nódulo sólido 9 mm, Wirsung 5mm/No | CEA = 392 ng/mL Amilasa = 10 U/L | Brrb T = 9 mg/dL Ca 19.9 = 128 U/mL | Ictericia | SI | TPMIIm (CP) | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q11 | Cabeza | 35 | ♀ 83 años DM - Pancreatitis Crónica | Serohemático | Wirsung 10 mm/ No | CEA > 50000 ng/mL Amilasa = 4 U/L | Brrb T = 0.32 mg/dL Ca 19.9 = 754 U/mL | Diarrea Pérdida de peso | - | TPMI (CP) | CEA Normal Citología negativa para malignidad | |
| Q14 | Cabeza | 35 | ♂ 65 años - Alcohol and Tabaco | Transparente | No/No | CEA = 225 ng/mL Amilasa > 46000 U/L | Brrb T = 0.39 mg/dL Ca 19.9 = 21.4 U/mL | Dolor Abdominal | SI | TPMI (RS) | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q17 | Cabeza | 50 | ♀ 38 años -Tabaco - Pancreatitis Crónica | Transparente String sign | Wirsung 8 mm (obstructivo)/ No | CEA = 1192 ng/mL Amilasa > 13000 U/L | Brrb T = 13.15 mg/dL Ca 19.9 = 2 U/mL | Ictericia Pérdida de peso | SI | ACDPq | Carcinomatosis Peritoneal | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q19 | Cuerpo- Cola | 80 | ♀ 42 años -Tabaco | Serohemático | Componente sólido con áreas quísticas/No | CEA = 29.2 ng/mL Amilasa = 51 U/L | Brrb T = 0.43 mg/dL Ca 19.9 = 155 U/mL | Pérdida de peso | | ACDPq | | ✓ USE-PAAF |
| Q25 | Cuerpo | 50 | ♀ 69 años Debut DM | Serohemático | Componente sólido 30mm, Wirsung 7.2 mm/ Sí | CEA = 3011 ng/mL Glc = 33 mg/dL Amilasa = 511 U/L | Brrb T = 11.27 mg/dL Ca 19.9 < 2* U/mL | Ictericia Pérdida de peso | SI | TPMIIm (RS) | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q29 | Cabeza | 20 | ♂ 48 años Debut DM -Tabaco | Transparente String sign | Componente sólido, Wirsung 6 mm/No | CEA = 621 ng/mL Glc = 66 mg/dL Amilasa = 47827 U/L | Brrb T = 9 mg/dL Ca 19.9 = 113 U/mL | Ictericia Pérdida de peso | SI | TPMIIm (Mx) | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q31 | Cuerpo | 34 | ♀ 65 años | Serohemático String sign | Calcificación periférica/Yes | CEA = 3 ng/mL Glc = 91 mg/dL Amilasa = 323 U/L | Brrb T = 0.33 mg/dL Ca 19.9 = 18.4 U/mL | - | - | TPMI (RS) | Sin cambios en controles por imagen (RM) | |
| Q34 | Cuerpo | 80 | ♀ 74 años | Transparente String sign | Componente sólido/No | CEA = 14742 ng/mL Glc = 2 mg/dL Amilasa = 110 U/L | Brrb T = 0.5 mg/dL Ca 19.9 = 8440 U/mL | Dolor Abdominal Pérdida de peso | SI | ACDPq | Carcinomatosis Peritoneal | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q35 | Cola | 30 | ♀ 36 años | Transparente | No/No | CEA = 29,4 ng/mL Amilasa = 183000 U/L | Brrb T = 0.44 mg/dL Ca 19.9 = 21.5 U/mL | Dolor Abdominal | SI | MCN | | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q36 | Cuerpo- cola | 58 | ♀ 55 años | Marrónáceo con sedimento | No/No | CEA = 268921 ng/mL Amilasa = 34 U/L | Brrb T = 0.55 mg/dL Ca 19.9 = 6.6 U/mL | - | SI | SMC-DAG | Epitelio mucinoso plano sin arquitectura papilar, No estroma ovárico. NO comunicación con Wirsung. | ✓ Pieza Quirúrgica |
| Q38 | Cabeza | 27 | ♂ 59 años Debut DM - Alcohol - Pancreatitis Crónica | Serohemático | Wirsung 5mm, paredes engrosadas/No | CEA = 673 ng/mL Amilasa = 2928 U/L | Brrb T = 0.35 mg/dL Ca 19.9 = 51.5 U/mL | Pérdida de peso | SI | ACDPq | | ✓ Pieza Quirúrgica |

8. ARTÍCULOS PUBLICADOS

Article

Thermal Liquid Biopsy: A Promising Tool for the Differential Diagnosis of Pancreatic Cystic Lesions and Malignancy Detection

Judith Millastre ^{1,2,†}, Sonia Hermoso-Durán ^{2,3,†}, María Ortiz de Solórzano ^{1,2}, Nicolas Fraunhofer ^{4,5,6}, Guillermo García-Rayado ^{1,2}, Sonia Vega ⁷, Luis Bujanda ^{3,8}, Carlos Sostres ^{1,2}, Ángel Lanás ^{1,2}, Adrián Velázquez-Campoy ^{2,3,7,9,*} and Olga Abian ^{2,3,7,9,*}

- ¹ Service of Digestive Diseases, University Clinic Hospital Lozano Blesa, 50009 Zaragoza, Spain; millastrej@gmail.com (J.M.); ortizdsm6@gmail.com (M.O.d.S.); guillermogarcia7@hotmail.com (G.G.-R.); carlossostres@gmail.com (C.S.); alanas@unizar.es (Á.L.)
- ² Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, Spain; shermosod@gmail.com
- ³ Centro de Investigación Biomédica en Red en el Área Temática de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), 28029 Madrid, Spain; luis.bujandafernandezdeperola@osakidetza.eus
- ⁴ Programa Franco-Argentino de Estudio del Cáncer de Páncreas, Buenos Aires, Argentina; nicolasfraunhoffernavarro@gmail.com
- ⁵ Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM, CNRS UMR, Aix-Marseille Université, 13009 Marseille, France
- ⁶ Institut Paoli-Calmettes, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Equipe Labellisée La Ligue, 13288 Marseille, France
- ⁷ Institute for Biocomputation and Physics of Complex Systems, University of Zaragoza, 50018 Zaragoza, Spain; svega@bifi.es
- ⁸ Donostia University Hospital, University of the Basque Country (UPV/EHU), 20014 San Sebastian, Spain
- ⁹ Department of Biochemistry and Molecular and Cell Biology, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain
- * Correspondence: adrianvc@unizar.es (A.V.-C.); oabifra@unizar.es (O.A.); Tel.: +34-976-762996 (A.V.-C.); +34-876-555417 (O.A.)
- † These authors contributed equally to this work.



Citation: Millastre, J.; Hermoso-Durán, S.; Solórzano, M.O.d.; Fraunhofer, N.; García-Rayado, G.; Vega, S.; Bujanda, L.; Sostres, C.; Lanás, Á.; Velázquez-Campoy, A.; et al. Thermal Liquid Biopsy: A Promising Tool for the Differential Diagnosis of Pancreatic Cystic Lesions and Malignancy Detection. *Cancers* **2024**, *16*, 4024. <https://doi.org/10.3390/cancers16234024>

Academic Editor: David Wong

Received: 30 October 2024

Revised: 25 November 2024

Accepted: 28 November 2024

Published: 30 November 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Mucinous epithelial pancreatic cystic lesions (PCLs) are premalignant lesions detectable through imaging techniques; however, distinguishing them from other PCLs with lower malignancy potential is challenging. Current methods like biochemical markers and genomic studies are not always reliable. Thermal liquid biopsy (TLB) is an innovative tool that analyzes the thermal profile of biological samples to detect disease-related alterations. In a retrospective study of 35 intracystic fluid samples obtained via fine needle aspiration, predictive models were developed using machine learning algorithms. Two classification models were created: TLB1, which differentiates mucinous from non-mucinous PCLs, demonstrating 92% sensitivity and 86% negative predictive value, and TLB2, which identifies benign and malignant mucinous lesions, achieving an area under the curve of 1.00. TLB shows promise in improving the differential diagnosis of PCLs and in detecting malignant transformations.

Abstract: Background/Objectives: Mucinous epithelial pancreatic cystic lesions (PCLs) are premalignant lesions readily detectable through imaging techniques such as multidetector computed tomography, magnetic resonance imaging, and endoscopic ultrasound (EUS). However, distinguishing these from other PCLs with lower or no malignant potential, and the early identification of those undergoing malignant transformation, remains a diagnostic challenge. Current methods, including biochemical markers in intracystic fluid (ICF) and genomic studies, offer some assistance but are not always reliable or accessible. Thermal liquid biopsy (TLB) is a novel diagnostic tool that examines the thermal profile (thermogram) of biological samples, reflecting their response to heat and thereby revealing characteristics of their overall composition or disease-induced alterations. **Methods:** In this retrospective study, a total of 35 ICF samples (49% mucinous) obtained via EUS-FNA (fine needle aspiration) were analyzed using TLB. Thermogram data were utilized to develop predictive models for differential diagnosis between mucinous and non-mucinous PCLs or malignancy detection through machine learning algorithms. **Results:** Two classification models were developed: TLB1

“mucinous” vs. “non-mucinous” PCLs) and TLB2 (“benign mucinous” vs. “malignant mucinous” PCLs). The TLB1 model demonstrated a sensitivity of 92% and a negative predictive value of 86%, with an area under the curve (AUC) of 0.79 (0.59–0.99), indicating good discriminative ability between the two groups. The TLB2 model exhibited excellent predictive capability, with an AUC of 1.00. **Conclusions:** TLB analysis of PCLs is a promising tool that could significantly enhance the differential diagnosis of PCLs, enabling the efficient identification of mucinous lesions and even those undergoing malignant transformation.

Keywords: differential diagnosis; early diagnosis; intracystic fluid; machine learning; mucinous cysts; non-mucinous cysts; pancreatic cancer; pancreatic cystic lesions; pancreatic ductal adenocarcinoma; thermal liquid biopsy

1. Introduction

Pancreatic cystic lesions (PCLs) are a heterogeneous group of lesions with increasing incidence, usually identified incidentally on imaging studies (multidetector computed tomography (MDCT), magnetic resonance imaging (MRI), or endoscopic ultrasound (EUS)). Their clinical relevance lies in the potential of mucinous subtypes like mucinous cystic neoplasms (MCNs) or intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) to develop into pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), which is currently a major health problem due to its increasing incidence and poor prognosis, with surgery being the only potentially curative treatment [1].

Accurate characterization of mucinous PCLs (M-PCLs) and early detection of malignancy are crucial for effective management of this at-risk population. The current diagnostic approach is based on a combined analysis of the clinical context, imaging tests, and biochemical markers or genomics. The accuracy or availability of these methods is limited, and pancreatic surgery is burdened by high morbimortality, especially in the cephalic duodenopancreatectomy (CDP) [2]. Novel diagnostic modalities are highly desirable, especially those that are ideally minimally invasive, cost-effective, and accessible, to avoid unnecessary risks and reduce costs from unnecessary follow-ups.

Thermal liquid biopsy (TLB) is the application of differential scanning calorimetry (DSC) to biological liquid samples. DSC is a calorimetric technique that measures the excess heat capacity (C_p) associated with biomolecular transitions as a function of temperature. It provides thermal denaturation profiles (thermograms) that reflect the behavior and interaction of metabolites when heat is applied, providing global insight into the composition of the sample [3]. This method is expanding in the biomedical field, analyzing several types of samples [4–7], demonstrating its diagnostic potential.

Our group has been studying TLB as a complementary tool in different pathologies [8,9], proposing methodologies to analyze thermograms [10,11]. With the advent of artificial intelligence, the group has recently proposed a methodology to obtain classification models based on thermograms from serum samples [12].

Intracystic fluid (ICF) is a biological fluid composed of proteins and other metabolites. Its composition varies in every subtype of PCLs, reflecting their different pathophysiology. Our group has previously shown the feasibility of obtaining thermograms from ICF samples (ICF thermograms) [13]. Using more sophisticated tools to build machine learning models, we hypothesize that ICF-TLB can improve the differential diagnosis between M-PCLs and non-mucinous PCLs (NM-PCLs) and potentially detect early malignancy-induced changes. This approach could improve clinical decisions, optimizing patient outcomes.

2. Materials and Methods

Between January 2016 and May 2023, prospective ICF samples of PCLs with indication for EUS–fine needle aspiration (FNA) (>2 cm and/or presence of Worrisome Features (WF)/High-Risk Stigmata (HRS)) were collected from patients recruited at the University

Clinic Hospital (Zaragoza), with a long interruption caused by COVID-19 (January 2020 to April 2021). The EUS-FNA procedure was performed with an Olympus® 140 curvilinear echo-endoscope (Olympus, Barcelona, Spain). Boston Scientific™ Expect® 19 or 22-gauge needles were used depending on the cystic endosonographic features. For ethical reasons, DSC analysis was only carried out in the case of ICF remaining after analysis of biochemical markers, for which at least 1 mL Eppendorf was necessary for each patient.

All patients recruited were over 18 years old and had an indication for EUS-FNA regardless of their participation in the study, which was free and voluntary after receiving the relevant verbal and written information and signing the informed consent form. The procedure was approved by the Ethics Committee (Aragon Research Ethics Committee (CEICA) on 5 October 2016, Act No. 17/2016 and 5 February 2020, Act No. 03/2020.

Exclusion criteria: age under 18, diagnosis other than PCLs, insufficient ICF sample (<1 mL), inability to obtain a thermogram or to establish a diagnosis due to lack of clinical information.

Data collected: age, sex, smoking/alcohol habits, location (head or body-tail), size, MRI/EUS characteristics (WF/HRS, pathognomonic image (serous cystadenoma (SCA)), Wirsung communication, history of pancreatitis, related symptoms (diabetes, abdominal pain, jaundice, weight loss), string sign, ICF biomarkers (CEA (carcinoembryonic antigen) > 192 ng/mL and glucose < 50 mg/dL: higher probability of M-PCLs; amylase > 250 U/L: Wirsung communication), serum biomarkers (carbohydrate antigen 19.9 (Ca19.9) > 37 U/mL: malignancy if no cholestasis; bilirubin > 1.2 mg/dL: HRS), surgical resection, postoperative complications (Clavien–Dindo classification) [14], histopathological analysis, clinical evolution.

Diagnosis was established as *confirmed* (histopathologically or pathognomonic morphology in the case of SCA lesions) or *high probability* (consensus of three expert pancreatologists (radiologist, clinician, and endoscopist) based on a combined analysis of the clinical context, imaging tests, and biochemical markers).

The classification of PCLs is shown in Table 1.

Table 1. Classification of pancreatic cystic lesions.

| Non-Mucinous PCLs (NM-PCLs). | Mucinous PCLs (M-PCLs) |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Pseudocyst (PC) • Serous cystadenoma (SCA) • Lymphoepithelial cyst/lymphangioma (LINF) | <ul style="list-style-type: none"> • MD-IPMN (main duct IPMN) • BD-IPMN (branch duct IPMN) • Mucinous cystic neoplasm (MCN) • Simple mucinous cyst (SMC) |
| | <p>Further subdivided into:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Benign (bM-PCL) • Malignant (mM-PCL): <ul style="list-style-type: none"> ○ Malignant IPMN (mIPMN) ○ PDAC with cystic component (cPDAC). ○ SMC with high-grade dysplasia (SMC-HGD). |

Malignant pancreatic cystic lesions were pathologically confirmed.

2.1. Sample Processing

After EUS-FNA, ICF samples were frozen (−80 °C) and anonymized with internal codes following the recommendations of the local ethics committee. For the DSC assay, samples were thawed at room temperature, centrifuged, and diluted 1:10 in phosphate-buffered saline, using 400 µL to obtain the thermograms.

A high-sensitivity automated VP-DSC (MicroCal, Malvern Panalytical, Malvern, UK) was used. The scanning rate was 1 °C/min, with a scanning range between 10 and 95 °C.

2.2. Data Analysis

2.2.1. Preparation of Thermograms

A software developed by the group, implemented in Origin 7.0 (OriginLab, Northampton, MA, USA), was used. It involved baseline subtraction and correction, interpolation to obtain uniformly distributed data across the temperature range ($\Delta T = 0.25\text{ }^{\circ}\text{C}$), and restricting the analysis to the interval between 40 and 95 $^{\circ}\text{C}$. Each thermogram was normalized by its area. The temperatures and their excess CP values were the predictive variables for the classification model. To reduce the number of predictive variables and avoid overfitting, information was selected from each degree of temperature, truncating between 55 and 85 $^{\circ}\text{C}$, as these values exhibited the most significant changes.

2.2.2. Obtaining Classification Models (iTLB Models)

From the ICF thermograms, two iTLB models were obtained:

- iTLB1 Model: NM-PCLs vs. M-PCLs, training with confirmed LQP diagnoses and validating with high probability diagnoses.
- iTLB2 Model: benign (bM-PCLs) vs. malignant (mM-PCLs), training with all M-PCLs due to the small sample size.

The proposed thermogram analysis methodology was developed previously [12] and is based on obtaining a classification model from the shape information of the thermograms using pairs of temperatures through the K-Top-Scoring-Pair function (*R switchBox* library). The classification model was fitted using Lasso logistic regression by applying the *ncvreg* package in R (version 4.3.2) and cross-validated for model fit.

The classification model provided a single number per patient ($-\infty, +\infty$). If the model provided a number < 0 , the lesion was classified as an NM-PCL (for iTLB1) or bM-PCL (for iTLB2), whereas if the number was > 0 , the lesion was classified as an M-PCL (for iTLB1) or mM-PCL (for iTLB2).

The performance of both models was evaluated by calculating common performance indexes: sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (PPV and NPV), receiver operating characteristic (ROC) curve, and its area under the curve (AUC) with its 95% confidence interval (CI).

2.2.3. Statistical Analysis

The Kolmogorov–Smirnov–Lilliefors test or the Shapiro–Wilk test (depending on the sample size) was used to assess the normality of the variables. Medians between two independent groups were compared using the Wilcoxon test for variables with non-normal behavior.

For all tests, a two-sided *p*-value < 0.05 was considered statistically significant. Statistical analyses were performed using the R language and environment for statistical computing, version 4.3.2 (31 October 2023).

3. Results

A total of 41 patients with PCLs were recruited; six met the exclusion criteria (insufficient information in the clinical history ($n = 1$); diagnosis other than PCL ($n = 2$: adrenal gland pheochromocytoma and pancreatic metastasis of primary renal tumor); incorrect nomenclature that prevented adequate identification of the sample with the patient ($n = 2$); and technical impossibility of obtaining the thermogram ($n = 1$)); thus, the final sample size was 35, of which 22 (63%) had pathological confirmation: 17 (49%) were M-PCLs, with 8/17 (47%) being mM-PCLs.

3.1. Demographics

Table 2 provides a summary of the cohort demographics. Tables S1 and S2 show more detailed characteristics.

Table 2. Descriptive characteristics of the cohort of patients with pancreatic cystic lesions (PCLs), including non-mucinous PCLs (NM-PCLs) and mucinous PCLs (M-PCLs).

| Cyst # | n | % Total (% Group) | Age * | Sex: n (%) ♀ | Size ** (mm) | Loc: n (%) B-T *** |
|----------|----|-------------------|------------|--------------|--------------|--------------------|
| NM-PCLs: | 18 | 51% (100%) | 64 (49–86) | 8 (44%) | 46 [38; 62] | 8 (44%) |
| PC | 11 | 31% (61%) | 62 (49–75) | 3 (27%) | 55 [33; 85] | 5 (45%) |
| SCA | 5 | 14% (28%) | 72 (60–86) | 4 (80%) | 45 [40; 45] | 2 (40%) |
| LINF | 2 | 6% (11%) | 55 (52–59) | 1 (50%) | 48 [47; 48] | 1 (50%) |
| M-PCLs: | 17 | 49% (100%) | 61 (36–83) | 10 (59%) | 32 [26; 50] | 9 (52%) |
| IPMN | 10 | 29% (59%) | 68 (48–83) | 4 (40%) | 28 [25; 35] | 4 (40%) |
| MCN | 2 | 6% (12%) | 39 (36–42) | 2 (100%) | 31 [30; 31] | 2 (100%) |
| SMC-HGD | 1 | 3% (6%) | 55 (55–55) | 1 (100%) | 58 [58; 58] | 1 (100%) |
| PDAC | 4 | 11% (23%) | 53 (38–74) | 3 (75%) | 65 [44; 80] | 2 (50%) |
| Total | 35 | 100% | 62 (36–86) | 18 (51%) | 40 [30; 52] | 17 (49%) |

Data are categorized by cyst type, number of cases (n), percentage of total cases, age *, sex distribution, size of the lesions **, and their location ***. * Mean age of patients with the minimum and maximum in parentheses. ** Median size of the lesions in millimeters with the interquartile range in brackets. *** Number and percentage of lesions located in the body-tail (B-T) of the pancreas. Cyst #: Type of pancreatic cystic lesion, PC: Pseudocyst, SCA: Serous Cystadenoma, LINF: Lymphoepithelial cyst/Lymphangioma, IPMN: Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm, MCN: Mucinous Cystic Neoplasm, SMC-HGD: Simple Mucinous Cyst with High-Grade Dysplasia, PDAC: Pancreatic Ductal Adenocarcinoma.

3.2. Symptoms

Most PCLs (69%) presented symptoms:

- NM-PCLs: 67% (12/18) abdominal pain (2/5 SCAs and 10/11 PCs, nine with underlying chronic pancreatitis).
- M-PCLs: 71% (12/17) symptomatic.
 - bM-PCLs: 44% (4/9) abdominal pain, one of them (IPMN) with acute pancreatitis.
 - mM-PCLs: jaundice (100% of malignant IPMNs (mIPMNs) and 25% of PDACs) and weight loss (100% of PDACs and 67% of mIPMNs) were predominant.

Five patients with PCLs presented new-onset diabetes: two SCAs (both ≥ 40 mm) and three mM-PCLs (two mIPMNs and one PDAC).

3.3. Morphological Characteristics, String Sign, and Biochemical Markers

Table 3 summarizes the diagnostic performance of imaging tests, string sign, and biochemical markers.

Regarding HRS,

- Mural nodules > 5 mm (n = 3): two IPMNs (one mIPMN), one PC (disappeared in follow-up).
- Solid component (n = 4): All malignant, two PDACs, two mIPMNs.
- Dilated Wirsung > 10 mm: one main duct IPMN (MD-IPMN), not fit for surgery and negative cytology, favorable evolution to date.

Regarding WF,

- Cyst wall thickening (n = 4): two PCs, one SCA, one PDAC.
- Size > 30 mm: 6/8 M-PCLs.
- Dilated Wirsung 5–9 mm: one PDAC, five IPMNs (three mIPMNs).
- Lymphadenopathies: two PDACs.

Regarding biochemical markers, it should be noted that in the cohort, ICF glucose was available for only 10 patients.

Table 3. Diagnostic performance of imaging tests, HRS/WF, string sign, biochemical markers, and classification models in differentiating non-mucinous vs. mucinous and benign vs. malignant pancreatic cystic lesions (PCLs).

| | Non-Mucinous vs. Mucinous | | | | | Benign vs. Malignant | | | | |
|-------------------|---------------------------|------|------|-----|-----|----------------------|------|------|------|------|
| | Acc | Sens | Spec | PPV | NPV | Acc | Sens | Spec | PPV | NPV |
| MDCT | 75% | 73% | 80% | 89% | 57% | 88% | 88% | 88% | 88% | 88% |
| MRI | 56% | 44% | 71% | 67% | 50% | 75% | 33% | 100% | 100% | 71% |
| EUS | 77% | 67% | 90% | 89% | 69% | 91% | 75% | 100% | 100% | 88% |
| Dilated Wirsung | | | | | | 65% | 50% | 78% | 67% | 64% |
| Nodules | | | | | | 53% | 12% | 89% | 50% | 53% |
| Solid component | | | | | | 76% | 50% | 100% | 100% | 69% |
| Lymph | | | | | | 65% | 25% | 100% | 100% | 60% |
| String sign (ICF) | 71% | 59% | 83% | 77% | 68% | | | | | |
| ICF-CEA | 79% | 76% | 82% | 81% | 78% | | | | | |
| ICF Glucose | 60% | 50% | 67% | 50% | 67% | | | | | |
| Serum Ca19.9 | | | | | | 68% | 62% | 70% | 45% | 82% |
| iTLB1 Model | 77% | 92% | 60% | 73% | 86% | | | | | |
| iTLB2 Model | | | | | | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% |

The metrics include accuracy (Acc), sensitivity (Sens), specificity (Spec), positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV). Each column under “Non-Mucinous vs. Mucinous” and “Benign vs. Malignant” provides the respective performance metrics (Acc, Sens, Spec, PPV, NPV) for the listed diagnostic tools and models. Imaging Studies: Multidetector Computed Tomography (MDCT), Magnetic Resonance Imaging (MRI), Endoscopic Ultrasound (EUS), presence of a dilated main pancreatic duct (Dilated Wirsung), presence of mural nodules (Nodules), presence of a solid component within the cyst (Solid Component), and presence of suspicious lymphadenopathies (Lymph). Intracystic fluid Characteristics: presence of a string sign in ICF indicating mucinous content (String Sign [ICF]). Biochemical Markers: Carcinoembryonic Antigen (ICF-CEA) in ICF, glucose level in ICF (ICF Glucose), and Carbohydrate Antigen 19.9 in serum (serum Ca19.9). Classification Models: iTLB1 Model, which differentiates non-mucinous vs. mucinous PCLs, and iTLB2 Model, which differentiates benign vs. malignant mucinous PCLs. **Notes:** Thresholds for CEA, glucose, and Ca19.9 are 192 ng/mL, 50 mg/dL, and 37 U/mL, respectively; iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy.

3.4. Cytology

Performed in 43% of the samples: 20% hypocellular and 33% misdiagnosed (three malignancies and two mucinous changes misidentified).

3.5. Surgical Resection

Performed in 49% (17/35) of cases:

- Six distal pancreatectomies: one due to complication (pancreatic fistula), the remaining five due to suspected mM-PCLs with HRS/WF: pain (3/5), size > 30 mm (4/5), growth (3/5), acute pancreatitis (1/5), 8 mm mural nodule (1/5), elevated serum Ca19.9 (1/5). All of them were confirmed as M-PCLs, but only one showed high-grade dysplasia (HGD), with its only WF being growth. All of them presented minor complications.
- Five CDPs: All performed due to suspected mM-PCLs with HRS/WF: new-onset diabetes (5/5), jaundice (2/5), elevated serum Ca19.9 (3/5), size > 30 mm (3/5), dilated Wirsung (3/5), or solid component (2/5). Among these, two were confirmed as SCAs, with no postoperative complications, and three were confirmed as mM-PCLs, with one postoperative death.
- Three exploratory laparotomies, two cystogastrostomies, and one emergency surgery (hemoperitoneum).

3.6. ICF Thermograms

The means and standard deviations of the normalized ICF thermograms for each PCL subtype were represented (Figure 1) to observe inter- and intra-individual variability.

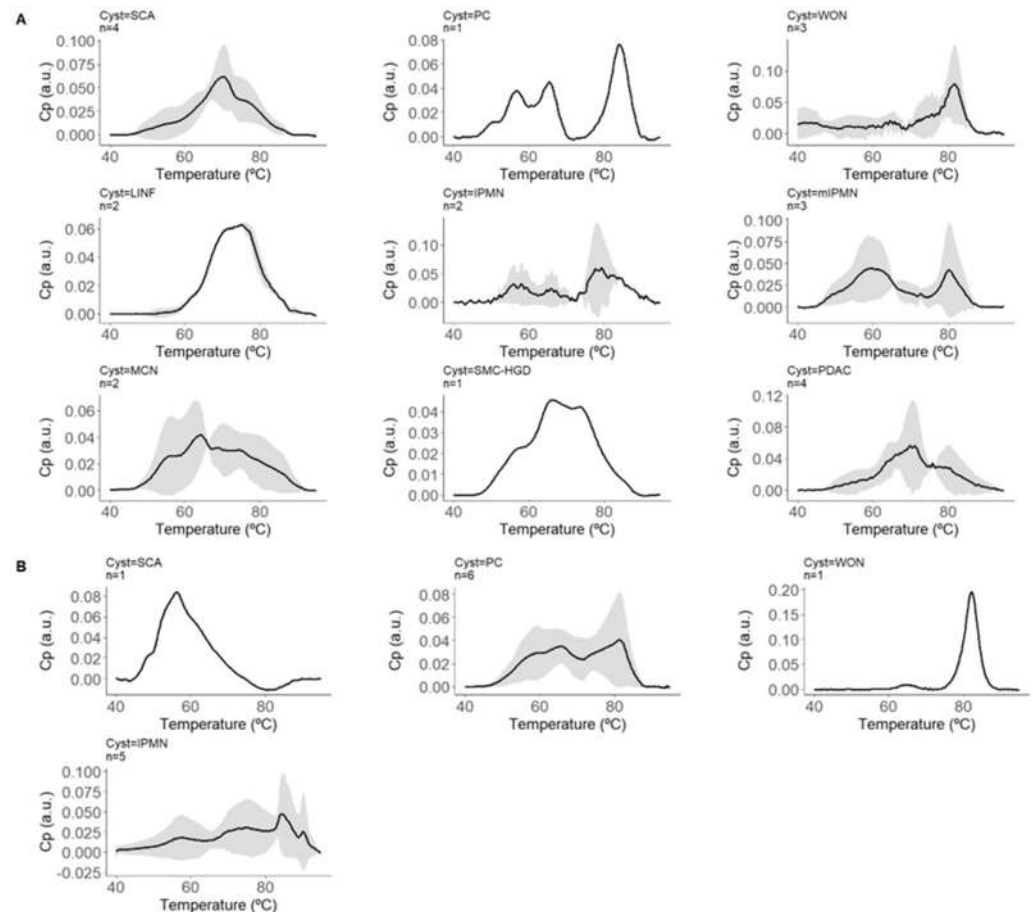


Figure 1. Normalized thermograms of intracystic fluid (ICF) for each pancreatic cystic lesion (PCL) subtype. This figure displays the means and standard deviations of the normalized thermograms of ICF for various PCL subtypes. The thermograms represent the excess heat capacity (C_p) in arbitrary units (a.u.) as a function of temperature ($^{\circ}\text{C}$), showing the variability both between and within individuals with each subtype. The black lines represent the mean C_p values, while the shaded areas indicate the standard deviations, illustrating the range of thermal responses for each subtype of PCL. This graphical representation helps visualize the distinct thermal profiles associated with each type of cystic lesion. Panel (A) represents cysts with confirmed diagnoses and includes thermograms for Serous Cystadenoma (SCA, $n = 4$), Pseudocyst (PC, $n = 1$), Walled-off Necrosis (WON, $n = 3$), Lymphoepithelial cyst/Lymphangioma (LINF, $n = 2$), Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm (IPMN, $n = 2$), Mucinous Cystic Neoplasm (MCN, $n = 2$), Simple Mucinous Cyst with High-Grade Dysplasia (SMC-HGD, $n = 1$), and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC, $n = 4$). Panel (B) represents cysts with highly probable diagnoses and includes thermograms for Serous Cystadenoma (SCA, $n = 1$), Pseudocyst (PC, $n = 6$), Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm (IPMN, $n = 5$), and Walled-off Necrosis (WON, $n = 1$).

3.6.1. iTLB1 Model: NM-PCLs vs. M-PCLs

Developed from the area-normalized ICF thermograms from PCLs with confirmed diagnoses, with 45% (10/22) being NM-PCLs (four SCAs, two lymphoepithelial/lymphangiomas (LINF), and four PCs), and 55% (12/22) being M-PCLs (five IPMNs (three mIPMNs), two MCNs, four pancreatic ductal adenocarcinomas with associated cystic component (cPDAC),

and one simple mucinous cyst with HGD (SMC-HGD)). Figure 2A–C display their means and standard deviations.

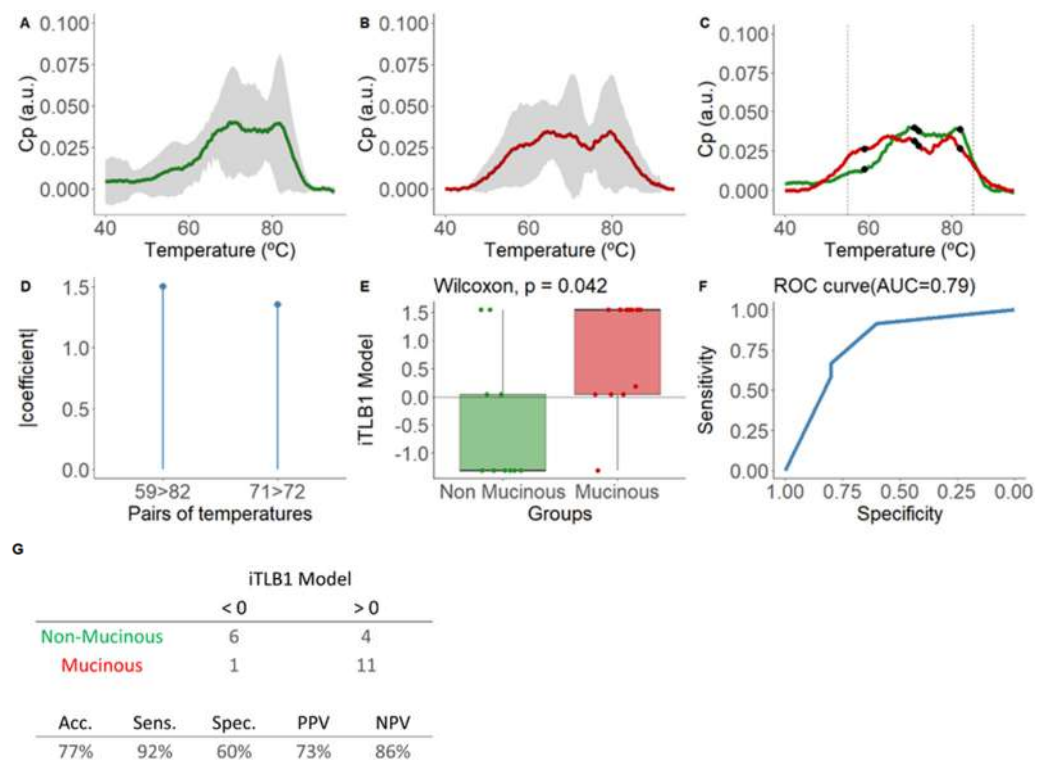


Figure 2. Mean normalized thermograms by area for each group and results of the iTLB1 model for differentiating thermograms of intracystic fluid from non-mucinous and mucinous lesions from PCLs with confirmed diagnosis. In panel (A), the green line represents non-mucinous PCLs, while in panel (B), the red line represents mucinous PCLs. The grey shading indicates the mean \pm standard deviation for each group. Panel (C) displays the mean normalized thermograms by area for each group overlapping, with non-mucinous lesions in green and mucinous lesions in red. Black dots represent the temperatures used in the iTLB1 model, with vertical dashed lines marking the temperature range used to train the model (55–85 °C). After, this figure presents the results of the iTLB model obtained for differentiating the thermograms of intracystic fluid (ICF) from non-mucinous lesions (NM-PCLs) and mucinous lesions (M-PCLs). Panel (D) shows the absolute value of the coefficients of the iTLB1 model for each of the predictive temperature pairs. Panel (E) illustrates the median differences in the iTLB1 model results for each group (non-mucinous in green and mucinous in red), with the horizontal line representing the zero cutoff point. Panel (F) shows the area under the ROC curve (AUC) of the iTLB1 model. Panel (G) presents the contingency table for the prediction results (top) and the performance metrics of the iTLB1 model (bottom). Notes: C_p : excess heat capacity; a.u.: arbitrary units; AUC: area under the curve; iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy; Acc: accuracy; Sens: sensitivity; Spec: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value.

The iTLB1 model consists of two temperature pairs, illustrated in Figure 2D, along with the absolute value coefficients assigned to each pair and depicted in the mean thermograms of each group in Figure 2C. Statistically significant differences were observed in iTLB1 scores between the medians of the NM-PCL group ($-1.31 [-1.31;0.04]$) and the M-PCL group ($1.54 [0.04;1.54]$) (Wilcoxon test: p -value = 0.042), with an AUC of 0.79 (95% CI = 0.59–0.99) (Figure 2E,F). The prediction results showed sensitivity, specificity, PPV, and NPV of 92%, 60%, 73%, and 86%, respectively (Figure 2G). In other words, 6/10 NM-PCLs and 11/12 M-PCLs were correctly classified.

Subsequently, the iTLB1 model was applied to the ICF thermograms of PCLs with high probable diagnosis (remaining 37%). Figure 3A shows the iTLB1 model scores for each type of lesion, considering all PCLs. Among the NM-PCLs, the misclassified cases were PC (5/11) and SCA (3/5). Among the M-PCLs, only 3/10 IPMNs were misclassified, all of them benign; thus, all mM-PCLs were correctly classified as mucinous. However, no statistically significant differences were observed between bM-PCLs (0.189 [−1.313;1.544]) and mM-PCLs (1.544 [1.169;1.544], Wilcoxon test: p -value = 0.180) (Figure 3B).

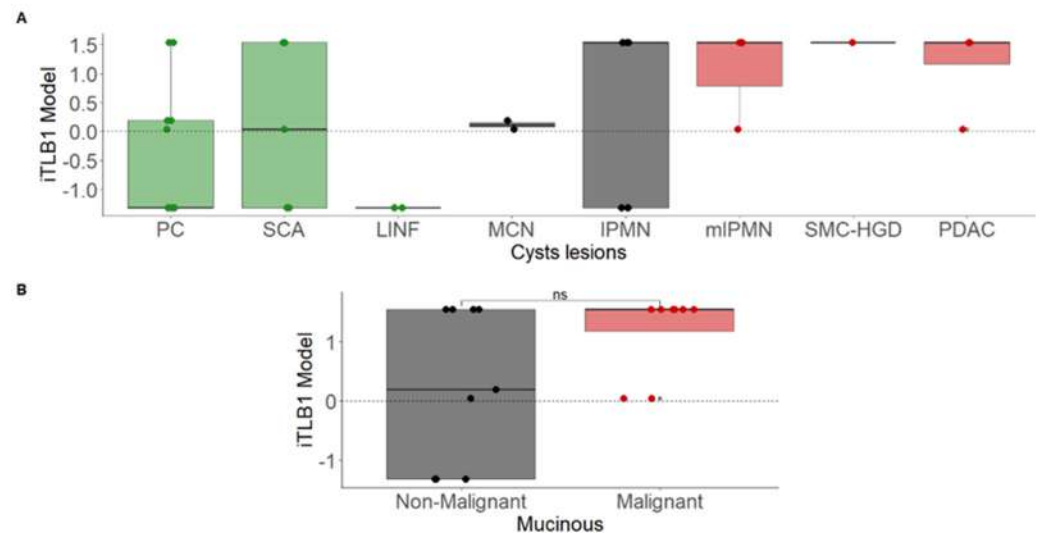


Figure 3. iTLB1 model scores for different cystic lesions in patients with confirmed and highly probable diagnoses. Panel (A) presents the scores by cyst type (non-mucinous in green, non-malignant mucinous in black, and malignant mucinous in red). Panel (B) shows the scores based on malignancy (red for malignant and black for non-malignant mucinous lesions). Notes: iTLB: intelligence Thermal Liquid Biopsy; PC: Pseudocyst; SCA: Serous Cystadenoma; LINF: Lymphoepithelial/Lymphangioma; MCN: Mucinous Cystic Neoplasm; IPMN: Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm; mIPMN: malignant Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm; SMC-HGD: Simple Mucinous Cyst with High-Grade Dysplasia; PDAC: Pancreatic Ductal Adenocarcinoma; ns: not significant.

3.6.2. iTLB2 Model: bM-PCLs vs. mM-PCLs

Developed to detect malignancy, given the ineffectiveness shown by the iTLB1 model. All M-PCLs ($n = 17$, 71% with confirmed diagnosis) were used for the training, with 53% being bM-PCLs (seven IPMNs, two MCNs) and 47% being mM-PCLs (three mIPMNs, one SMC-HGD, four PDACs).

Figure 4A–C show the means and standard deviations of the area-normalized ICF thermograms for each group.

The iTLB2 model consists of three temperature pairs, illustrated in Figure 4D, along with the absolute value coefficients assigned to each pair and depicted in the mean thermograms of each group in Figure 4C. Statistically significant differences were observed in the iTLB2 score between the medians of the bM-PCL group (−2.17 [−3.30;−2.17]) and the mM-PCL group (1.90 [1.90;1.90]) (Wilcoxon test: p -value < 0.001), with an AUC of 1.00 (95% CI = 1.00–1.00) (Figure 4E,F). The prediction results showed a performance index of 100% (Figure 4G).

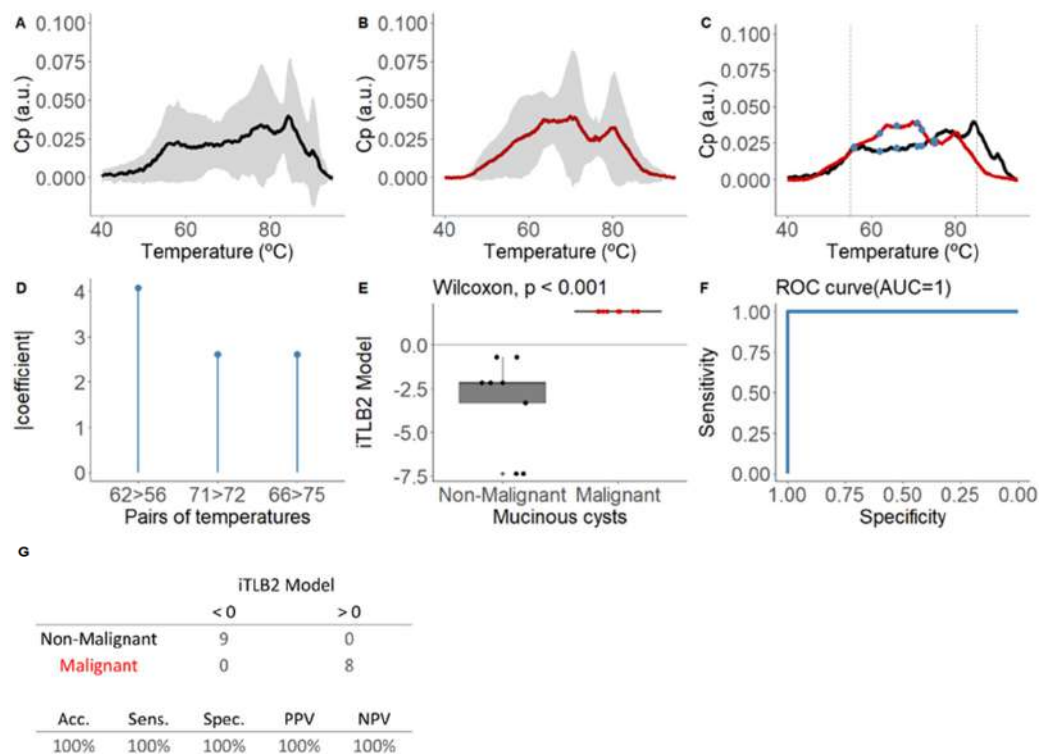


Figure 4. Mean area-normalized thermograms for mucinous group and results of the iTLB2 model for differentiating thermograms of intracystic fluid from benign mucinous and malignant mucinous lesions. In panel (A), the black line represents benign mucinous pancreatic cystic lesions (bM-PCLs), while in panel (B), the red line represents malignant mucinous pancreatic cystic lesions (mM-PCLs). The grey shading indicates the mean ± standard deviation for each group. In panel (C), the mean thermograms of both groups are superimposed, with vertical dashed lines marking the temperature range used to train the classification model (55–85 °C) and blue dots representing the temperatures used in the iTLB2 model. After, this figure presents the results of the iTLB2 model obtained for differentiating the thermograms of intracystic fluid (ICF) from benign mucinous lesions (bM-PCLs) and malignant mucinous lesions (mM-PCLs). Panel (D) shows the absolute value of the coefficients of the iTLB2 model for each of the predictive temperature pairs. Panel (E) illustrates the median differences in the iTLB2 model results for each group (benign mucinous in black and malignant mucinous in red), with the horizontal line representing the zero cutoff point. Panel (F) shows the area under the ROC curve (AUC) of the iTLB2 model. Panel (G) presents the contingency table for the prediction results (top) and the performance metrics of the iTLB2 model (bottom). Notes: CP: excess heat capacity; a.u.: arbitrary units; AUC: area under the curve; iTLB: intelligence thermal liquid biopsy; Acc: accuracy; Sens: sensitivity; Spec: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; bM-PCL: benign mucinous pancreatic cystic lesion; mM-PCL: malignant mucinous pancreatic cystic lesion.

4. Discussion

PDAC is the third leading cause of cancer deaths in the USA [15], with 20% of patients being surgical candidates at diagnosis, and a 5-year overall survival rate of 10% [16]. Its indolent course often leads to delayed diagnosis, exacerbated by the lack of effective biomarkers and screening programs [1]. The accurate identification of certain at-risk populations [17], including patients with M-PCLs [18], is crucial.

PCLs are a heterogeneous group of lesions with increasing incidence [19], ranging from inflammatory fluid accumulation residual to pancreatic diseases to true cysts with epithelial lining, which determines their malignancy risk. Within this group, M-PCLs, with their characteristic mucin-producing columnar epithelia, stand out. However, differentiating them from imaging tests is one of the current diagnostic challenges, especially when

they are smaller than 2 cm, and other tools, such as ICF biomarkers or genomics, are not always accurate or available. Therapeutic decision-making should always be done in multidisciplinary committees, relying on clinical practice guidelines that, however, present a certain variability in their recommendations [20].

According to the series, M-PCLs were the most common epithelial cysts, with IPMNs (70%) predominating over MCNs (25%). SCAs account for 10–16% of total PCLs, and lymphoepithelial lesions/lymphangiomas are rare (0.5%). The study cohort mimics these reported frequencies, as well as data on distribution by sex, age, and location, as shown in Table 2. In surgical series, the most resected PCLs were also M-PCLs (45% IPMNs, 16% MCNs), followed by SCAs (16%) [21]. In this study, IPMNs were also the most frequently operated on (44%), followed by MCNs (12%) and SCAs (9%).

The sample size is small, and this is probably the biggest weakness of our study, together with its implementation in a single center. For this reason, this study is considered a pilot study, and we are already working on expanding the sample size in collaboration with other centers for future studies. However, despite the small size, it is a balanced sample with representation of the main subtypes, including rare ones such as LINF and SMC [22]. The predominance of symptomatic patients is explained by the inclusion of PCs on underlying chronic pancreatitis and the selection biases inherent to the exclusive recruitment of patients with PCLs using EUS-FNA criteria, including symptomatic PCLs.

The methodology applied to obtain iTLB models was previously described in serum samples [12]. However, there was a difference when it was applied to ICF thermograms. A range temperature between 60 and 80 °C was used in serum samples, while a bigger range was applied in ICF samples (55–85 °C). The reason for this change is that ICF samples experience less cooperative unfolding between their proteins, leading to thermograms whose C_p value starts to increase at lower temperatures and ends at its baseline at higher temperatures than serum samples. This phenomenon can be observed by comparing the thermogram figures in this manuscript with, for example, the article published on serum samples [12].

4.1. Differential Diagnosis of NM-PCLs vs. M-PCLs

In clinical practice, the diagnostic workup begins with imaging tests, with a reported accuracy of diagnosis of 47–78% with most advanced modalities [23]. In a recent meta-analysis [24], MDCT showed an accuracy of 39–45%, and EUS, limited by interobserver variability, had a sensitivity and specificity of 36–91% and 45–81% [25]. In the study cohort, the accuracies of MDCT and MRI were 75% and 56%, respectively, and EUS had a sensitivity and specificity of 67% and 90%.

String sign showed a sensitivity, specificity, PPV, and NPV for M-PCLs of 59%, 83%, 77%, and 68%, similar to the study [26].

Regarding ICF biomarkers, in a recent meta-analysis, CEA showed a sensitivity and specificity for M-PCLs of 58% and 87% [27]. This study cohort had a higher sensitivity (76%) and slightly lower specificity (82%). However, it is reported that up to 30% of IPMNs have CEA levels < 192 ng/mL, and in this study, it was observed in 20% of IPMNs and 50% of MCNs. Additionally, CEA is not valid for distinguishing IPMN from MCN or as a malignancy marker, and recent publications raise doubts about its suitability [28,29]. Regarding glucose, the same meta-analysis attributed a sensitivity and specificity of 93% and 89% for M-PCLs, with an accuracy of 89% and an AUC of between 0.87 and 0.91 [30], surpassing CEA [31]. However, it is not a malignancy marker either, and reading errors occur in up to 22% of cases due to ICF viscosity [32]. There is also evidence of confounding results in PCs [33], with nearly 30% false positives. In the study cohort, the diagnostic performance of glucose was markedly lower, although the small number of cysts for which we have glucose values must be considered.

Regarding genomics in ICF, the identification of *KRAS* mutations showed high specificity (96%) and low sensitivity (45%) for IPMNs, as they may also exist in up to 35% of MCNs. The associations of *KRAS*-*GNAS* mutations result in higher sensitivity (91%), but

their simultaneous presence is less than 50% [34]. Moreover, genomics is expensive and not widely available, as in our case.

There are other new techniques like needle-based confocal laser endomicroscopy, EUS through the needle biopsy, and contrast-enhanced EUS. Needle-based confocal laser endomicroscopy is a technique that provides high-resolution images by introducing a fiber optic probe (0.85 mm) through a 19G needle, allowing histological analysis of the cyst wall in real time. In different clinical trials, better performance with respect to CEA, and even EUS-FNA, has been observed in the characterization of PCLs, with a diagnostic yield of up to 88% and a diagnostic accuracy of up to 96%. However, it is a technique that is not free of complications, such as the increased risk of pancreatitis or intracystic hemorrhage. Other disadvantages are its high cost, which prolongs the examination time, the endoscopist's learning curve, its limited availability, the technical difficulties preventing the acquisition of adequate images in certain situations, and the fact that it is not an optimal test for ruling out malignancies because it only allows the visualization of a small surface of the interior of the cyst [35]. EUS through the needle biopsy consists of introducing a mini-forceplier (Moray microforceplier) through a 19G needle to perform a direct biopsy of the cyst wall. Various publications have proven its usefulness in the characterization of PCLs, with an interesting diagnostic yield of around 62% for differentiating mucinous and non-mucinous lesions and up to 71.5% for detecting malignancies. Its main drawback is its significant association with adverse effects of up to 16% (11.5% in more recent series), the most frequent being intracystic hemorrhage. In a recently published series, risk predictors associated with complications were identified in the following order from highest to lowest: diagnosis of IPMN, number of passes (higher risk with more passes), age (higher risk with older age), and complete aspiration of the cyst. Thus, a high-risk group was identified (associated with 28% of adverse events), made up of patients diagnosed with IPMN in whom multiple passes were performed. Therefore, this is a technique in which it is essential to select the patient appropriately to ensure that the risk/benefit ratio is adequate, and this circumstance further limits its diagnostic yield [36]. Contrast-enhanced EUS involves using ultrasound contrasts simultaneously with EUS. These contrasts provide information on the microvascularization of the lesions, improving their characterization. In general, it is a safe technique with a very low rate of adverse effects. Most studies do not focus so much on its ability to characterize the different PCLs, but on its usefulness in characterizing mural nodules with suspected malignancies. A recent systematic review that analyzed eight studies in which contrast-enhanced EUS was performed concluded that the technique has a diagnostic accuracy of 95% in identifying malignant nodules [37]. However, its capacity for differential diagnosis of different PCLs is more limited, and it is not available in many centers, as in our case.

Faced with these results, the iTLB1 model showed sensitivity, specificity, accuracy, and AUC of 92%, 60%, 77%, and 0.79 for differentiating M-PCLs and NM-PCLs. Compared to other tools in the cohort (Table 3), it had superior sensitivity and NPV, and compared to data reported in the literature, its accuracy and AUC are only surpassed by glucose and genomics, but its results are not affected by ICF viscosity, and it has better affordability.

In the subsequent validation with lesions without a confirmed diagnosis, four PCs were misclassified (5/11 in total, only one confirmed histopathologically), all associated with severe underlying inflammation (advanced chronic pancreatitis or necrohemorrhagic acute pancreatitis), most likely reflecting the heterogeneous ICF composition of PCs due to its inflammatory pathophysiology. Presumably, by increasing the sample size, TLB models could not only identify this inflammatory nature but also potential complications, such as necrosis, infection, or hemorrhage, through the global analysis of ICF components. Evidence of this is the characteristic pattern of walled-off necrosis lesion thermogram already observed in our cohort (Figure 1).

4.2. Identification of Malignancies

Regarding distinguishing bM-PCL from mM-PCL, a recent meta-analysis [24] describes a sensitivity and specificity of 36–71% and 64–100% for MDCT, and 76% and 80% for MRI, with an accuracy of 81% when combining both [38]. In the study cohort, MDCT showed a higher sensitivity (88%) and specificity (88%), and MRI showed lower sensitivity (33%) but excellent specificity (100%), with EUS being the most accurate test (91%), with a sensitivity and specificity of 75% and 100%.

As shown in Table 3, HRS/WF showed low sensitivity but high specificity (up to 100% for some signs like solid components or suspicious lymphadenopathies) despite the performance being lower than described in consensus guidelines [25]. For these signs, the literature describes a limited isolated value on malignancy prediction, with increasing stepwise risk as the number of WF increases (22% with one, 100% with ≥ 4) [23]. In this study, both observations were observed, with examples of isolated mural nodules described in PCs, as well as a tendency for mM-PCLs to accumulate several HRS/WF (37% with ≥ 3). However, contrary scenarios were also observed, with M-PCLs with ≥ 3 WF without evidence of malignancy.

Two clinical signs were of particular relevance: new-onset diabetes (37% mM-PCLs), but a distracting factor in the surgical indication on two SCAs, and jaundice (50% mM-PCLs, 75% in the pancreatic head and in any NM-PCL or bM-PCL).

According to previous reviews [39], cytology showed high specificity (83–100%) but low sensitivity (50%), with up to 60% hypocellular samples. In this study, 20% of the samples were hypocellular, and existing malignancy was misdiagnosed in 20% of the cases.

Genomics in ICF can also detect malignancy using helpful mutations (*TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A*, *PIK3CA*) with high specificity (92–98%) but low sensitivity (9–39%) [27] despite its cost and limited availability, as is the case for our center.

Faced with these data, the iTLB2 model was shown to be the most valuable tool in detecting malignancies, with a performance of 100%. Notably, it correctly identified one mM-PCL in its earliest stage of malignancy (HGD) that had been operated by growth, without any other WF. It must be noted that, given the small sample size, all M-PCLs (histopathologically confirmed or not) were included in the model training, so it could not be validated and could only be considered a pilot study. More studies are necessary to confirm these results.

Finally, a sub-analysis of surgical indications and complications was performed to assess the possible influence of both models on decision-making and patient outcomes. All surgeries were correctly indicated following current guidelines based on suspicion of mucinous origin and the presence of symptoms or HRS/WF. However, malignancy was only confirmed in 1/5 distal pancreatectomies (all of them presenting minor post-surgical complications) and in 3/5 CDPs (one post-surgical death), with the other two being SCAs (fortunately without post-surgical complications). In the hypothetical scenario where iTLB had been considered in decision-making, the iTLB1 model would not have identified the non-mucinous origin of the two operated SCAs, but the iTLB2 model would have correctly identified the absence of malignancies in the four benign distal pancreatectomies, avoiding surgery (67% of distal pancreatectomies) and its associated morbidity (minor complications).

Regarding limitations, this is a retrospective single-center study with a small sample size, with only 63% of histologically confirmed diagnoses; however, the diagnostic approach without histology follows current standards of clinical practice. ICF glucose determination was not performed in older samples because of the relatively recent evidence of its utility. The inclusion bias in patient recruitment was already commented on (for example, it would be very interesting to be able to assess the performance of this technique in asymptomatic patients, thus removing the selection bias in our study). TLB is a highly sensitive but less specific tool. TLB does not specifically inform on the identity of the proteins responsible for the changes observed in the thermogram and neither can the temperature pairs of the models be justified by biomarkers or biological mechanisms by themselves.

The continuation of this study will focus on increasing the sample size through multicenter studies, including additional glucose measurement and performing proteomics analysis to discover the proteins responsible for the thermogram patterns.

5. Conclusions

Despite all these findings requiring future clinical validation through multicenter studies with larger sample sizes, iTLB emerges as a promising, minimally invasive, inexpensive, and easy-to-apply tool for improving differential diagnosis of PCLs and malignancy detection, even in the early stages. Its methodology allows the overall screening of the total composition of ICF in a single analytical process, avoiding the loss of information inherent in current strategies that consider individual biomarkers.

The future will probably bring diagnostic models that combine different tools using simultaneous analysis of different sources to increase diagnostic accuracy. iTLB has this multiple analysis strategy as one of its best advantages, and therefore, in our opinion, it could be a key diagnostic method.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/cancers16234024/s1>, Tables S1 and S2: Descriptive characteristics and clinical data for patients with pancreatic cystic lesions (PCLs). This table presents the descriptive characteristics and clinical data of patients diagnosed with pancreatic cystic lesions (PCLs), including non-mucinous PCLs (NM-PCLs) and mucinous PCLs (M-PCLs). Data are organized by patient ID, lesion location (LOC), size of the lesion, clinical context, intracystic fluid (ICF) characteristics, presence of Worrisome features (WF) or Wirsung communication, biochemical markers in ICF (BQ markers ICF), serum markers, symptoms, surgery details, diagnosis, other relevant information, and histological confirmation.

Author Contributions: Conceptualization, A.V.-C. and O.A.; methodology, S.H.-D., N.F., A.V.-C. and O.A.; software, S.H.-D., N.F., A.V.-C. and O.A.; validation, S.V., A.V.-C. and O.A.; formal analysis, S.H.-D., N.F., S.V., A.V.-C. and O.A.; investigation, S.V., A.V.-C. and O.A.; resources, J.M., M.O.d.S., G.G.-R., L.B., C.S., Á.L., A.V.-C. and O.A.; data curation, J.M., S.H.-D., M.O.d.S., N.F. and O.A.; writing—original draft preparation, J.M., S.H.-D., A.V.-C. and O.A.; writing—review and editing, J.M., S.H.-D., M.O.d.S., N.F., G.G.-R., S.V., L.B., C.S., Á.L., A.V.-C. and O.A.; visualization, A.V.-C. and O.A.; supervision, Á.L., A.V.-C. and O.A.; project administration, A.V.-C. and O.A.; funding acquisition, Á.L., A.V.-C. and O.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Ministerio de Ciencia e Innovación MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ and “ERDF A way of Making Europe” (PID2021-127296OB-I00 to A.V.C.); by Instituto de Salud Carlos III and co-funded by the European Union (ESF, “Investing in your future”) (PI18/00349 and PI21/00394 PFIS grants to O.A.; FI19/00146 PFIS contract to S.H.-D.); the Spanish Ministry of Science and Innovation with funds from the European Union NextGeneration EU [PRTR-C17.11]; the Autonomous Community of Aragón within the framework of the Biotechnology Plan Applied to Health (LA3); Diputación General de Aragón (Protein Targets and Bioactive Compounds Group E45_23R to A.V.C. and Digestive Pathology Group B25_23R to O.A.); and Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

Institutional Review Board Statement: All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in the study. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Aragón Research Ethics Committee (CEICA) (PI19/059), at its meeting held on 5 February 2020, Act No. 03/2020, after assessment of the procedures and all the consent and patient information documents that the researchers provided.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: This article is based upon work from COST Action “Identification of biological markers for prevention and translational medicine in pancreatic cancer (TRANSPAN)”, CA21116, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Michl, P.; Löhr, M.; Neoptolemos, J.P.; Capurso, G.; Rebours, V.; Malats, N.; Ollivier, M.; Ricciardiello, L. UEG Position Paper on Pancreatic Cancer. Bringing Pancreatic Cancer to the 21st Century: Prevent, Detect, and Treat the Disease Earlier and Better. *United Eur. Gastroenterol. J.* **2021**, *9*, 860–871. [[CrossRef](#)]
2. Ergenc, M.; Karpuz, S.; Ergenc, M.; Yegen, C. Enhanced Recovery after Pancreatic Surgery: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial. *J. Surg. Oncol.* **2021**, *124*, 1070–1076. [[CrossRef](#)]
3. Privalov, G.; Kavina, V.; Freire, E.; Privalov, P.L. Precise Scanning Calorimeter for Studying Thermal Properties of Biological Macromolecules in Dilute Solution. *Anal. Biochem.* **1995**, *232*, 79–85. [[CrossRef](#)]
4. Garbett, N.C.; Brock, G.N. Differential Scanning Calorimetry as a Complementary Diagnostic Tool for the Evaluation of Biological Samples. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2016**, *1860*, 981–989. [[CrossRef](#)]
5. Dandé, Nöt, L.G.; Wiegand, N.; Kocsis, B.; Lőrinczy, D. DSC Analysis of Human Synovial Fluid Samples in the Diagnostics of Non-Septic and Septic Arthritis. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, *130*, 1249–1252. [[CrossRef](#)]
6. Chagovetz, A.A.; Jensen, R.L.; Recht, L.; Glantz, M.; Chagovetz, A.M. Preliminary Use of Differential Scanning Calorimetry of Cerebrospinal Fluid for the Diagnosis of Glioblastoma Multiforme. *J. Neurooncol.* **2011**, *105*, 499–506. [[CrossRef](#)]
7. Pultrone, L.; Schmid, R.; Waltimo, T.; Braissant, O.; Astasov-Frauenhoffer, M. Saliva Profiling with Differential Scanning Calorimetry: A Feasibility Study with Ex Vivo Samples. *PLoS ONE* **2022**, *17*, e0269600. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Velazquez-Campoy, A.; Vega, S.; Sanchez-Gracia, O.; Lanás, A.; Rodrigo, A.; Kaliappan, A.; Hall, M.B.; Nguyen, T.Q.; Brock, G.N.; Chesney, J.A.; et al. Thermal Liquid Biopsy for Monitoring Melanoma Patients under Surveillance during Treatment: A Pilot Study. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2018**, *1862*, 1701–1710. [[CrossRef](#)]
9. Annesi, F.; Hermoso-Durán, S.; Rizzuti, B.; Bruno, R.; Pirritano, D.; Petrone, A.; Del Giudice, F.; Ojeda, J.; Vega, S.; Sanchez-Gracia, O.; et al. Thermal Liquid Biopsy (TLB) of Blood Plasma as a Potential Tool to Help in the Early Diagnosis of Multiple Sclerosis. *J. Pers. Med.* **2021**, *11*, 295. [[CrossRef](#)]
10. Vega, S.; Garcia-Gonzalez, M.A.; Lanás, A.; Velazquez-Campoy, A.; Abian, O. Deconvolution Analysis for Classifying Gastric Adenocarcinoma Patients Based on Differential Scanning Calorimetry Serum Thermograms. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 7988. [[CrossRef](#)]
11. Rodrigo, A.; Ojeda, J.L.; Vega, S.; Sanchez-Gracia, O.; Lanás, A.; Isla, D.; Velazquez-Campoy, A.; Abian, O. Thermal Liquid Biopsy (TLB): A Predictive Score Derived from Serum Thermograms as a Clinical Tool for Screening Lung Cancer Patients. *Cancers* **2019**, *11*, 1012. [[CrossRef](#)]
12. Hermoso-Durán, S.; Fraunhoffer, N.; Millastre-Bocos, J.; Sanchez-Gracia, O.; Garrido, P.F.; Vega, S.; Lanás, A.; Iovanna, J.; Velázquez-Campoy, A.; Abian, O. Development of a Machine-Learning Model for Diagnosis of Pancreatic Cancer from Serum Samples Analyzed by Thermal Liquid Biopsy. *Adv. Intell. Syst.* **2024**, 2400308. [[CrossRef](#)]
13. Hermoso-Durán, S.; García-Rayado, G.; Ceballos-Laita, L.; Sostres, C.; Vega, S.; Millastre, J.; Sánchez-Gracia, O.; Ojeda, J.L.; Lanás, A.; Velázquez-Campoy, A.; et al. Thermal Liquid Biopsy (TLB) Focused on Benign and Premalignant Pancreatic Cyst Diagnosis. *J. Pers. Med.* **2021**, *11*, 25. [[CrossRef](#)]
14. Téoule, P.; Bartel, F.; Birgin, E.; Rückert, F.; Wilhelm, T.J. The Clavien-Dindo Classification in Pancreatic Surgery: A Clinical and Economic Validation. *J. Investig. Surg.* **2019**, *32*, 314–320. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Rahib, L.; Wehner, M.R.; Matrisian, L.M.; Nead, K.T. Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. *JAMA Netw. Open* **2021**, *4*, e214708. [[CrossRef](#)]
16. Grossberg, A.J.; Chu, L.C.; Deig, C.R.; Fishman, E.K.; Hwang, W.L.; Maitra, A.; Marks, D.L.; Mehta, A.; Nabavizadeh, N.; Simeone, D.M.; et al. Multidisciplinary Standards of Care and Recent Progress in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *CA Cancer J. Clin.* **2020**, *70*, 375–403. [[CrossRef](#)]
17. Goggins, M.; Overbeek, K.A.; Brand, R.; Syngal, S.; Del Chiaro, M.; Bartsch, D.K.; Bassi, C.; Carrato, A.; Farrell, J.; Fishman, E.K.; et al. Management of Patients with Increased Risk for Familial Pancreatic Cancer: Updated Recommendations from the International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) Consortium. *Gut* **2020**, *69*, 7–17. [[CrossRef](#)]
18. Chen, W.; Ahmed, N.; Krishna, S.G. Pancreatic Cystic Lesions: A Focused Review on Cyst Clinicopathological Features and Advanced Diagnostics. *Diagnostics* **2022**, *13*, 65. [[CrossRef](#)]
19. Vilela, A.; Quingalaha, E.; Vargas, A.; Hawa, F.; Shannon, C.; Carpenter, E.S.; Shi, J.; Krishna, S.G.; Lee, U.-J.; Chalhoub, J.M.; et al. Global Prevalence of Pancreatic Cystic Lesions in the General Population on Magnetic Resonance Imaging: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2024**, *22*, 1798–1809.e6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Aziz, H.; Acher, A.W.; Krishna, S.G.; Cloyd, J.M.; Pawlik, T.M. Comparison of Society Guidelines for the Management and Surveillance of Pancreatic Cysts. *JAMA Surg.* **2022**, *157*, 723. [[CrossRef](#)]
21. Valsangkar, N.P.; Morales-Oyarvide, V.; Thayer, S.P.; Ferrone, C.R.; Wargo, J.A.; Warshaw, A.L.; Fernández-del Castillo, C. 851 Resected Cystic Tumors of the Pancreas: A 33-Year Experience at the Massachusetts General Hospital. *Surgery* **2012**, *152*, S4–S12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Schechter, S.; Shi, J. Simple Mucinous Cyst of the Pancreas: Review and Update. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2017**, *141*, 1330–1335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

23. Ohtsuka, T.; Fernandez-del Castillo, C.; Furukawa, T.; Hijioka, S.; Jang, J.-Y.; Lennon, A.M.; Miyasaka, Y.; Ohno, E.; Salvia, R.; Wolfgang, C.L.; et al. International Evidence-Based Kyoto Guidelines for the Management of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm of the Pancreas. *Pancreatology* **2024**, *24*, 255–270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Abraham, A.S.; Simon, B.; Eapen, A.; Sathyakumar, K.; Chandramohan, A.; Raju, R.S.; Joseph, P.; Kodiatte, T.A.; Gowri, M. Role of Cross-Sectional Imaging (CT/MRI) in Characterization and Distinguishing Benign from Malignant/Potentially Malignant Cystic Lesions of Pancreas. *J. Clin. Imaging Sci.* **2020**, *10*, 28. [[CrossRef](#)]
25. European Study Group on Cystic Tumours of the Pancreas. European Evidence-Based Guidelines on Pancreatic Cystic Neoplasms. *Gut* **2018**, *67*, 789–804. [[CrossRef](#)]
26. Bick, B.; Enders, F.; Levy, M.; Zhang, L.; Henry, M.; Dayyeh, B.; Chari, S.; Clain, J.; Farnell, M.; Gleeson, F.; et al. The String Sign for Diagnosis of Mucinous Pancreatic Cysts. *Endoscopy* **2015**, *47*, 626–631. [[CrossRef](#)]
27. Pflüger, M.J.; Jamouss, K.T.; Afghani, E.; Lim, S.J.; Rodriguez Franco, S.; Mayo, H.; Spann, M.; Wang, H.; Singhi, A.; Lennon, A.M.; et al. Predictive Ability of Pancreatic Cyst Fluid Biomarkers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pancreatology* **2023**, *23*, 868–877. [[CrossRef](#)]
28. Gaddam, S.; Ge, P.S.; Keach, J.W.; Mullady, D.; Fukami, N.; Edmundowicz, S.A.; Azar, R.R.; Shah, R.J.; Murad, F.M.; Kushnir, V.M.; et al. Suboptimal Accuracy of Carcinoembryonic Antigen in Differentiation of Mucinous and Nonmucinous Pancreatic Cysts: Results of a Large Multicenter Study. *Gastrointest. Endosc.* **2015**, *82*, 1060–1069. [[CrossRef](#)]
29. Kwan, M.C.; Pitman, M.B.; Fernandez-del Castillo, C.; Zhang, M.L. Revisiting the Performance of Cyst Fluid Carcinoembryonic Antigen as a Diagnostic Marker for Pancreatic Mucinous Cysts: A Comprehensive 20-Year Institutional Review. *Gut* **2024**, *73*, 629–638. [[CrossRef](#)]
30. Ribeiro, T.; Lopes, S.; Moutinho-Ribeiro, P.; Macedo, G.; Vilas-Boas, F. Performance of Intracystic Glucose Measurement for the Characterization of Pancreatic Cystic Lesions. *J. Gastrointest. Liver Dis.* **2024**, *33*, 74–78. [[CrossRef](#)]
31. Smith, Z.L.; Satyavada, S.; Simons-Linares, R.; Mok, S.R.S.; Martinez Moreno, B.; Aparicio, J.R.; Chahal, P. Intracystic Glucose and Carcinoembryonic Antigen in Differentiating Histologically Confirmed Pancreatic Mucinous Neoplastic Cysts. *Am. J. Gastroenterol.* **2022**, *117*, 478–485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Noia, J.L.; Mejuto, R.; Oria, I.; De la Iglesia-García, D.; Villaverde, A.; Voces, A.; Pizzala, J.; Iglesias-García, J.; Urgiles, D.; Marcolongo, M.; et al. Rapid Diagnosis of Mucinous Cystic Pancreatic Lesions by On-Site Cyst Fluid Glucometry. *Surg. Endosc.* **2022**, *36*, 2473–2479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Carr, R.A.; Yip-Schneider, M.T.; Simpson, R.E.; Dolejs, S.; Schneider, J.G.; Wu, H.; Ceppa, E.P.; Park, W.; Schmidt, C.M. Pancreatic Cyst Fluid Glucose: Rapid, Inexpensive, and Accurate Diagnosis of Mucinous Pancreatic Cysts. *Surgery* **2018**, *163*, 600–605. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. McCarty, T.R.; Paleti, S.; Rustagi, T. Molecular Analysis of EUS-Acquired Pancreatic Cyst Fluid for KRAS and GNAS Mutations for Diagnosis of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasia and Mucinous Cystic Lesions: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastrointest. Endosc.* **2021**, *93*, 1019–1033.e5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Facciorusso, A.; Buccino, V.R.; Sacco, R. Needle-Based Confocal Laser Endomicroscopy in Pancreatic Cysts: A Meta-Analysis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *32*, 1084–1090. [[CrossRef](#)]
36. Facciorusso, A.; Kovacevic, B.; Yang, D.; Vilas-Boas, F.; Martínez-Moreno, B.; Stigliano, S.; Rizzatti, G.; Sacco, M.; Arevalo-Mora, M.; Villarreal-Sanchez, L.; et al. Predictors of Adverse Events after Endoscopic Ultrasound-Guided through-the-Needle Biopsy of Pancreatic Cysts: A Recursive Partitioning Analysis. *Endoscopy* **2022**, *54*, 1158–1168. [[CrossRef](#)]
37. Lisotti, A.; Napoleon, B.; Facciorusso, A.; Cominardi, A.; Crinò, S.F.; Brighi, N.; Gincul, R.; Kitano, M.; Yamashita, Y.; Marchegiani, G.; et al. Contrast-Enhanced EUS for the Characterization of Mural Nodules within Pancreatic Cystic Neoplasms: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastrointest. Endosc.* **2021**, *94*, 881–889.e5. [[CrossRef](#)]
38. Udare, A.; Agarwal, M.; Alabousi, M.; McInnes, M.; Rubino, J.G.; Marcaccio, M.; van der Pol, C.B. Diagnostic Accuracy of MRI for Differentiation of Benign and Malignant Pancreatic Cystic Lesions Compared to CT and Endoscopic Ultrasound: Systematic Review and Meta-analysis. *J. Magn. Reson. Imaging* **2021**, *54*, 1126–1137. [[CrossRef](#)]
39. Gillis, A.; Cipollone, I.; Cousins, G.; Conlon, K. Does EUSFNA Molecular Analysis Carry Additional Value When Compared to Cytology in the Diagnosis of Pancreatic Cystic Neoplasm? A Systematic Review. *HPB* **2015**, *17*, 377–386. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Development of a Machine-Learning Model for Diagnosis of Pancreatic Cancer from Serum Samples Analyzed by Thermal Liquid Biopsy

Sonia Hermoso-Durán, Nicolas Fraunhoffer, Judith Millastre-Bocos, Oscar Sanchez-Gracia, Pablo F. Garrido, Sonia Vega, Ángel Lanás, Juan Iovanna, Adrián Velázquez-Campoy,* and Olga Abian*

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) poses a considerable diagnostic and therapeutic challenge due to the lack of specific biomarkers and late diagnosis. Early detection is crucial for improving prognosis, but current techniques are insufficient. An innovative approach based on differential scanning calorimetry (DSC) of blood serum samples, thermal liquid biopsy (TLB), combined with machine-learning (ML) analysis, may offer a more efficient method for diagnosing PDAC. Serum samples from a cohort of 212 PDAC patients and 184 healthy controls are studied. DSC thermograms are analyzed using ML models. The generated models are built applying algorithms based on penalized regression, resampling, categorization, cross validation, and variable selection. The ML-based model demonstrates outstanding ability to discriminate between PDAC patients and control subjects, with a sensitivity of 90% and an area under the ROC receiver operating characteristic curve of 0.83 in the training and test groups. Application of the model to an independent validation cohort of 113 PDAC patients confirms its robustness and utility as a diagnosis tool. The application of ML to serum TLB data emerges as a promising methodology for early diagnosis, representing a significant advance for detecting and managing PDAC, envisaging a minimally invasive and more efficient methodology for identifying biomarkers.

1. Introduction


Pancreatic cancer stands as a major global health issue, characterized by its high mortality rate and escalating incidence. The American Cancer Society's estimates about 64 050 new cases and 50 550 deaths in its 2023 report for US, making up $\approx 3\%$ of all cancers and 7% of cancer deaths. This trend reflects the global patterns reported by the World Health Organization (WHO) and Global Cancer Observatory (GLOBOCAN), which indicate a steady rise in pancreatic cancer incidence, linked to aging populations, lifestyle changes, and risk factors such as smoking and obesity.^[1,2]

Notably, regional variations in pancreatic cancer incidence and mortality suggest the influence of genetic, dietary, and environmental factors. Developed nations often report higher cancer rates, potentially due to greater exposure to risk factors and more robust cancer registries. In Europe,

S. Hermoso-Durán, P. F. Garrido, S. Vega, A. Velázquez-Campoy, O. Abian
Institute of Biocomputation and Physics of Complex Systems (BIFI)
Joint Units IQFR-CSIC-BIFI, and GBsC-CSIC-BIFI
Universidad de Zaragoza
50018 Zaragoza, Spain
E-mail: adrianvc@unizar.es; oabifra@unizar.es

S. Hermoso-Durán, Á. Lanás, A. Velázquez-Campoy, O. Abian
Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón)
50009 Zaragoza, Spain

S. Hermoso-Durán, A. Velázquez-Campoy, O. Abian
Centro de Investigación Biomédica en Red en el Área Temática de
Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd)
28029 Madrid, Spain

 The ORCID identification number(s) for the author(s) of this article can be found under <https://doi.org/10.1002/aisy.202400308>.

© 2024 The Author(s). Advanced Intelligent Systems published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

DOI: 10.1002/aisy.202400308

N. Fraunhoffer, J. Iovanna
Aix-Marseille Université, CNRS, Centre Interdisciplinaire de Nanoscience
de Marseille, Equipe Labélisée Ligue Nationale Contre le Cancer
13288 Marseille, France

J. Millastre-Bocos, Á. Lanás
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa
50009 Zaragoza, Spain

O. Sanchez-Gracia
Departamento de Ingeniería Electrónica y Comunicaciones
Universidad de Zaragoza
50018 Zaragoza, Spain

P. F. Garrido
Department of Physics
University of Oslo
0316 Oslo, Norway

P. F. Garrido
Center for Lifespan Changes in Brain and Cognition
University of Oslo
0371 Oslo, Norway

variations are evident across the continent, with Eastern Europe showing higher rates, possibly influenced by lifestyle and health-care disparities.^[3]

These patterns underscore the urgency of targeted prevention strategies and research to better understand the disease's pathophysiology. Implementing effective screening programs for at-risk populations could improve early detection rates and, consequently, treatment outcomes for pancreatic cancer.^[1]

One of the primary challenges in diagnosing pancreatic cancer is the absence of specific symptoms in its early stages, often rendering it undetectable until it has advanced too far.^[1,4] The manifestation of symptoms largely depends on the location, size, and spread of the tumor. Common areas affected by metastasis include the liver, peritoneum, lungs, and bones. This late diagnosis, due to nonspecific or absent early symptoms, significantly impacts treatment options and prognosis, highlighting the urgent need for improved diagnostic methods.^[3]

While there are no general pancreatic cancer detection programs that have proven useful in the general population, imaging tests are mainly applied in high-risk groups, with low-quality evidence in relation to their efficiency, with current biomarkers being not useful as early diagnosis. For this reason, research is increasingly focusing on high-risk groups.^[1] These include individuals with a family history of pancreatic cancer or genetic syndromes like Peutz–Jeghers syndrome and hereditary pancreatitis. For these groups, the use of regular imaging tests, such as endoscopic ultrasound (EUS) or magnetic resonance imaging (MRI), combined with biomarkers, is being explored to improve early detection.^[1] Furthermore, advancements in genomic sequencing are enhancing our ability to identify individuals at increased risk, allowing for more targeted screening approaches. This shift toward personalized screening reflects a nuanced understanding of the disease's risk factors and underscores the need for ongoing research in biomarker development.^[5]

In the study of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), the most prevalent type of pancreatic neoplasm, standard blood tests including biochemistry markers, complete blood count, and coagulation profile play a crucial role. The principal biomarker is the carbohydrate antigen 19-9 (CA19.9). This tumor marker is not exclusive to pancreatic cancer, but it is used for prognostic and follow-up purposes. Its utility is limited in asymptomatic individuals due to low negative predictive value. Genetic factors, such as the Lewis negative genotype, can affect CA19.9 production, influencing its effectiveness as a diagnostic tool.^[6–8] These biomarkers, while useful, have limitations, and, therefore, there is a need for more specific and sensitive markers for PDAC.

Research must continue by exploring novel biomarkers toward more effective diagnosis and management of pancreatic cancer.

Imaging techniques play a pivotal role in diagnosing PDAC, enabling assessment of tumor extent and treatment planning. Commonly used modalities include abdominal ultrasound, computed tomography, MRI, and EUS. These techniques facilitate PDAC staging using the system developed by the American Joint Committee on Cancer (AJCC),^[9] considering tumor size (T), nodal involvement (N), and distant metastasis (M). Imaging reveals tumor size and metastasis, while nodal spread is typically confirmed surgically by anatomopathological analysis of the surgical specimen. The eighth edition of AJCC (2017) outlines stages IA to IV based on these criteria, aiding in therapeutic decision-making and prognostication. This imaging-based classification is crucial for tailoring treatment approaches to each cancer stage.

Beyond the stage classification, PDAC is also classified from a surgical perspective into resectable and unresectable categories. Resectable PDAC is confined to the pancreas or has limited spread and can be entirely removed. Unresectable PDAC, subdivided into locally advanced and metastatic, cannot be fully removed by surgery. Locally advanced PDAC has grown around major blood vessels but has not spread to distant organs. Metastatic PDAC involves distant organ spread.

However, challenges remain in early detection and precise monitoring due to the lack of highly sensitive biomarkers, emphasizing the need for developing noninvasive or minimally invasive techniques, such as blood sample analysis for improved diagnosis and patient management.

Peripheral blood samples represent another valuable tool in clinical evaluation for diagnosing and monitoring diseases, including PDAC. They influence about 60%–70% of medical decisions due to their ease of collection and minimal invasiveness. Blood reflects nearly everything happening in the body, containing more than 3000 proteins and peptides. Despite the dominance of a few proteins in the blood proteome, the remaining 1% includes low-abundance proteins with strong disease correlation. Advances in mass spectrometry and electrophoresis have highlighted the relevance of minor components, known as the peptidome. The interactome theory suggests that these potential biomarkers form complexes with abundant proteins, complicating their study but highlighting the multi-protein involvement in disease states. This complexity necessitates innovative biochemical and analytical approaches for successful biomarker discovery, as no single method suffices using current technologies. Differential scanning calorimetry (DSC) offers a novel analytical biophysical approach to study the proteome and peptidome based on sample thermal stability.^[10]

DSC is a biophysical technique traditionally used to study protein thermal stability, which has been proven invaluable in providing information on many diseases. In DSC, protein samples are heated in a controlled environment, allowing observation of unfolding processes. The DSC thermogram of a single protein informs about its structural stability which, for certain proteins, can be altered by the effect of a disease. This method provides unique insights into the protein composition of biological samples, such as blood serum or plasma, revealing potential disease markers. Changes in the DSC thermogram of blood serum/plasma may indicate alterations in protein composition and/or

J. Iovanna
Hospital de Alta Complejidad El Cruce
Florencio Varela, Buenos Aires B1888, Argentina

J. Iovanna
University Arturo Jauretche
Florencio Varela, Buenos Aires B1888, Argentina

A. Velázquez-Campoy, O. Abian
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad de Zaragoza
50009 Zaragoza, Spain

interactions, which are significant in understanding disease pathology and progression. While not directly identifying low-abundance biomarkers, DSC offers relevant information about the overall state of the proteome, making it a promising tool for disease diagnosis and monitoring.^[11]

Recently, thermogram analysis in DSC has evolved significantly, particularly in diagnosing and monitoring of tumoral diseases.^[12–17] This technique, named as thermal liquid biopsy (TLB), involves comparing thermograms from healthy individuals and patients to extract specific, differential thermodynamic parameters.^[10,16,18–32] Notable developments include nonparametric methods for thermogram classification, high-dimensional data analysis, and algorithms that adjust for variable penalization.^[33–38] These approaches have been applied to a range of diseases, demonstrating the versatility of TLB in clinical diagnostics. The ongoing research focuses on refining these methods, particularly in the context of PDAC, to develop robust classification models (such as the TLB score) that can distinguish between healthy individuals and patients with PDAC. The ultimate goal is to improve early diagnosis and assess treatment efficacy using a minimally invasive technique, making TLB a promising tool in the realm of precision medicine.

In advanced diagnostic research, machine-learning (ML) algorithms are employed to analyze complex biomedical data for distinguishing between healthy and diseased states.^[39,40] These algorithms can effectively process vast datasets, such as genomics, proteomics, and complex imaging results, enabling the identification of subtle biomarkers and patterns indicative of specific diseases. In the context of conditions where early detection is paramount, ML algorithms can significantly improve diagnostic accuracy, facilitating early intervention and personalized treatment plans. This approach represents a transformative step in precision medicine, leveraging computational power to interpret intricate biological data.

Therefore, the objective of this study was to propose a new methodology for analyzing thermogram curves of biological samples, in this case peripheral blood serum samples. This methodology uses ML tools to get direct information from the DSC curves and to obtain a robust classification model that differentiates between healthy control patients and patients with PDAC. We named it the intelligent TLB [iTLB] model.

2. Experimental Section

2.1. Subjects

For developing a new methodology for thermogram analysis and creating a patient classification model (iTLB model), retrospective serum samples from a discovery cohort, separated into two collections at Blood and Tissue Bank of Aragon and provided by the Biobank of the Aragon Health System, integrated in the Spanish National Biobanks Network, were used: a group of healthy control subjects (blood donors from Zaragoza, $n = 184$) and a group of patients diagnosed with PDAC in the University Miguel Servet Hospital of Zaragoza ($n = 212$). The PDAC group provided clinical information including AJCC eighth edition staging classification indexes (stages 0–IV) and

resectability status (resectable, non-resectable, locally advanced, or metastatic).

Then, the iTLB model was applied to an external and independent cohort of 113 PDAC patients from the University Clinical Hospital of Zaragoza (validation cohort).

To provide a comprehensive comparison of the populations studied, we present the demographic and clinical characteristics of both the training and validation cohorts in **Table 1**.

Serum samples from PDAC group were obtained after the diagnosis and before starting the treatment.

2.2. Thermograms Acquisition

An amount of 5 mL of peripheral blood were collected from each patient into separator gel tubes (BD Vacutainer). The samples were allowed to coagulate before centrifugation at 3000 rpm for 10 min. The serum was aliquoted and stored at -80°C for later analysis. To ensure patient anonymity, each sample was labeled with an internal code, adhering to the protocol approved by the Ethics Committee.

Thermograms from serum samples were obtained using a high-sensitivity automated capillary VP-DSC differential scanning calorimeter (MicroCal, Malvern-Panalytical). A thermogram consisted of the sample excess heat capacity, C_p , compared to a reference solution as a function of temperature, $C_p(T)$, during thermal denaturation. Serum samples were diluted (1:25) in filtered phosphate-buffered saline and 400 μL was used for testing. The experiments were conducted at a scan rate of $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ from 10 to 95°C . In case of not being possible to obtain a thermogram from a serum sample, this patient was excluded from the study. In other words, a complete-case analysis was applied without imputation values.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the training and validation cohorts. The table compares key characteristics between the two cohorts, including age distribution, gender, tumor stage, and resectability status. This comparison underscores the similarity between the cohorts, which is crucial for the validation of the iTLB model.

| Characteristic | Training cohort ($n = 396$) | Validation cohort ($n = 113$) |
|--|----------------------------------|------------------------------------|
| Age, years (median, interquartile range) | 58 [48; 68] ($n.a. = 4$) | 68 [60; 73] ($n.a. = 29$) |
| Sex, n [%] | ($n.a. = 1$) | ($n.a. = 29$) |
| Male | 257 (65.06%) | 45 (53.57%) |
| Female | 138 (34.94%) | 39 (46.43%) |
| Tumor Stage, n [%] | ($n.a. = 46$) | ($n.a. = 29$) |
| Stage I | 0 (0.00%) | 15 (17.86%) |
| Stage II | 14 (8.43%) | 19 (22.62%) |
| Stage III | 13 (7.83%) | 10 (11.90%) |
| Stage IV | 139 (83.74%) | 40 (47.62%) |
| Resectability status, n [%]: | ($n.a. = 6$) | ($n.a. = 29$) |
| Resectable | 21 (10.19%) | 21 (25.00%) |
| Locally advanced | 46 (22.33%) | 23 (27.38%) |
| Metastatic | 139 (67.48%) | 40 (47.62%) |

Thermograms were processed using software developed by the group and implemented in Origin 7 (OriginLab), which involved baseline subtraction and correction, interpolation to get evenly distributed data points in the temperature range ($\Delta T = 0.25^\circ\text{C}$) and restricting the analysis to the 40–95 °C interval. Each curve was normalized by area before the detailed analysis of changes in the thermograms and their correlation with clinical data.

2.3. Methodology for Developing a Classification Model (TLB Model) from Thermograms

To reduce the number of predictors and avoid overfitting, the information for each degree of temperature was selected for temperatures ranging from 60 to 80 °C. This range was chosen as a target for the ML algorithm, chosen based on prior studies indicating major thermogram changes within this range. This resulted in 21 temperature/predictor variables.

The analysis methodology relied on creating a classification model based on thermogram shapes. The K-Top Scoring Pair (KTSP) function (from R *switchBox* library)^[41] used temperature pairs as predictors, an ideal tool for high-dimensional data, reducing overfitting risks and facilitating biological interpretation. The *switchBox* package was applied to convert C_p values into categorical data. This was possible because the algorithm selected a pair of temperatures (T_2, T_1) when there was a strong correlation between the sign of the C_p difference between that pair of temperatures in a group, $C_p(T_2) > C_p(T_1)$ or $C_p(T_2) < C_p(T_1)$, and a correlation of the opposite sign in the other group. For this reason, every thermogram from each patient could achieve the condition of the temperature pairs or not (1/0). Then, a logistic regularized regression applying *ncvreg* package in R, employing Lasso or non-convex penalties and cross validation, was used for model adjustment, trained on 70% of the data, and tested on the remaining 30%, with 100-fold randomization.

Briefly, the methodological procedure consisted of the following steps: 1) creating a resampling matrix to split data 100 times into 70% training data and 30% test data; because the response variable is PDAC or non-PDAC (healthy control group), it is important that the sampling was stratified, that is, maintaining the percentage observed in the initial cohort; 2) determining the optimal range for the number of temperature pairs needed to be compared in the model; 3) selecting the most frequently picked temperature pairs from the 100 fittings; 4) training the model using the most frequently selected temperature pairs; and 5) choosing the best-performing model from the 100 trained models, based on the largest area under the curve (AUC) in the test group.

The outcome of the classification model was a numerical real value per patient within $(-\infty, +\infty)$, with zero as the standard cutoff. Values below zero classified a patient as a healthy control, and values above zero indicated a patient with pathology (PDAC). The model's performance was evaluated using common indexes from a confusion matrix (sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value), receiver operating characteristic (ROC) curve, and ROC AUC with the 95% confidence interval (CI).

2.4. Statistical Analysis

The study used Kolmogorov–Smirnov–Lilliefors or Shapiro–Wilk tests (based on sample size) to assess variable normality. When appropriate, *t*-tests (unpaired) compared means between two groups, with Bartlett's test used to verify homoscedasticity for normally distributed variables. Wilcoxon's test was employed to compare medians for non-normally distributed variables. A *p*-value < 0.05 was significant. Statistical analyses were performed with R version 4.3.2 (October 31, 2023).

3. Results

3.1. Training and Test of iTLB Classification Model: Discriminating between Healthy Subjects and PDAC Patients

To develop the iTLB model, serum samples from 396 individuals were analyzed, comprising two independent groups: a control group of 184 (46.46%) healthy blood donors and a second group consisting of 212 (53.54%) patients diagnosed with PDAC. The majority of the PDAC patients were at stage IV (83.73%, 139/166), while 8.43% (14/166) and 7.83% (13/166) were at stages = II and III, respectively (n.a. = 46) (Figure 1A). According to tumor resectability (n.a. = 6), 10.19% (21/206) were resectable, 22.33% (46/206) were locally advanced, and more than half, 67.48% (139/206), were metastatic (Figure 1B).

3.2. iTLB Model Step by Step

For the iTLB classification model based on normalized thermograms of serum samples, 396 serum samples were analyzed: 184 from the healthy control group and 212 from PDAC group. Figure 2A,B shows the mean and standard deviation of the thermogram curves (normalized by area) for each group. Figure 2C overlays these means, highlighting the differences between groups. The temperature range 60–80 °C, which contained major thermogram differences, was used for training the classification model.

The automated ML methodology proposed for the analysis of thermograms was applied to obtain a classification model using the thermograms obtained from the 184 healthy subjects and the 212 PDAC patients. First, a resampling matrix was generated to randomize the assign of samples to the training and test groups and repeat this process 100 times. The proportion of patients in each group can be seen in Figure 3(1). Second, pairs of temperatures were selected from the 21 predictor temperatures using the KTSP algorithm. The optimal number of pairs was determined by observing the median AUC in the test group (Figure 3(2)). Third, in each training group, temperature pairs were picked, and a classification model was fitted. The pairs selected at least 50 times are shown in Figure 3(3). Fourth, the classification model was trained using only the three most frequent temperature pairs from the last step. These three pairs were picked always (100 times) and are displayed in Figure 3(4). And fifth, at this point, there were 100 trained models, assigning each of them a coefficient to each pair of temperatures. The variability of the coefficients can be visualized by representing the mean plus or minus two times its standard deviation for each of

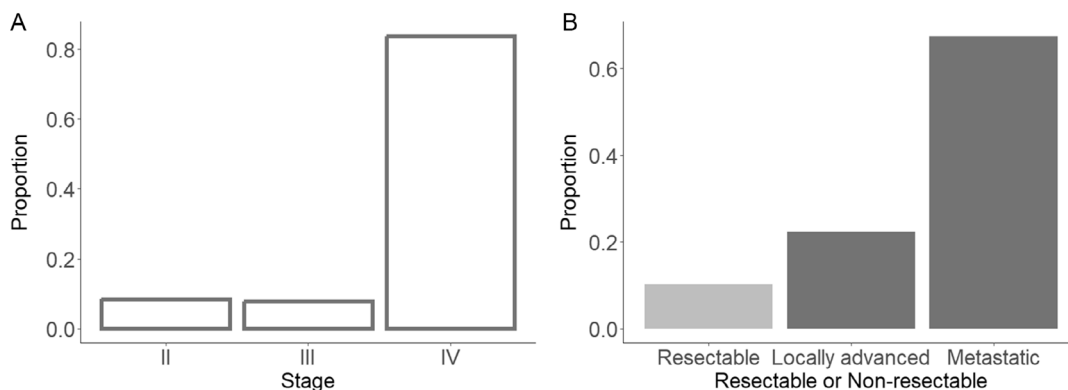


Figure 1. Frequency diagrams of clinical variables in the PDAC patient group. A) Proportion of patients in each stage according to the AJCC eighth edition; B) proportion of patients according to whether the tumor is resectable or not. Stage of the eighth edition of the AJCC (American Joint Committee on Cancer).

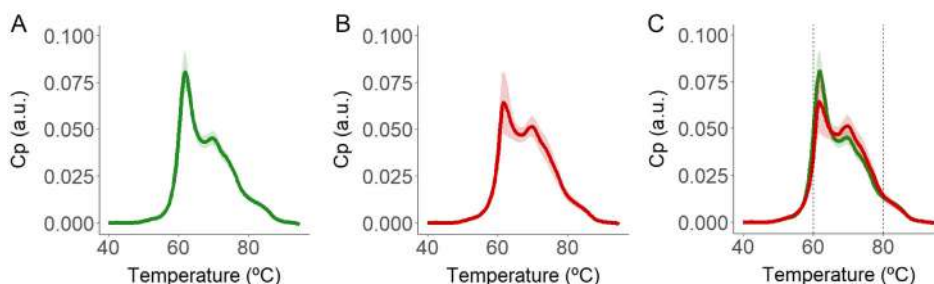


Figure 2. Mean normalized thermogram for each group: A) healthy control subjects in green, and B) PDAC subjects in red, with green/red shading indicating the standard deviation. C) The 60–80 °C temperature range, used for model training, is highlighted with dashed vertical lines. C_p : heat capacity; a.u.: arbitrary units.

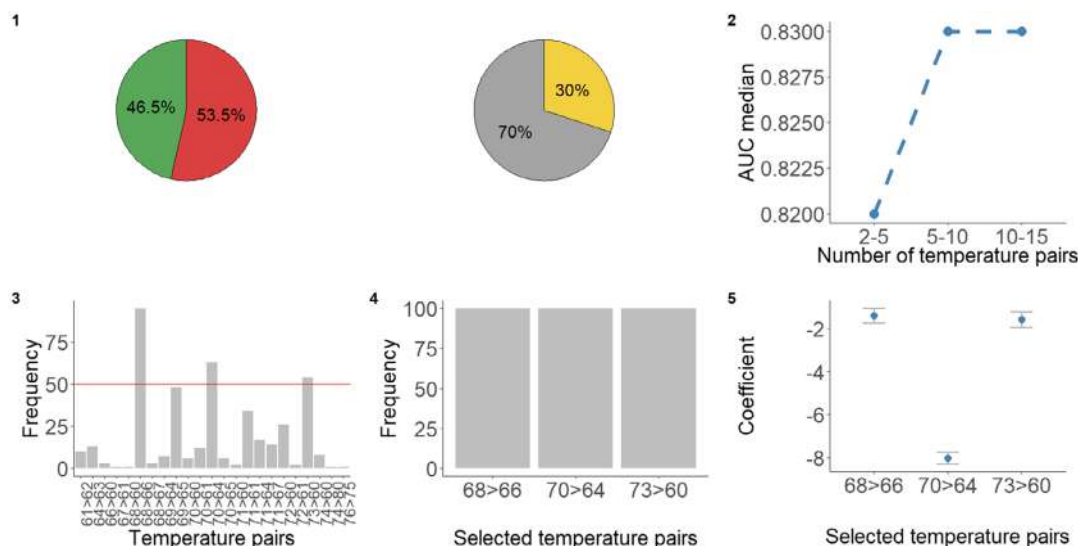


Figure 3. Step-by-step representation of the proposed machine-learning methodology for analyzing thermograms and obtaining a classification model (iTLB model). 1) Left panel: proportion of patients in each group (control subjects in green and PDAC patients in red); right panel: proportion from discovery cohort used for model training and test; 2) median AUC of the 100 test replicates in each temperature pair range. The objective is to determine the optimal number of temperature pairs (elbow method); 3) frequency of each temperature pair's selection in the 100 training replicates when applying the *ncvreg* function. Temperature pairs with a selection frequency higher than 50% over the 100 replicates, which are optimal for the next step; 4) frequency of the selected temperature pairs that passed the 50% cutoff criterion in the previous step in the 100 training replicates; and 5) mean, plus or minus two times the standard deviation, of the coefficients for each temperature pair that makes up the iTLB model.

the temperature pairs of the iTLB model (Figure 3(5)). Of the 100 trained and validated models, a mean AUC value of 0.83 (± 0.01) was obtained in the training groups and 0.83 (± 0.03) in the test groups.

3.3. iTLB Model

An iTLB model was obtained consisting of only three predictive variables (three pairs of temperatures for which there is a systematic C_p difference in the thermograms from the two groups), where the pair formed by temperatures 64 and 70 °C was clearly the one with the highest statistical weight for differentiating healthy subjects from PDAC patients (Figure 4A). Figure 4B shows the location of the three temperature pairs making the iTLB model along the mean thermogram of each group.

The iTLB model provided a numerical value or TLB index for each patient. In the test group, statistically significant differences were observed in the median TLB index between the healthy subject group ($-1.03 [-1.03;0.17]$) and the PDAC patient group ($1.46 [0.26;9.66]$) (Wilcoxon test: p -value < 0.001) (Figure 4C), with an AUC of 0.90 (95% CI = 0.85–0.96) (Figure 4D) in the test group.

To simplify the interpretation of the iTLB model and the TLB index, a cutoff point can be used, which has a standard value of zero. Individuals with TLB index < 0 are classified as healthy subjects, whereas individuals with TLB index > 0 are classified as disease subjects. According to the confusion matrix (Figure 4E), iTLB model had a better sensitivity and

negative predictive value than specificity and positive predictive value.

3.4. Patterns Obtained from the iTLB Model

Since dichotomous predictive variables were used, the TLB index (numerical result from the prediction model) could be considered as a discrete quantitative variable with 2^n possible outcome options (where “ n ” is the number of predictor variables). Therefore, a maximum of eight results were obtained. By grouping the thermograms of patients with the same TLB index and representing the mean thermograms in each group (control subjects and PDAC patients), several patterns and differences in them could be appreciated (Figure 5).

3.5. iTLB Model Applied to an External Cohort of PDAC Patients: Validation of the iTLB Model

An independent, additional cohort of 113 patients diagnosed with PDAC was used to assess the developed iTLB on an external validation group. Thermograms from these 113 PDAC patients were obtained, and the iTLB model was applied to obtain a TLB index for each patient. According to the standard cutoff of zero, if TLB index was greater than zero, the result was considered true positive, but if the TLB index was less than zero, the result was considered false negative. From 113 PDAC patients, 110 were true positive (TLB > 0) and 3 were false negative (TLB < 0). Or in other words, a sensitivity of 97.35% and a false negative rate of 2.65% were obtained.

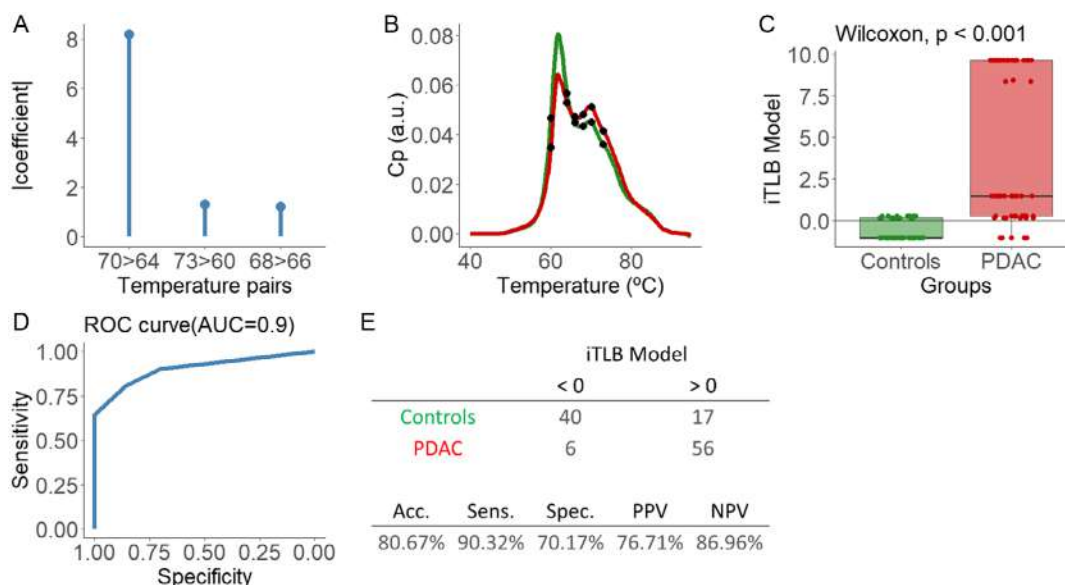


Figure 4. Results of the optimal iTLB model to differentiate the thermograms from healthy control subjects and from PDAC patients. A) Absolute value of the coefficients of the iTLB model in each of the predictor variables (three pairs of temperatures), with $X > Y$ representing each selected pair of temperatures, meaning that the difference $C_p(X) - C_p(Y)$ has systematically a different sign in the thermograms in the PDAC patient group compared to those in the control group; B) means of normalized thermograms in each group (healthy controls and PDAC patients) and the three relevant pairs of temperatures (shown in the x-axis in panel A) in the model are marked with black dots; C) TLB index for the individuals in the test group; D) area under the ROC curve of the iTLB model in the test group; and E) in the top part, contingency table for the test group using the standard cutoff of zero. The bottom part shows the performance indexes of the iTLB model. C_p : heat capacity; a.u.: arbitrary units; iTLB: intelligent thermal liquid biopsy; AUC: area under the ROC curve; Acc: accuracy; Sens: sensitivity; Spec: specificity; PPV: positive predictive value; and NPV: negative predictive value.

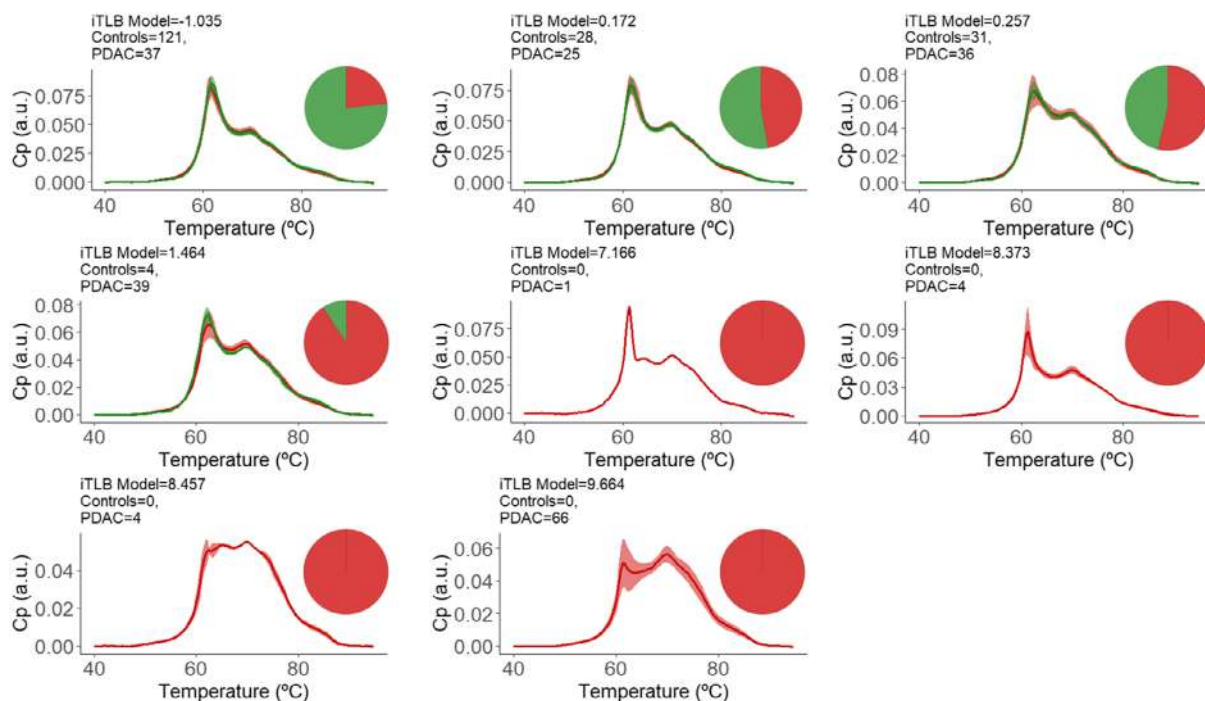


Figure 5. Thermogram patterns obtained after clustering the individuals according to their TLB index. The mean thermograms in each group (control subjects, in green, and PDAC patients, in red) are represented, with shaded area indicating the standard deviation. Each pattern includes the TLB index, the number of control subjects and PDAC patients corresponding to that pattern, and the proportion of control subjects and PDAC patients belonging to each pattern. C_p : heat capacity; a.u.: arbitrary units; PDAC: pancreatic ductal adenocarcinoma; and iTLB: intelligent thermal liquid biopsy.

4. Discussion

Pancreatic cancer is one of the deadliest and most aggressive cancers. Patients are often diagnosed in advanced stages due primarily to the lack of early symptoms, the absence of diagnostic tools with sufficient sensitivity and specificity for early-stage detection, and poor response to chemotherapeutic treatments. CA19.9 is the most commonly used biomarker in patients with PDAC, which is more notable for monitoring disease progression as an indicator of tumor burden rather than as a diagnostic tool, due to its low negative predictive value.

Given these challenges, pancreatic cancer is an area where the search for new complementary tools for patient management is particularly relevant. The pursuit of biomarkers in peripheral blood samples is a primary goal, given the ease, speed, and minimal invasiveness of such samples. However, the discovery of new biomarkers has become increasingly difficult. Advances in proteomics and interactome theories suggest that a set of proteins, rather than a single biomarker, may better explain the body's response to a disease. Therefore, new experimental integrative approaches with different biophysical bases should be considered. In this scenario, DSC emerges as a sound option for observing the proteome and peptidome and their interactions.

In our study, the differences observed in the DSC thermograms between PDAC patients and healthy controls may be attributable to several underlying biological mechanisms. The tumor microenvironment in PDAC is known to induce

considerable alterations in the serum proteome, reflecting both the systemic inflammatory response and the specific secretion of tumor-related proteins and metabolites. For instance, the presence of elevated levels of acute-phase proteins, such as C-reactive protein and serum amyloid A, as well as changes in the abundance and structure of carrier proteins like albumin, could result in the distinct thermal profiles observed.^[42] These proteins, due to their role in the response to malignancy, may form protein complexes or undergo posttranslational modifications,^[43] leading to altered thermal stability and denaturation profiles detectable by DSC. Additionally, the release of exosomes and other extracellular vesicles by PDAC cells, which contain a variety of proteins, nucleic acids, and metabolites, could further contribute to the unique thermal signatures seen in the serum of PDAC patients.^[44] These mechanisms underscore the potential of DSC as a tool for capturing complex and diverse proteomic alterations associated with PDAC.

The use of DSC with biological samples, i.e., TLB, has shown promise as a potential new complementary tool for diagnosis, monitoring, or prognosis of patients. However, the development of a standardized methodology for analyzing thermograms to differentiate between health/disease states represents a major challenge with TLB. Various groups have contributed with proposals reporting increasingly sophisticated methodologies thanks to bioinformatics advances, facilitating their application and interpretation.

This work reports a new methodology for TLB analysis that is easy to implement, interpret, and reproduce. This methodology

employs direct information from thermograms and ML tools, taking advantage of validated algorithms for other types of data, such as omics. The aim is to create a classification model that distinguishes, in this case, between thermograms of healthy control subjects and PDAC patients. The temperature range of 60–80 °C in the thermograms was considered as the main location for relevant changes between both groups, and the C_p value at each temperature (within the 60–80 °C interval) was used as a predictive variable, similar to other groups' approaches.^[34] The novel aspect of this methodology for thermogram data analysis is the search for a reduced set of specific temperature pairs containing the relevant information for discriminating between thermograms using the KTSP function. The model was adjusted using the *ncvreg* function, which selects relevant temperature pairs applying cross validation and an embedded classification algorithm with penalization. The use of penalized classification tools for thermogram data has been advocated to avoid overfitting.^[35]

The methodology comprises five simple steps, with some subjectivity degree when selecting the most frequent pairs standing out as predictive elements after many replicates within a randomized scheme (step 3). It is proposed to test several model options to achieve an optimal model without overfitting. The methodology was applied to a balanced population of 396 patients, divided into 184 healthy individuals and 212 PDAC patients, to obtain an iTLB classification model. Most PDAC patients were in advanced disease stages. Although this reflects the reality in pancreatic cancer diagnosis, it is advisable to expand the sample size and include more early-stage patients in a future work.

The TLB model developed consists of three pairs of temperatures that provide the relevant information for subject classification. Thus, the data analysis of the complete thermogram is reduced to compare the value of C_p at these three temperature pairs and it provides a unique real value, the TLB index. The model achieved a median AUC of 0.83 (± 0.01) in the training groups, and 0.83 (± 0.03) in the test groups, with significant differences between the TLB index in the healthy subjects group and the PDAC patients group. When training a model, balanced groups are recommended, but if not feasible, balanced training is essential. An unbalanced trained classification model is when one of the groups is more represented than the other category. This leads to biased model training to the detriment of the minority group, which usually contains the cases of greatest interest. For this reason, a balanced training is important to avoid these bias problems.

The interpretation of the TLB index is straightforward, consisting of a single value, for which a cutoff point can be applied to classify subjects. The standard cutoff is zero, so that negative TLB indexes correspond to individuals classified as healthy, and positive TLB indexes correspond to individuals classified as diseased (in this case, with PDAC). The sensitivity and specificity of the iTLB model are comparable to those for CA19.9, but with higher negative predictive value, around 80% for the iTLB model compared to 58% for CA19.9.

Since the iTLB classification model is based on dichotomous predictive variables, responses can be considered discrete quantitative. Under that perspective, different patterns were observed when comparing and grouping thermograms of individuals with the same TLB index. Specific profiles correspond to TLB indexes

exclusive to PDAC patients and are not found in healthy individuals. This “supervised clustering” is a novel approach in relation to thermogram results using biological samples.

In recent years, there has been growing interest in the use of nanoparticle–protein corona characterization as a novel approach for early PDAC detection. These methods involve the analysis of the protein corona that forms, through specific or unspecific interactions, when nanoparticles are incubated with biological fluids, such as serum. The composition of this corona may reflect the pathological state of an individual and serve as a highly sensitive diagnostic marker. For instance, recent studies have developed the nanoparticle-enabled blood test, providing a risk score based on the characterization of the protein corona, which shows potential as a first-level screening tool for PDAC.^[45–48] Along our own research, we have explored the use of nanoparticles incubated with serum to detect different signals indicative of disease presence, as demonstrated in our recent publication where we combined TLB and fluorescence spectroscopy to detect serum composition changes following bowel preparation for colonoscopy.^[49] Building on this, our ongoing work, which we plan to submit for publication shortly, introduces artificial intelligence (AI) tools for analyzing these complex datasets, further enhancing the diagnostic potential of these methods. Given these advancements, it would be intriguing to explore whether the DSC-based thermogram analysis could be integrated with nanoparticle–protein corona characterization and AI-driven data analysis. Such an integrated approach could enhance the sensitivity and specificity of PDAC detection by capturing multiple facets of the proteomic landscape associated with the disease.

The iTLB model was applied to an external cohort of 113 PDAC patients like validation cohort, where it was obtained a sensitivity similar to that of the discovery cohort. This result confirms the robustness of the iTLB model in PDAC patients. It is necessary to have an external healthy group to validate the iTLB model. The next step is to further apply this methodology to a larger sample to confirm the applicability of TLB in the diagnosis of PDAC using a group symptomatic patients without cancer or with pancreatic pathologies nonmalignant as a control group.

As a conclusion, a new methodology for analyzing thermograms of biological samples is proposed, using serum samples from healthy controls and PDAC patients as an example, to obtain a robust iTLB model based on ML tools that differentiates between these two groups. The results of the iTLB model demonstrate diagnostic capability, in terms of sensitivity and specificity, comparable to the tumor marker CA19.9, which is currently used in clinical settings. However, the iTLB model shows a higher negative predictive value. This finding opens the possibility of using the iTLB model as a complementary tool to improve the diagnosis of pancreatic cancer patients.

While the DSC-based methodology for early PDAC diagnosis shows considerable promise for diagnostic and patient monitoring, there are several limitations that should be acknowledged. First, the requirement for specialized equipment, such as a high-sensitivity DSC instrument, may limit the widespread adoption of this technique in routine clinical settings, particularly in resource-limited environments. Additionally, the interpretation of DSC thermograms necessitates expertise in both biophysical methods data analysis and ML tools, which may not be readily available in all clinical laboratories. Moreover, the current study

focused on the application of this methodology to PDAC; however, further research is needed to evaluate its applicability across other types of cancers and diseases, as well as in different scenarios and contexts. Another limitation is the retrospective nature of the study, which, although mitigated by the use of an independent validation cohort, still necessitates prospective studies to confirm the utility of this approach in a real-world clinical setting. Finally, while our method shows considerably high sensitivity, the potential for false positives, particularly in patients with inflammatory or benign pancreatic conditions, needs to be carefully evaluated in future studies to ensure the specificity of the approach.

Further studies are necessary to confirm these findings. The methodology should also be applied to other diseases and types of biological samples. It is also important to demonstrate that the incorporation of clinically used biomarkers into the iTLB model might improve the diagnosis, prognosis, or monitoring of some diseases. This approach may represent a significant advancement in personalized medicine, offering more accurate and tailored treatment strategies for patients.

Acknowledgements

This article is based upon work from COST Action “Identification of biological markers for prevention and translational medicine in pancreatic cancer (TRANSPAN),” CA21116, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology). The authors would like to express their heartfelt gratitude and acknowledge the foundational contributions of the late Dr. Jorge Luis Ojeda Cabrera, Ph.D. in mathematics and statistics, to this research. Although Dr. Ojeda Cabrera did not participate directly in the development of this article, it was his initial guidance and insightful perspectives on data analysis that set the groundwork for the methodology described herein. His legacy continues to inspire this work, and this publication is a testament to the profound impact he has had on this research journey. The authors dedicate this work to his memory.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Author Contributions

Sonia Hermoso-Duran: Conceptualization (equal); Data Curation (Equal); Formal Analysis (Equal); Investigation (Equal); Visualization (Equal); Writing—Original Draft (Equal); and Writing—Review and Editing (Equal). **Nicolas Fraunhofer:** Data Curation (Equal); Formal Analysis (Equal); Methodology (Equal); Writing—original draft (equal); and Writing—Review and Editing (equal). **Judith Millastre-Bocos:** Investigation (Equal); Resources (Equal); Writing—Original Draft (Supporting); and Writing—Review and Editing (Supporting). **Oscar Sanchez-Gracia:** Formal Analysis (Equal); Methodology (Supporting); Software (Equal); and Validation (Supporting). **Pablo F. Garrido:** Data Curation (Supporting); Formal Analysis (Supporting); Methodology (Supporting); and Software (Supporting); Validation (Supporting). **Sonia Vega:** Data Curation (Equal) and Investigation (Equal). **Ángel Lanás:** Project Administration (Supporting); Supervision (Supporting); and Writing—Review and Editing (Supporting). **Juan Iovanna:** Project Administration (Supporting); Supervision (Supporting); and Writing—Review and Editing (Supporting). **Adrian Velazquez-Campoy:** Conceptualization (Equal); Funding Acquisition (Equal); Investigation (Equal); Supervision (Equal); Writing—Original Draft (Equal); and Writing—Review and Editing (Equal). **Olga Abian:** Conceptualization

(Equal); Funding Acquisition (Equal); Project Administration (Equal); Resources (Equal); Supervision (Equal); Validation (Equal); Writing—Original Draft (Equal); and Writing—Review and Editing (Equal).

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

Keywords

biomarkers, diagnoses, machine-learning algorithms, pancreatic ductal adenocarcinomas (PDACs), thermal liquid biopsies (TLBs)

Received: April 17, 2024

Revised: August 21, 2024






Published online:

- [1] O. Partyka, M. Pajewska, D. Kwaśniewska, A. Czerw, A. Deptała, M. Budzik, E.ż. Cipora, I. Gąska, L. Gazdowicz, A. Mielnik, K. Sygit, M. Sygit, E. Krzych-Falta, D. Schneider-Matyka, S. Grochans, A. M. Cybulska, J. Drobnik, E. Bandurska, W. Cieccko, P. Ratajczak, K. Kamecka, M. Marczak, R. Kozłowski, *Cancers* **2023**, *15*, 3634.
- [2] M. Korc, C. Y. Jeon, M. Edderkaoui, S. J. Pandol, M. S. Petrov, *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **2017**, *31*, 529.
- [3] G. Lippi, C. Mattiuzzi, *Arch. Med. Sci.* **2020**, *16*, 820.
- [4] G. Gheorghe, S. Bungau, M. Ilie, T. Behl, C. M. Vesa, C. Brisc, N. Bacalbasa, V. Turi, R. S. Costache, C. C. Diaconu, *Diagnostics* **2020**, *10*, 869.
- [5] A. Di Federico, V. Tateo, C. Parisi, F. Formica, R. Carloni, G. Frega, A. Rizzo, D. Ricci, M. Di Marco, A. Palloni, G. Brandi, *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 677.
- [6] D. Casado, R. V. Tocino, E. Fonseca, B. Cigarral, B. Barrios, E. Escalera, J. Claros, L. Figuero, A. Olivares, Á. López, E. Terán, J. J. Cruz, *Med. - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* **2021**, *13*, 1345.
- [7] S. C. Lindgaard, Z. Sztupinszki, E. Maag, I. M. Chen, A. Z. Johansen, B. V. Jensen, S. E. Bojesen, D. L. Nielsen, C. P. Hansen, J. P. Hasselby, K. R. Nielsen, Z. Szallasi, J. S. Johansen, *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 2592.
- [8] L. D. Mellby, A. P. Nyberg, J. S. Johansen, C. Wingren, B. G. Nordestgaard, S. E. Bojesen, B. L. Mitchell, B. C. Sheppard, R. C. Sears, C. A. K. Borrebaeck, *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, 2887.
- [9] M. B. Amin, S. B. Edge, F. L. Greene, R. L. Schilsky, L. E. Gaspar, M. K. Washington, et al., *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed., Springer International Publishing, New York **2017**, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-40618-3>.
- [10] N. C. Garbett, M. L. Merchant, C. W. Helm, A. B. Jenson, J. B. Klein, J. B. Chaires, J. M. Sanchez-Ruiz, *PLoS One* **2014**, *9*, e84710.
- [11] N. C. Garbett, C. S. Mekmaysy, C. W. Helm, A. B. Jenson, J. B. Chaires, *Exp. Mol. Pathol.* **2009**, *86*, 186.
- [12] N. C. Garbett, J. J. Miller, A. B. Jenson, J. B. Chaires, *Semin. Nephrol.* **2007**, *27*, 621.
- [13] M. Zhou, D. A. Lucas, K. C. Chan, H. J. Issaq, E. F. Petricoin, L. A. Liotta, T. D. Veenstra, T. P. Conrads, *Electrophoresis* **2004**, *25*, 1289.
- [14] M. Vidal, M. E. Cusick, A.-L. Barabási, *Cell* **2011**, *144*, 986.
- [15] J. Menche, A. Sharma, M. Kitsak, S. D. Ghiassian, M. Vidal, J. Loscalzo, A.-L. Barabási, *Science* **2015**, *347*, 1257601.

- [16] N. C. Garbett, J. J. Miller, A. B. Jenson, J. B. Chaires, *Biophys. J.* **2008**, 94, 1377.
- [17] S. Krumova, S. Todinova, S. G. Taneva, *Cancers* **2022**, 14, 3884.
- [18] S. Todinova, S. Krumova, L. Gartcheva, C. Robeerst, S. G. Taneva, *Anal. Chem.* **2011**, 83, 7992.
- [19] I. Zapf, T. Fekecs, A. Ferencz, G. Tizedes, G. Pavlovics, E. Kálmán, D. Lőrinczy, *Thermochim. Acta* **2011**, 524, 88.
- [20] Z. Szalai, T. F. Molnár, D. Lőrinczy, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2013**, 113, 259.
- [21] M. Mehdi, T. Fekecs, I. Zapf, A. Ferencz, D. Lőrinczy, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2013**, 111, 1801.
- [22] N. C. Garbett, M. L. Merchant, J. B. Chaires, J. B. Klein, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2013**, 1830, 4675.
- [23] M. Moezzi, A. Ferencz, D. Lőrinczy, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2014**, 116, 557.
- [24] N. A. Kim, J. H. Jin, K.-H. Kim, D. G. Lim, H. Cheong, Y. H. Kim, W. Ju, S. C. Kim, S. H. Jeong, *Arch. Pharmacol. Res.* **2016**, 39, 668.
- [25] I. Zapf, M. Moezzi, T. Fekecs, K. Nedvig, D. Lőrinczy, A. Ferencz, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2016**, 123, 2029.
- [26] A. Ferencz, I. Zapf, D. Lőrinczy, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2016**, 126, 55.
- [27] Z. Szalai, T. F. Molnár, D. Lőrinczy, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, 127, 1231.
- [28] A. Ferencz, D. Lőrinczy, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, 127, 1187.
- [29] A. Michnik, E. Sadowska-Krępa, J. Cholewa, I. Schisler, A. Kielboń, Z. Drzazga, *Thermochim. Acta* **2018**, 662, 64.
- [30] D. Lőrinczy, M. Moezzi, A. Ferencz, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2020**, 142, 789.
- [31] D. Lőrinczy, A. Ferencz, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2020**, 142, 1243.
- [32] S. Brudar, U. Černigoj, H. Podgornik, M. Kržan, I. Prislan, *Acta Chim. Slov.* **2017**, 64, 564.
- [33] D. J. Fish, G. P. Brewood, J. S. Kim, N. C. Garbett, J. B. Chaires, A. S. Benight, *Biophys. Chem.* **2010**, 152, 184.
- [34] S. Rai, S. Pan, S. Cambon, S. Chaires, S. Garbett, *Open Access Med. Stat.* **2013**, 3, 1.
- [35] N. C. Garbett, G. N. Brock, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2016**, 1860, 981.
- [36] S. K. Kendrick, Q. Zheng, N. C. Garbett, G. N. Brock, Y. Barenholz, *PLoS One* **2017**, 12, 0186232.
- [37] N. C. Garbett, G. N. Brock, J. B. Chaires, C. S. Mekmaysy, L. Deleeuw, K. L. Sivils, J. B. Harley, B. H. Rovin, K. B. Kulasekera, W. N. Jarjour, X. Zhou, *PLoS One* **2017**, 12, 0186398.
- [38] S. N. Rai, S. Srivastava, J. Pan, X. Wu, S. P. Rai, C. S. Mekmaysy, L. Deleeuw, J. B. Chaires, N. C. Garbett, J. M. Sanchez-Ruiz, *PLoS One* **2019**, 14, 0220765.
- [39] N. Caballé-Cervigón, J. L. Castillo-Sequera, J. A. Gómez-Pulido, J. M. Gómez-Pulido, M. L. Polo-Luque, *Appl. Sci.* **2020**, 10, 5135.
- [40] P. Singh, N. Singh, K. K. Singh, A. Singh, *Machine Learning and the Internet of Medical Things in Healthcare*, Elsevier, London **2021**, pp. 89–111, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821229-5.00003-3>.
- [41] B. Afsari, E. J. Fertig, D. Geman, L. Marchionni, *Bioinformatics* **2015**, 31, 273.
- [42] D. Caputo, A. Coppola, E. Quagliarini, R. Di Santo, A. L. Capriotti, R. Cammarata, A. Laganà, M. Papi, L. Digiaco, R. Coppola, D. Pozzi, G. Caracciolo, *Cancers* **2022**, 14, 4658.
- [43] S. Pan, R. Chen, *Mol. Aspects Med.* **2022**, 86, 101097.
- [44] A. Nicoletti, M. Negri, M. Paratore, F. Vitale, M. E. Ainora, E. C. Nista, A. Gasbarrini, M. A. Zocco, L. Zileri Dal Verme, *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, 24, 885.
- [45] R. Di Santo, L. Digiaco, E. Quagliarini, A. L. Capriotti, A. Laganà, R. Zenezini Chiozzi, D. Caputo, C. Cascone, R. Coppola, D. Pozzi, G. Caracciolo, *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, 8, 491.
- [46] M. Papi, G. Caracciolo, *Nano Today* **2018**, 21, 14.
- [47] M. Papi, V. Palmieri, L. Digiaco, F. Giulimondi, S. Palchetti, G. Ciasca, G. Perini, D. Caputo, M. C. Cartillone, C. Cascone, R. Coppola, A. L. Capriotti, A. Laganà, D. Pozzi, G. Caracciolo, *Nanoscale* **2019**, 11, 15339.
- [48] L. Digiaco, E. Quagliarini, D. Pozzi, R. Coppola, G. Caracciolo, D. Caputo, *Cancers* **2023**, 15, 2983.
- [49] S. Hermoso-Durán, M. J. Domper-Arnal, P. Roncales, S. Vega, O. Sanchez-Gracia, J. L. Ojeda, Á. Lanás, A. Velazquez-Campoy, O. Abian, *Cancers* **2023**, 15, 1952.

Article

Thermal Liquid Biopsy (TLB) Focused on Benign and Premalignant Pancreatic Cyst Diagnosis

Sonia Hermoso-Durán ^{1,2,†} , Guillermo García-Rayado ^{1,3,4,†}, Laura Ceballos-Laita ^{1,2} , Carlos Sostres ^{1,3,4},
Sonia Vega ², Judith Millastre ^{1,3}, Oscar Sánchez-Gracia ⁵, Jorge L. Ojeda ⁶, Ángel Lanás ^{1,3,4,7} ,
Adrián Velázquez-Campoy ^{1,2,4,8,9,*}  and Olga Abian ^{1,2,4,8,10,*} 

- ¹ Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, Spain; shermosod@gmail.com (S.H.-D.); guillermogarcia7@hotmail.com (G.G.-R.); ceballos.laita@gmail.com (L.C.-L.); carlossostres@gmail.com (C.S.); millastrej@gmail.com (J.M.); alanas@unizar.es (Á.L.)
 - ² Joint Units IQFR-CSIC-BIFI, and GBsC-CSIC-BIFI, Institute of Biocomputation and Physics of Complex Systems (BIFI), Universidad de Zaragoza, 50018 Zaragoza, Spain; svega@bifi.es
 - ³ Servicio de Digestivo, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (HCULB), 50009 Zaragoza, Spain
 - ⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red en el Área Temática de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), 28029 Madrid, Spain
 - ⁵ SOTER BioAnalytics, Enrique Val, 50011 Zaragoza, Spain; oscar.sanchez.gracia@gmail.com
 - ⁶ Department of Statistical Methods, Universidad de Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain; jojeda@unizar.es
 - ⁷ Department of Medicine, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain
 - ⁸ Fundación ARAID, Gobierno de Aragón, 50009 Zaragoza, Spain
 - ⁹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain
 - ¹⁰ Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), 50009 Zaragoza, Spain
- * Correspondence: adrianvc@unizar.es (A.V.-C.); oabifra@unizar.es (O.A.); Tel.: +34-976-762996 (A.V.-C.); +34-876-555417 (O.A.)
- † S.H.-D. and G.G.-R. contributed equally to this work and are both first authors of the manuscript.



Citation: Hermoso-Durán, S.; García-Rayado, G.; Ceballos-Laita, L.; Sostres, C.; Vega, S.; Millastre, J.; Sánchez-Gracia, O.; Ojeda, J.L.; Lanás, Á.; Velázquez-Campoy, A.; et al. Thermal Liquid Biopsy (TLB) Focused on Benign and Premalignant Pancreatic Cyst Diagnosis. *J. Pers. Med.* **2021**, *11*, 25. <https://doi.org/10.3390/jpm11010025>

Received: 9 December 2020
Accepted: 29 December 2020
Published: 31 December 2020

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: Current efforts in the identification of new biomarkers are directed towards an accurate differentiation between benign and premalignant cysts. Thermal Liquid Biopsy (TLB) has been previously applied to inflammatory and tumor diseases and could offer an interesting point of view in this type of pathology. Methods: In this work, twenty patients (12 males and 8 females, average ages 62) diagnosed with a pancreatic cyst benign (10) and premalignant (10) cyst lesions were recruited, and biological samples were obtained during the endoscopic ultrasonography procedure. Results: Proteomic content of cyst liquid samples was studied and several common proteins in the different groups were identified. TLB cyst liquid profiles reflected protein content. Also, TLB serum score was able to discriminate between healthy and cysts patients (71% sensitivity and 98% specificity) and between benign and premalignant cysts (75% sensitivity and 67% specificity). Conclusions: TLB analysis of plasmatic serum sample, a quick, simple and non-invasive technique that can be easily implemented, reports valuable information on the observed pancreatic lesion. These preliminary results set the basis for a larger study to refine TLB serum score and move closer to the clinical application of TLB providing useful information to the gastroenterologist during patient diagnosis.

Keywords: pancreatic cysts; thermal liquid biopsy; differential scanning calorimetry; diagnosis; generalized linear models

1. Introduction

During recent years, the detection of pancreatic cysts has become more frequent due to improvements in abdominal imaging techniques. The incidence of this pathology is approximately 2% in the adult population [1]. Computed tomography (CT) scans are reported detection between 1.2% and 2.6%, and magnetic resonance imaging (MRI) has even a higher detection capability, ranging between 13.5% and 19.9% [1,2]. The management of

these incidentally detected pancreatic cysts is still a challenge, because, even though the risk of being malignant is low, the prognosis in case of pancreatic adenocarcinoma and intraductal papillary mucinous neoplasms- (IPMN)-related pancreatic adenocarcinoma is very poor and has not improved recently [3]. Thus, distinguishing between benign and malignant cysts is difficult, and very often requires surgical intervention with considerable morbidity and mortality. Since 2005, some guidelines have been published and updated: the American Society for Gastrointestinal Endoscopy [4], international consensus guidelines by the International Association of Pancreatology (Sendai guidelines) [5], the American College of Gastroenterology [6], and the International Association of Pancreatology (Fukuoka guidelines) [7,8]. More recently, The European Study Group on Cystic Tumors of the Pancreas published an update, replacing the 2013 European Consensus Statement Guidelines [9].

From a clinical point of view, the classification according to the prognosis of the lesion is: (1) cysts with malignant potential (mucinous), (2) cysts without malignant potential, and (3) malignancies. However, most studies provide a description of biomarkers for differentiating the mucinous and non-mucinous type of cysts. The non-mucinous group comprises serous cystadenomas (SCAs) (the most common type), pancreatic pseudocysts (PCs), and a variety of rare cysts (benign epithelial, lymphoepithelial, congenital, and squamoid cysts). Most are found incidentally and none of them represents a risk for becoming malignant [10]. On the contrary, the mucinous group, including mucinous cystic neoplasms (MCNs) and IPMNs, constitutes the majority of neoplastic premalignant cysts identified in the pancreas, and a precise diagnosis technique would be vital for the management of patients [11]. The development of techniques with greater pre-surgical diagnostic precision would make it possible to avoid the morbidity and mortality associated with a high-risk intervention when it is not strictly necessary, as well as reduce the healthcare overload derived from unnecessary outpatient follow-up in cystic lesions without the potential for malignancy.

Cystic fluid markers become especially relevant when transabdominal ultrasonography, CT or MRI are inconclusive. In these cases, it is necessary to employ another risk predictor to indicate surgery as the most appropriate treatment given the estimated risk.

The presence of amylase at high concentration in cyst fluid indicates that there is a communication between the cyst and the ductal system. This occurs in both pseudocysts and IPMN lesions. When amylase levels are lower than 250 U/L, communication with the conduct can be discarded, with a specificity of 98% [12]. However, amylase value alone is not enough to differentiate between mucinous/non-mucinous or MCN/IPMN, which is important from the point of view of patient management, in deciding whether surgical resection or cyst time-monitoring is recommended [13]. A previous episode of pancreatitis can be of help in distinguishing a pseudocyst from an IPMN lesion (occasionally related to pancreatitis) [14].

Carcinoembryonic antigen (CEA) is also employed as a biomarker. This is a set of highly related glycoproteins involved in cell adhesion, mucin being one of them. It can be used to distinguish between cysts with (MCNs and IPMNs) and without (SCAs and PCs) mucinous epithelium [10]. The major inconvenience of CEA is the absence of an appropriate cutoff value [12]. The current accepted value to classify a cyst as mucinous is CEA > 192 ng/mL [15].

In order to improve diagnosis, studies related to the identification of new biomarkers in cystic fluid or serum have been recently reported [16–21].

In 2007 Chaires et al. [22] described the application of differential scanning calorimetry (DSC) in diagnosis using plasma/serum samples from cancer patients. Since then, many studies have confirmed the potential clinical use of this technique, not only applied to plasma/serum [23–30], but also to other biological human samples such as cerebrospinal fluid [31,32]. In 2018 our group coined the name “thermal liquid biopsy” (TLB) for DSC applied to cancer diagnosis and cancer patient’s treatment monitoring [33,34]. The TLB thermogram reports the global denaturation profile for all the proteins present in the serum/plasma sample and the influence of potential interactions between blood plasma

proteins and metabolites, therefore reflecting any alteration induced by a certain disease. As in the case of plasma or serum, cystic fluid is also composed of a mixture of proteins and TLB may also be applied as a clinical diagnosis tool. In this work, the potential of TLB as a clinical biomarker for cyst classification has been pursued. In this pilot study, 20 cyst fluid samples were analyzed and their TLB cyst profiles were obtained, with the purpose of finding a correlation between the TLB thermogram and the type of cyst. The proteomic analysis also allowed a description of the more abundant proteins in the cyst fluid, as well as the post-translational modifications present in those proteins. TLB was also applied to serum samples in some of the patients, and TLB serum profile differences between groups was studied to try to determine whether or not differences observed in cyst fluid TLB correlated with serum TLB. This would be extremely important because, in case cyst features are reflected in certain serum alterations, a simple and risk-free plasma/serum TLB analysis could be employed for cyst diagnosis/classification. Despite the low number of samples considered in this pilot study, different patterns in cyst fluid and plasma from patients with pathology could be observed.

2. Materials and Methods

2.1. Subjects and Samples

Cyst liquid and serum samples from patients with cystic lesions in the pancreas detected by transabdominal ultrasonography or CT or MRI were referred to the Department of Digestive Endoscopy at the Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (HCULB), Zaragoza, Spain, between January 2016 and September 2018. The procedure was in accordance with the recommendations of the local ethics committee and all patients gave their informed consent. Pancreatic cystic fluids were collected by EUS-guided fine needle aspiration (FNA). The EUS-FNA procedure was performed with an Olympus® 140 curvilinear echo-endoscope. Boston Scientific™ Expect® 19 or 22-gauge needles were used depending on the cystic endosonographic features. We noted the characteristics of the aspirated cystic fluid: volume, color, and viscosity. The majority of the fluid was examined by the same cytopathologist for every patient and the rest (at least 1 mL Eppendorf for each patient) was collected for detection of biochemical markers, DSC measurements, and proteomic studies described in this manuscript. The collected cystic fluid samples were then stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until they were prepared for analysis.

Serum samples from healthy subjects as control group (HC) consisted of 85 serum samples from Spanish Caucasian subjects, apparently cancer-free, from the FISABIO (Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana) biobank with a homogeneous distribution, including gender (53% men and 47% women), with an average age of 45.2 ± 14.2 .

2.2. Thermal Liquid Biopsy (TLB) Profile Determination

DSC thermograms were measured using a high-sensitivity differential scanning VP-DSC microcalorimeter (MicroCal, Malvern-Panalytical, Malvern, UK). Cystic liquid samples, serum samples, and reference solutions were properly degassed and carefully loaded into the cells to avoid bubble formation. The baseline of the instrument was routinely recorded before the experiments. Experiments were performed in cystic liquid samples (diluted 1:10 in phosphate buffered saline, PBS) and serum samples (diluted 1:25 in PBS) at a scanning rate of $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Thermograms were baseline-corrected and analyzed using software developed in our laboratory implemented in Origin 7 (OriginLab, Northampton, MA, USA).

2.3. Data Analysis

We have developed a phenomenological model in which the TLB serum thermogram is deconvoluted into several individual transitions, modeling each individual transition by the logistic peak or Hubbert function [30,33]. This model has been successfully applied in the analysis of serum samples from melanoma and gastric and lung cancer patients [30,34,35].

From this multiparametric analysis, a TLB serum score (between 0 and 1) can be calculated reporting the level of alterations in plasma (TLB serum score < 0.5, absence of alterations; TLB serum score > 0.5, presence of alterations).

The Kolmogorov-Smirnov test was performed to assess the normal distribution of the variables. Medians between two independent groups were compared with the Wilcoxon test, in non-normal distributions. Averages between two independent groups were compared with the *t*-test, in normal distributions.

2.4. Protein Sample Preparation and Protein Identification and Quantification by Mass Spectrometry

Protein concentration: Measured by Bradford protein assay (Bio-Rad, Madrid, Spain) using purified bovine serum albumin (BSA) (10 mg/mL, New England BioLabs, EYRY cedex, France) in PBS as standard. Absorbance at 595 nm of two dilutions from each serum sample was measured in triplicate in a Synergy HT multimode microplate reader (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA).

In solution digestion: Samples were evaporated and resuspended in 10 µL of denaturing buffer (6 M urea, 100 mM Tris buffer pH 7.8). Next, cysteines were reduced with 1.5 µL DTT (200 mM) for 30 min at 37 °C and alkylated with 6 µL of iodoacetamide (200 mM) for 30 min in the dark. Unreacted iodoacetamide was consumed adding 6 µL of the reducing agent (200 mM DTT) for 30 min at room temperature. Samples were diluted with 50 mM ammonium bicarbonate to a urea final concentration lower than 1 M. Trypsin digestion (Gold Trypsin, Promega, Madison, WI, USA) was carried out overnight at 37 °C at a 1:20 enzyme/protein ratio. Reaction was stopped adding concentrated formic acid (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Samples were evaporated, resuspended in 2% acetonitrile (ACN), 0.1% formic acid, and filtered through 0.45 µm filters.

Protein identification by LC-ESI-MS/MS: Protein identification was performed on a nano-LC 2D system (LC 425, Eksigent Ekspert TM, Dublin, CA, USA) coupled to a hybrid triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometer (4000 QTRAP, Sciex, Foster City, CA, USA). On-line pre-concentration and desalting of samples was performed using a C18 trap cartridge (Luna[®] 0.3 mm id, 20 mm, 5 µm particle size, Phenomenex, CA, USA) at 10 µL/min for 5 min. Peptide separation was performed using a C18 column (Gemini[®] 0.3 mm id, 150 mm, 3 µm particle size, Phenomenex, CA, USA), at 5 µL/min of flow rate. Column was maintained at 35 °C. The elution gradient was from 5 to 35% ACN (0.1% formic acid) in 90 min. The mass spectrometer was interfaced with an ESI source (Turbo VTM) using a 25 µm ID hybrid electrode and was operated in the positive ion mode. MS source parameters were as follows: capillary voltage 5000 V, de-clustering potential (DP) 85 V and curtain and ion source gas (Nitrogen) 15 psi. Analyses were performed using an information dependent acquisition (IDA) method with the following steps: single enhanced mass spectra (EMS, 400–1400 *m/z*) from which the 5 most intense peaks were subjected to an enhanced product ion [EPI (MS/MS)] scan. Protein identification was carried out using the Mascot search engine (Matrix Science; London, UK) and the non-redundant SwissProt database (553,655 sequences; 198,177,566 residues). Search parameters were monoisotopic mass accuracy, peptide mass tolerance ±0.5 Da, fragment mass tolerance ±0.3 Da; one allowed missed cleavage; allowed fixed modification carbamido-methylation (Cys), and variable modification oxidation (Met). Positive identification was assigned with Mascot scores above the threshold level (*p* < 0.05), with at least two identified peptides with a score above homology.

Protein SDS electrophoresis: Samples mixed with NuPAGE LDS Sample buffer (Invitrogen), and heated at 95 °C for 4 min, were analysed by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) using 10% acrylamide resolving gels and 4% acrylamide stacking gels (Bio-Rad). The gels were fixed with a mixture of ethanol, acetic acid, and deionized water (40:10:50) for 1 h. After washing in water for 5 min, the gels were stained with Coomassie Brilliant Blue R250 (0.1% in 25% methanol, 10% acetic acid) and de-stained by incubation in 30% acetic acid and 20% methanol. Molecular weights were estimated by comparison with the migration rates of standard proteins (Bio-Rad).

3. Results

3.1. Clinical Sample Description

Patients who underwent endoscopic ultrasonography procedure were included in this work. A total of 20 subjects, 60 and 40% men and women, respectively, with an average age of 62 ± 13 years.

Based on imaging and cytopathology, the pancreatic cysts were classified into different categories (Table 1).

Table 1. Patient Description.

| | Type of Cyst | | | | | | Non-Cyst Malignant Lesions | Total (n = 20) |
|---------------|--------------|--------------|------------|---------------|--------------|-------------|----------------------------|----------------|
| | Benign | | | Pre-Malignant | | | | |
| | PC (n = 5) | WOPN (n = 3) | SC (n = 1) | LYM (n = 1) | IPMN (n = 7) | MCN (n = 1) | PDAC (n = 2) | |
| Age (years) * | 63 ± 10 | 62 ± 10 | 72 ± 0 | 52 ± 0 | 72 ± 13 | 42 ± 0 | 40 ± 2 | 62 ± 13 |
| Male/female % | 80/20 | 67/33 | 100/0 | 0/100 | 71/29 | 0/100 | 0/100 | 60/40 |

* Average ± standard deviation (sd) PC = pseudocyst; WOPN = Walled-off pancreatic necrosis; IPMN = intraductal papillary mucinous neoplasm; SC= Serous Cyst; MCN= Mucinous Cystadenoma; LYM= lymphocele; PDAC= Pancreatic Ductal Adenocarcinoma.

Clinical information of the samples is detailed in Table 2. All the cysts were between 2 and 15 cm in size and they were located in any region in the pancreas. According to clinical data (amylase and CEA concentrations), samples were divided in two groups: benign cysts (PC, WOPN and SC) and premalignant cysts (IPMN and MCN). There are two samples that turned out not to be cysts, but malignant lesions (PDAC).

Table 2. Clinical Cyst Sample Description.

| Group | Name | Localization in the Pancreas | Cyst Size (cm) | Amylase (U/L) | CEA (ng/mL) | Final Clinical Diagnosis |
|----------------------------|--------|------------------------------|----------------|---------------|----------------------|--|
| Benign Cysts | PC1 | Body | 5.5 | >11,000.0 | 9.23 | Pseudocyst (In Acute Pancreatitis Context) |
| | PC2 | Head | 4.1 | >11,000.0 | 64.2 | Pseudocyst |
| | PC3 | Head | 3.5 | 5635.0 | 68.4 | Pseudocyst |
| | PC4 | Body | 15.0 | nd | nd | Pseudocyst (In Acute Pancreatitis Context) |
| | PC5 | Head | 3.0 | >11,000.0 | 28.8 | Pseudocyst (In Chronic Pancreatitis Context) |
| | WOPN1 | Tail | 6.4 | >11,000.0 | 2.4 | Walled-off pancreatic necrosis |
| | WOPN2 | Head | 10.0 | >11,000.0 | 2.0 | Walled-off pancreatic necrosis |
| | WOPN3 | Body | 4.0 | >11,000.0 | 50.0 | Walled-off pancreatic necrosis |
| | SC1 | Body | 5.0 | 41.0 | 0.7 | Serous Cyst |
| LYM | Head | 4.9 | 24.0 | 0.8 | Lymphocele | |
| Pre-Malignant Cysts | IPMN1 | Body | 2.6 | >11,000.0 | 489.2 | Branch duct IPMN |
| | IPMN2 | Head, Body, Tail | 2.0 | 162.0 | 1488.0 | Main duct IPMN |
| | IPMN3 | Head | 2.3 | >11,000.0 | 156.0 | Branch duct IPMN |
| | IPMN4 | Head | 2.5 | >11,000.0 | 556.0 | Branch duct IPMN |
| | IPMN5 | Isthmus | 3.5 | >11,000.0 | 225.0 | Mixed Branch and Main duct IPMN |
| | IPMN 6 | Head | 3.0 | 10.0 | 392.0 | Main Duct IPMN with pancreatic extension |
| | IPMN 7 | Head, Body, Tail | 3.5 | 4.0 | >50,000.0 | Main Duct IPMN with pancreatic extension |
| MCN1 | Body | 3.3 | 3401.0 | 1617.0 | Mucinous Cystadenoma | |
| Non-Cyst Malignant Lesions | PDAC 1 | Body, Tail | 8.0 | nd | nd | Pancreatic Ductal Adenocarcinoma |
| | PDAC 2 | Head | 0.5 | >11,000.0 | 1192.0 | Pancreatic Ductal Adenocarcinoma |

nd = not determined: Amylase < 250 U/L, communication with the conduct can be discarded; CEA > 192 ng/mL to classify a cyst as mucinous.

Pancreatic pseudocysts (PC) are pockets of fluid, common sequelae of acute pancreatitis or chronic pancreatitis. PCs are important in terms of management and differentiation from other cystic processes or masses in this region. According to the updated Atlanta

classification [36], there are two main groups of mature-well defined fluid collections associated with acute pancreatitis: A/Fluid collections in interstitial edematous pancreatitis (PC), and B/Fluid collections in necrotizing pancreatitis (WOPN). Both PC and WOPN were considered benign cysts. From our PC samples, PC 1 and 4 were in the context of acute pancreatitis, and PC 5 was in the context of chronic pancreatitis. The WOPN cysts had the biggest size, between 3 and 15 cm. Both types of pancreatic collections (PC and WOPN) were amylase positive (above 250 U/L) and CEA negative (below 192 ng/mL).

Serous cysts (SC) are benign neoplasms composed of numerous small cysts that are arrayed in a honeycomb-like formation and most individual cysts are typically <10 mm.

Lymphocele (LYM), also known as cystic lymphangioma, is a rare disease. There are no typical clinical manifestations, and most patients were diagnosed incidentally during imaging or surgery. Therefore, diagnosis is challenging. Surgical resection is still considered as the most effective approach for lymphocele, and prognosis is favorable. In our study, SC and Lym were 5 cm in size, and amylase and CEA negative.

Intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMN) are epithelial pancreatic cystic tumors of mucin-producing cells that arise from the pancreatic ducts. They are most commonly seen in elderly patients, with sex distribution roughly balanced, a possible slight male predominance. IPMNs are slow growing tumors that have malignant potential and distinct variants have been described: main duct (IPMN 6 and 7), branch duct (IPMN 1, 3 and 4), and mixed branch and main duct (IPMN 2 and 5). Main duct IPMNs have a very high rate of malignancy (up to 70% in reported surgical series [8]); for this reason, the usual recommendation is surgical removal of the affected portion of the pancreas. Branch duct IPMNs are cystic neoplasms of the pancreas that have malignant potential and their management is challenging; the risk of surgery must be carefully weighed against the risk of malignancy when deciding on surgical removal or surveillance. This is the reason why great efforts are taken to distinguish mucinous cysts from other cyst lesions (specially, main duct IPMNs). All IPMNs are considered as premalignant cysts. They had the smallest size, between 2 and 3.5 cm. Four were amylase positive (above 250 U/L) and all were CEA positive (above 192 ng/mL or very closed in case of IPMN3 with 156 ng/mL).

Mucinous Cystadenoma (MCN) is another type of mucinous cystic neoplasm of the pancreas, traditionally considered typical of middle age females. MCN1 was 3 cm in size, amylase and CEA positive.

3.2. Analysis of TLB from Cystic Liquid Samples

TLB thermograms of 20 cystic fluid samples were obtained. Protein concentrations and dilutions could be considered, but in this case TLB curves were normalized according to their area under the curve values (AUC); therefore, signals from the different samples can be compared and uncertainties in protein concentration (inherent to colorimetric methods) are avoided. TLB cyst profiles clustered according to their clinical assessment (benign or premalignant nature) are represented in Figure 1.

Regarding the benign cystic group, the WOPN group exhibited a very similar cyst thermogram profile with two peaks at 65 and 82 °C. We can easily distinguish this group from the other benign cysts (Figure 2A). PC5 is the only PC lacking the 85 °C peak, and it is the only PC in a chronic pancreatitis context.

In the premalignant cyst group, branch duct IPMNs (IPMN1, IPMN3 and IPMN4) exhibited a similar profile (Figure 2C). Main duct IPMNs (IPMN6 and IPMN7) exhibited a single peak.

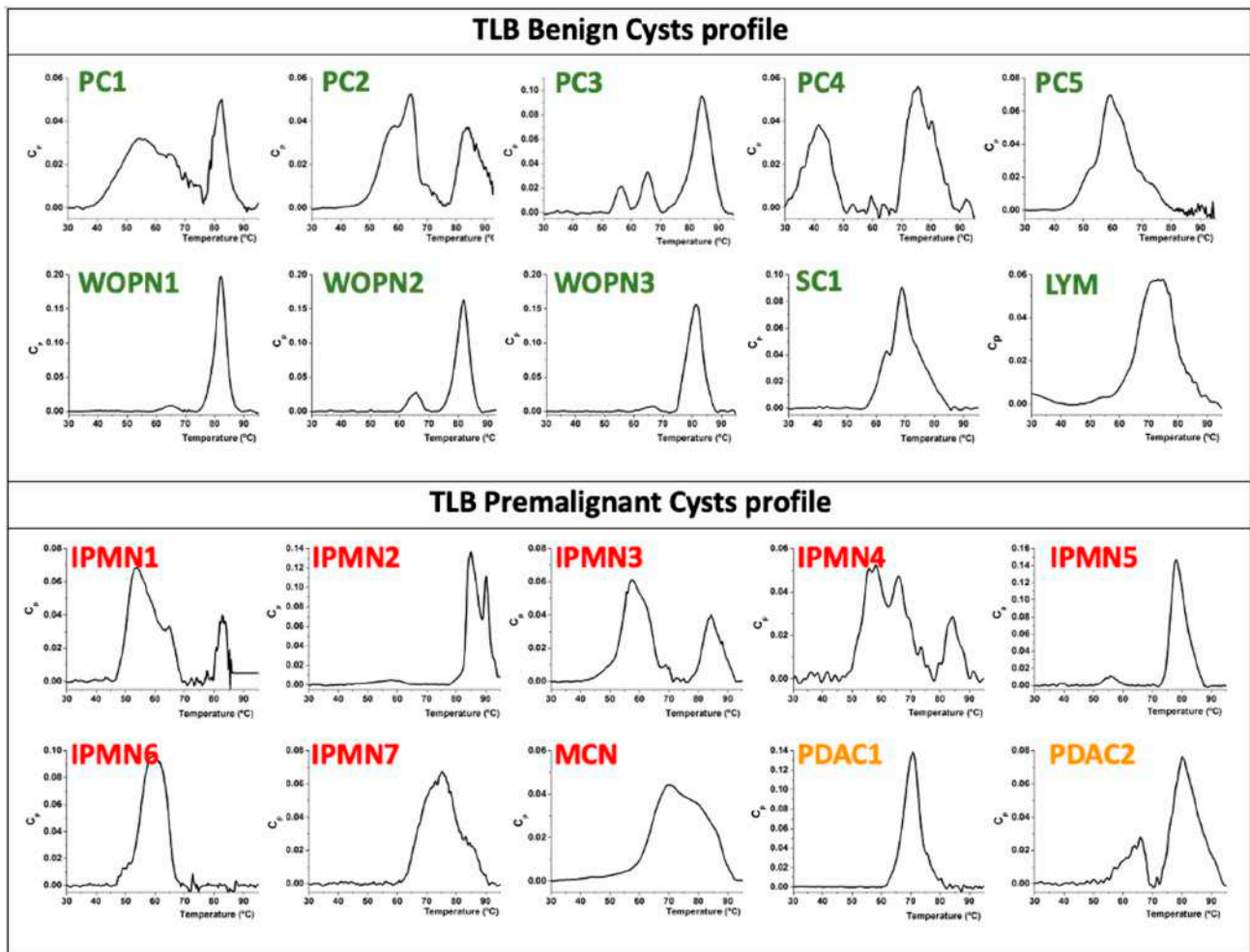


Figure 1. Individual TLB thermograms from cystic liquid samples. Samples were clustered according to their benign or premalignant nature.

3.3. Analysis of Proteomic Signatures from Cystic Liquid Samples

Proteins identified by LC-ESI-MS/MS (detailed in Table S1) were analyzed and clustered according to the benign or premalignant nature of the cyst (Figure 3). This first classification distinguishes 52 proteins common in the cyst groups, and 12 and 11 proteins present only in benign cysts and premalignant cysts, respectively. A deeper analysis according to different groups of cysts was performed.

3.3.1. Benign Cysts

The WOPN cyst group exhibited a homogeneous proteomic profile (Table S1). 18 out of 41 (44%) proteins were shared by all cysts in this group (Figure 4A). The similarity in these samples was even higher, because 10 more proteins were common in WOPN1 and WOPN3. Low protein concentration in WOPN2 (Figure S1A) could prevent proper identification of more proteins in that sample. The most abundant proteins found in this group were globulins (macroglobulin and immunoglobulins), a type of protein related to immunological response as a consequence of an inflammation process. This is consistent with the nature of this specific type of cyst: walled-off pancreatic necrosis (WOPN) is a well-circumscribed area of necrosis which occurs as a late complication of acute pancreatitis, generally after four weeks from the initial episode. Singular proteins detected in WOPN1 and WOPN3 samples were S-100 proteins. They belong to the S100 protein family, having important roles in inflammation and may also be useful markers for gut inflammation [37]. Once secreted in the extracellular space, S100A9 acts as a chemo-attractant, recruiting

further inflammatory cells and creating an inflammatory microenvironment that promotes tumor development [38].

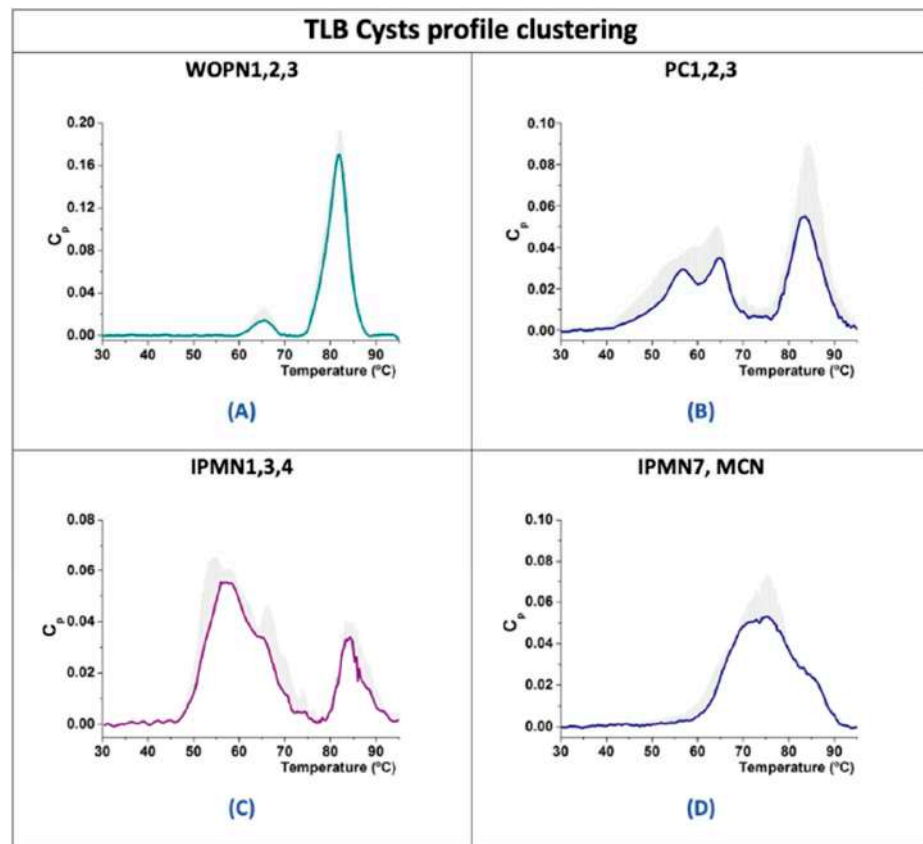


Figure 2. TLB thermograms from cystic liquid samples clustered according to their type. Average curves (colored lines) and standard deviations of curve values (grey) are represented: WOPNs (A), PCs (B), IPMNs (C) and IPMN7/MCNs (D).

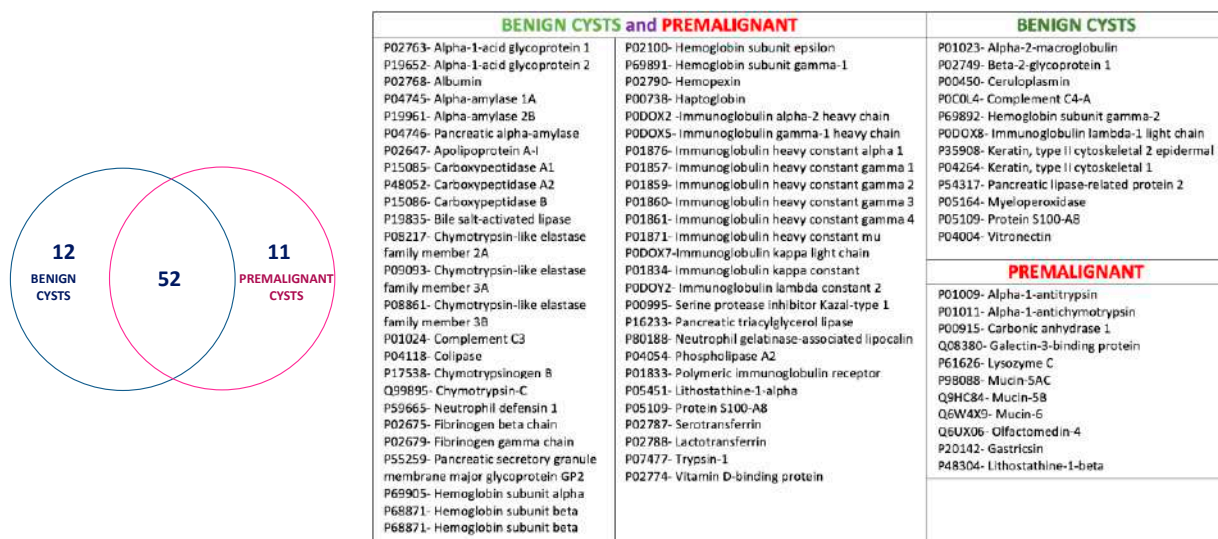


Figure 3. LC-ESI-MS/MS proteomic content of cystic samples. Common proteins were analyzed via Venn diagrams online tool (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/beg/tools/venn-diagrams>). 12 and 11 proteins were detected only in benign cysts (blue) and premalignant cysts (pink), respectively, and 52 proteins appeared in both groups (intersection set). Table comprises the detailed information of the proteins in each set.

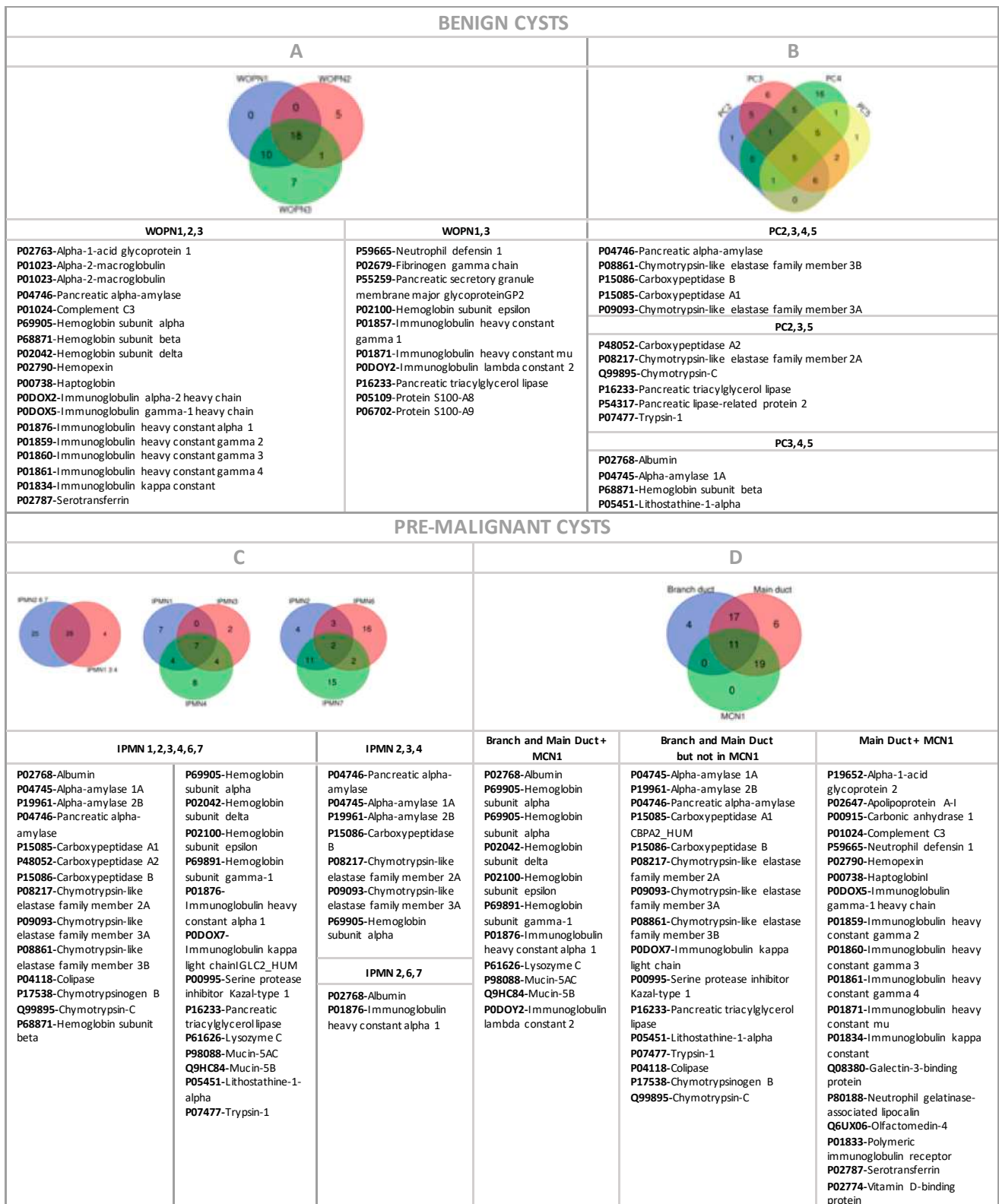


Figure 4. LC-ESI-MS/MS proteomic content of cystic samples according to cystic types: (A) WOPN, (B) PC, (C) IPMN, and (D) MCN+IPMN. Common proteins were analyzed via Venn diagrams online tool. Colors code for different groups and numbers inside each set and shared sub-sets indicate the number of identified proteins.

Common proteins of this group detected by electrophoresis (Figure S1A) are: proteolytic proteins, albumin, glycoside hydrolases, metalloproteases, immunoglobulins, and elastases. This agreed with the proteomic profile previously detailed (Table S1).

The homogeneity found in the proteomic signature of this group was reflected in the TLB cyst profiles of the cystic liquid (Figure 2A). As could be observed, compared to the rest of cystic groups studied in this work, these TLB cyst profiles represent a particular signature for WOPN cysts, easily distinguishing this group from the rest. They showed two peaks at $T_{1\max} \approx 65^\circ\text{C}$ and $T_{2\max} \approx 81^\circ\text{C}$, with a peak width at around 10°C . Denatured proteins included in these peaks are detailed in Figure 4A.

In the PC cyst group, proteomic profiles data was also collected (Table S1), except for PC1, for which no protein was detected, except albumin. There are 5 proteins shared by all PCs (Figure 4B) and 10 proteins are shared by at least three PCs: PC2, PC3 and PC5 had 6 common proteins and PC3, PC4 and PC5 4 proteins. These cysts were negative for globulins (macroglobulin and immunoglobulins), indicating there were not any inflammatory processes going on (except for PC4, the rest of PCs in this subgroup were not in an acute pancreatitis context). The PC4 cyst, in acute pancreatitis context, exhibited 17 proteins not found in any other PCs (Table S1). It also contained a small number of carboxypeptidase or pancreatic elastase related proteins, absence of pancreatic triacylglycerol lipase and trypsin-1 and presence of globulins (macroglobulin and immunoglobulins), serotransferrin and lacto-transferrin, protein S100-A9, neutrophil defensin 1, and myeloperoxidase.

Common proteins of this group were detected in electrophoresis (Figure S1B) (except for PC1, where the total amount of protein was very low): glycoside hydrolases and metalloproteases (all PCs), proteolytic proteins (PC3 and PC4), albumin (all but PC2), lipases (all but PC5), immunoglobulins (PC3 and PC4) and elastases (PC2 and PC3). This was consistent with the proteomic profiles.

TLBs of PC cystic liquid (Figure 2B) were similar for PC1, PC2 and PC3, with three peaks at $T_{1\max} \approx 55^\circ\text{C}$, $T_{2\max} \approx 65^\circ\text{C}$ (two close peaks) and $T_{3\max} \approx 85^\circ\text{C}$ (peak width around 10°C). Common proteins were found in these samples: amylase, IgGA, carboxypeptidase pancreatic elastase, chymo-trypsinogen, trypsin, glycoprotein GP2 and phospholipase A2. In PC5, $T_{3\max} \approx 85^\circ\text{C}$ was missing, and this could be the result of the absence of any of these proteins: IgGA, glycoprotein GP2, phospholipase A2 and chymo-trypsinogen. In PC4 there was a shift in the transitions, from 55 to 40°C and from 85 to 75°C (peak width was maintained in both cases).

In this group the clinical explanation for these differences could lie in the pancreatitis context for samples PC4 (acute) or PC5 (chronic).

3.3.2. Premalignant Cysts

The IPMN cyst group was more homogeneous from the clinical point of view. IPMN was the cystic group in this study with a number of proteins identified in the proteomic profile (Table S1). For example, it was not possible to identify proteins for IPMN5. One interesting observation was that none of the IPMNs contained globulins (macroglobulin or immunoglobulins), or they were negligible in other cyst groups, and only IPMN7 clearly contained them. These proteins are related to immunological responses as a consequence of inflammation and, therefore, it seemed that inflammation was not associated with this type of cyst.

Branch duct IPMNs (IPMN1, IPMN3 and IPMN4) shared 28 proteins with main duct IPMNs (IPMN2, IPMN6 and IPMN7) (Figure 4C). Branch duct IPMNs shared seven common proteins, and main duct IPMNs shared only two proteins. Neither of these proteins were unique in any of the two groups (they were included in the 28 proteins in common).

Common proteins of this group detected in the electrophoresis gel are albumin and immunoglobulins (IPMN1, IPMN2 and IPMN5); glycoside hydrolases and elastases (IPMN1, IPMN3, IPMN4 and IPMN5); metalloproteases (IPMN1 and IPMN3); and lipases (IPMN3

and IPMN4). Proteolytic proteins were not present in any of IPMNs samples (Figure S1D). This was consistent with the proteomic profiles.

TLBs of IPMN cystic liquid (Figure 2C) were similar for IPMN1, IPMN3 and IPMN4, all being branch duct IPMNs. They exhibited two close peaks (around $T_{1max} \approx 55$ °C, $T_{2max} \approx 65$ °C) and a third peak at $T_{3max} \approx 85$ °C (peak width around 10 °C). These peaks could correspond to the common proteins found in this group (amylases, carboxypeptidase and pancreatic elastases).

TLB of main duct type IPMN cystic liquids had a wider single peak at ≈ 55 °C and ≈ 75 °C for IPMN6 or IPMN7, respectively.

TLB of mixed type IPMN cystic liquids presented characteristics from both branch or duct IPMN groups with a low signal peak at ≈ 55 °C and one peak at ≈ 80 °C for IPMN5, or two peaks at ≈ 85 °C and 90 °C for IPMN2.

There was no proteomic profile available for IPMN5, but, according to electrophoresis, there was no protein from the amylase family, and additionally IPMN 2 and IPMN 7 lacked amylases, carboxy-peptidase and pancreatic elastases. These three cysts did not exhibit any peak (or it was neglectable) at ≈ 55 °C.

The MCN 1 cyst was in the mixed cysts group, but it had a premalignant nature.

MCN1 shared 11 proteins with IPMNs, either branch or main duct type, (Figure 4D) and 19 more proteins in common only with main duct IPMNs (Figure 4D) with five of these protein shared with IPMN7. When comparing MCN1 and IPMN7 profiles (Table S1), 15 common proteins were found. In fact, IPMN7 was the only IPMN cyst showing globulins (macroglobulin and immunoglobulins). In addition, protein profile in electrophoresis for MCN1 was similar to IPMNs (Figure S1E). However, 17 proteins were detected in IPMNs, but not in MCN1. There were no proteins shared only with branch duct IPMNs.

When comparing MCN1 and IPMN7 profiles (Table S1), 15 common proteins were found. In fact, IPMN7 was the only IPMN cyst showing globulins (macroglobulin and immunoglobulins).

Proteins detected in electrophoresis for MCN1 were similar to IPMNs (Figure S1E).

TLB for cystic liquid sample exhibited a wide transition (around 30 °C width) with two peaks (around $T_{1max} \approx 70$ °C, $T_{2max} \approx 85$ °C), very similar to the IPMN7 profile (Figure 2D). MCN1 did not exhibit any peak at around 55 °C and, again, no amylases, carboxypeptidase or pancreatic elastases were detected by proteomics.

Mixed Cyst Group was a completely heterogenous group comprising a serous cyst, a lymphocele, and two samples of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDCA) (which cannot be considered as a cyst).

SC and LYM: The main difference between serous cyst and lymphocele (cystic benign samples), compared to the rest of samples, was the presence of apolipoprotein A-I (only MCN1 and IPMN7 seemed to contain it) (Table S1). In addition, they were positive for globulins (macroglobulin and immunoglobulins), as with the samples with an active inflammatory process. Some typical pancreatic cystic proteins were missing: amylase, metalloproteases, lipases, elastases. Some of these proteins were already employed as clinical biomarkers for pancreatic cyst diagnosis [9], such as amylase.

Common proteins of this group detected in electrophoresis are: serotransferrin, albumin, lipoproteins and immunoglobulins (Figure S1C). This agreed with the proteomic profiles.

All TLB cyst profiles in this group showed particular features and looked different from the other cystic profiles. They exhibited one single peak: SC at $T_{1max} \approx 70$ °C (peak width around 20 °C) and LYM at $T_{1max} \approx 75$ °C (peak width around 25 °C). Common proteins (Table S1) are albumin, lipoproteins, hemoglobins, globulins, and serotransferrin.

PDACs: Proteomic profiles of PDACs (Figure S2) showed 20 shared proteins from hemoglobin, immune-globulins and transferrin groups. PDAC1 also contained other proteins, and PDAC2 contained proteins we previously identified in cysts, such as amylases, metalloproteases, lipases, elastases.

TLB cyst profile in PDAC1 exhibited one peak ($T_{1max} \approx 70 \text{ }^\circ\text{C}$) and PDAC2 showed two peaks ($T_{1max} \approx 65 \text{ }^\circ\text{C}$ and $T_{2max} \approx 80 \text{ }^\circ\text{C}$) (Figure 1). This difference could be related to the different proteomic profile between the two samples mentioned above. Electrophoresis also confirmed this different pattern (Figure S1F).

3.4. Analysis of TLB from Serum Samples

TLB thermograms from serum samples were obtained. The goal was to search for any potential reflection of the cystic pathology in plasmatic serum. TLB serum profiles were normalized according to their area under the curve values (AUC), again avoiding protein concentration influence. Then, they were clustered according to the clinical assessment of the cyst (Figure 5). We focused our attention on distinguishing between premalignant and benign cysts. Unfortunately, it was not possible to obtain serum samples at the same time as the eco-endoscopy procedure for all the patients included in this study.

PCs are benign lesions found in the context of acute or chronic pancreatitis. It has been previously reported that inflammatory processes can be reflected in TLB serum profile [23]. According to the PC TLB serum thermograms, they seemed to be somewhat different (Figure 5A).

IPMNs, being premalignant lesions, could also exhibit some distinctive features compared to healthy patients in their TLB serum profile on the basis of the previous studies on TLB applied to cancer diagnosis [30,33,34]. Apparently, in the case of IPMNs, TLB serum profiles, except for IPMN7, seem quite similar to healthy controls (Figure 5B).

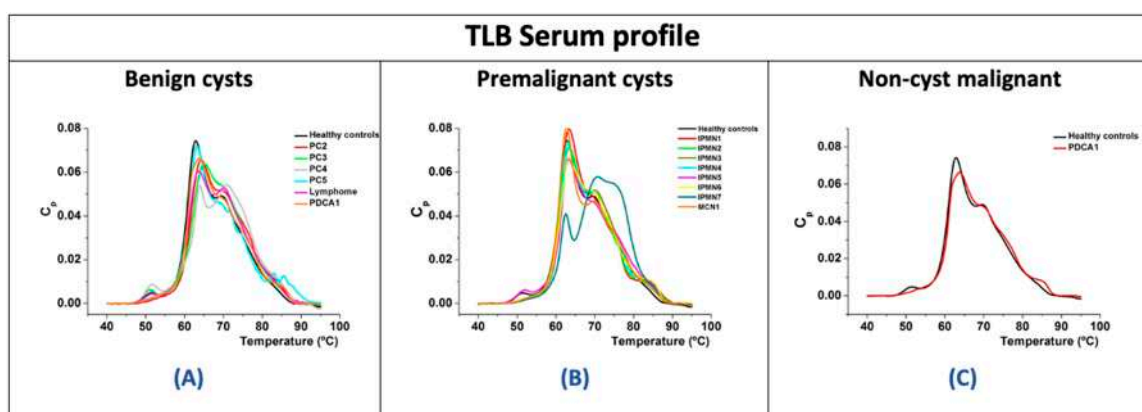


Figure 5. Examples of serum TLB thermograms from different types of cystic patients, clustered according to cyst types: premalignant (A), benign (B) and non-cyst malignant (C). Typical TLB thermogram for a healthy subject is represented with black line in (A–C).

The multiparametric analysis previously developed in our group [30] was applied to TLB serum profiles. The purpose was to help in the identification of cystic disease-related TLB features and the quantification of the TLB serum score for patients' serum (Table S2). Mono-variant analysis of the individual TLB parameters obtained from the thermograms showed that 6 out of 15 parameters were statistically different (p -value < 0.05). Only these six parameters were used to construct the classification model and calculate the TLB serum score for each sample, as previously described in [33].

According to the results in Figure 6, the TLB serum score comparison between healthy subjects and cyst patients (both, benign and premalignant) indicated that the differences were statistically significant using the Wilcoxon test (p -value < 0.001). Similarly, TLB serum score could differentiate between healthy subjects and benign cyst patients (p -value < 0.001), and between healthy subjects and premalignant cyst patients (p -value < 0.001).

TLB serum score values are between 0 and 1: the closer to 0, the smaller the alterations in plasma (healthy status), while the closer to 1, the larger the alterations in plasma

(diseased status). TLB serum score values were mainly under 0.5 for healthy (82 out of 84, 98% true negative rate) and over 0.5 for cysts patients (10 out of 14, 71% true positive rate). This meant that this score may be useful for detecting the presence of cystic lesion. The area under the ROC curve is 0.94 (Figure S3) with sensitivity of 71%, specificity of 98%, a positive predictive value (PPV) of 83%, and a negative predictive value (NPV) of 98%. Unfortunately, there was no statistical difference between both cysts' groups; that is, TLB serum score did not discriminate between benign and premalignant cysts (p -value = 0.501).

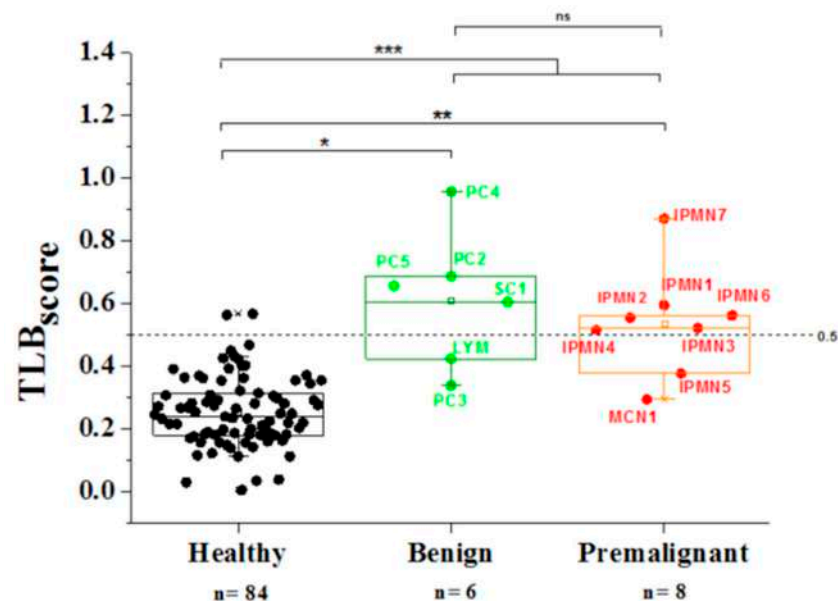


Figure 6. TLB serum score from serum TLB profiles from healthy controls and both types of cysts (benign and premalignant). Median values were compared using the Wilcoxon test: * p -value_{healthy-benign} = 0.00026; ** p -value_{healthy-premalignant} = 0.000057; *** p -value_{healthy-cysts} = 0.0000012; ^{ns} p -value_{benign-premalignant} = 0.501.

TLB serum values closest to 1 in PC corresponded to those associated to the acute or chronic pancreatitis context (inflammatory process can be reflected in serum).

TLB serum values of IPMN were around 0.5 (except in IPMN7). CEA value for IPMN7 was over 50,000 ng/mL, the highest of all premalignant cysts.

All types of cyst could be clustered differentially from healthy controls by using this single TLB serum score. These results agreed with our previously published results on lung cancer disease [33] in which TLB serum score was able to discriminate between diseased and healthy subjects.

Cystic pathologies are local lesions for which a systemic reflection in blood might not be expected. However, if cystic pathology is accompanied by inflammation, blood alterations may be important, even for a benign lesion.

As a further development, in this study we also proposed to evaluate whether TLB serum score could provide useful information to gastroenterologists for the diagnosis before and besides endoscopic ultrasound procedures. Despite the small number of samples (14 serum samples from cyst patients), a restricted TLB serum score excluding healthy control subjects and considering benign cysts as control samples was performed. Benign and premalignant cysts were 43% and 57% of the samples, respectively. First, we performed a mono-variant analysis of TLB parameters (Table S3) and none of the individual parameters was statistically different (p -values > 0.05). Therefore, only parameters presenting p -value below 0.25 were considered in constructing the classification model and calculating this new TLB serum score (benign vs. premalignant cysts). For a TLB score threshold of 0.5, 4 out of 6 (67%) benign cysts had a TLB score below 0.5, and 6 out of 8 (75%) premalignant cysts had a TLB score above 0.5. The area under the ROC curve is 0.875 (Figure 7B) with

sensitivity of 75%, specificity of 67%, a positive predictive value (PPV) of 75% and a negative predictive value (NPV) of 67%. When using the Youden index as a threshold (0.75), all benign samples were well classified (TLB score below 0.75).

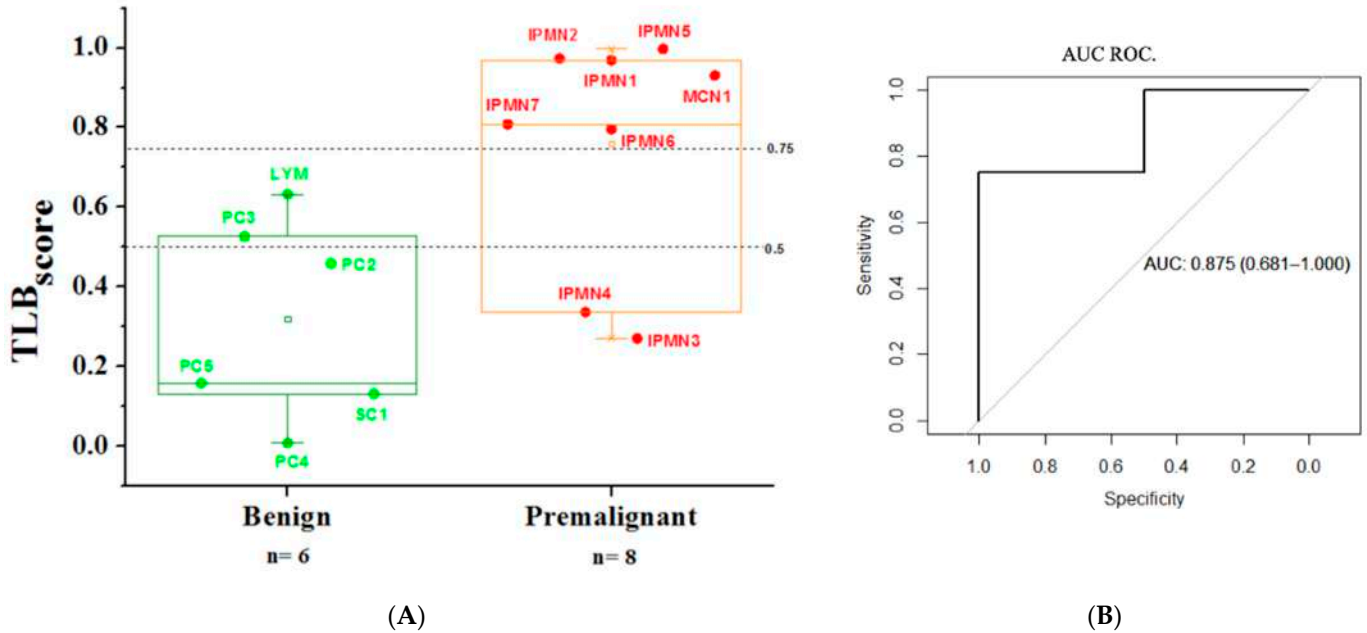


Figure 7. (A)/TLB serum score parameters from serum TLB serum profiles from benign and premalignant cyst patients. (B)/ROC curve illustrating the statistical performance of TLB serum score (benign vs. premalignant cysts). AUC = Area Under Curve (95%CI).

4. Discussion

Pancreatic neoplasms are generally discovered incidentally and consists of IPMNs, predominantly [7]. The diagnosis of malignant IPMN lesions involves a certain degree of subjectivity and variability, which is undesirable for clinical practice, due to the lack of standardized guidelines. Thus, there is a necessity of new diagnosis tools to differentiate between benign and premalignant pancreatic cysts to help in making decisions about surgical intervention or periodic surveillance.

The analysis of cyst fluid may provide information regarding established biomarkers that helps the physician in the diagnosis [13,39]. This type of biological sample includes a diverse amount and type of proteins, representing an interesting challenge for thermal liquid biopsy. TLB for blood serum samples has been proven useful for different types of cancer, and premalignant pancreatic cysts will eventually evolve to pancreatic cancer. Additionally, TLB has been applied to other body fluids (serum, plasma, urine, synovial and cerebrospinal fluids [25,31,40,41], or even tumor digestion), provided that the TLB thermogram is a reflection of the protein composition, interactions, and modifications in the complex sample [32]. Similarities in protein composition of cysts (which is a known biomarker for cyst classification) will result in similarities in TLB cyst profiles, thus, providing the basis for a diagnostic procedure based on TLB. As has been previously described, TLB cyst profile reflects protein composition, but also protein interactions. The presence or absence of a certain protein could promote changes in the profile for other proteins in the sample, especially if they were interacting (interactome concept) [25]. Similar effects could be envisaged for protein modifications as a result of metabolic or pathologic processes.

In our study, we recruited 20 patients who, after being diagnosed with a cystic lesion by CT scan or MNR, underwent routine endoscopic ultrasonography where a sample of cyst fluid was obtained. The final clinical diagnosis of the lesions found was based

on the different clinical features of the patient (fluid aspect, biochemical biomarkers and pathological anatomy results) according to current clinical guidelines [8,36].

To our knowledge, this was the first time that pancreatic cyst fluid was characterized using a TLB technique and thermal profiles were clustered according to the clinical information on the cysts. We confirmed that cyst liquid thermograms reflect protein content in the samples. There was a high intra-group variability within the TLB cyst thermograms. Only WOPN cysts could be easily differentiated from PCs, because there was a clear profile type that could be associated with them (Figure 2A) and they also shared 18 proteins (Figure 4A). More samples are required to clearly define a common cyst thermogram for benign or premalignant cysts. Having the TLB thermogram available for specialist appraisal, perhaps the diagnosis could be oriented to the MCN cyst type. As we have already discussed, there is a considerable subjective component in the physician diagnosis, and the more complementary tools available for a better discrimination, the better for the gastroenterologist in producing an appropriate evaluation statement.

Another goal of this study was linking cyst thermograms to proteomic signatures of cyst samples, bearing in mind that, as we said before, TLB cyst profile reflects sample composition and also potential interactions and modifications in proteins. Each protein unfolds in a certain manner and the calorimetric cyst profile obtained is characteristic for that unfolding process. When two or more proteins are together in the same sample, the resulting profile will be the sum of the signal of the independent profiles when proteins are not interacting; or, in case the proteins interact, the resulting profile could change [42].

A deeper analysis of the proteomic profile of pancreatic intra-cyst sample can be found in the literature [43]. We used proteomic identification to assess the correlation between the TLB thermograms and the protein content. The TLB methodology is based on apparently simple curves, but they contain relevant information for diagnosis.

This is clear when looking at WOPN samples (as we already described above): TLB thermograms were quite similar and overlapped, and proteomic profiles also confirmed this similarity. Nevertheless, results are not so clear for the rest of the cyst groups and further studies to increase the number of intra-cyst samples are needed.

This pilot study reveals some interesting aspects. In IPMN, less inflammatory process indicators have been detected, specifically less immunoglobulins in comparison to benign cysts. There were also less proteins related to iron metabolism (serotransferrin, lactotransferrin, ferritin, hemopexin and haptoglobin) which has been referenced as an indicator of health alteration [44,45].

The information obtained through the cyst TLB thermogram is not focused on the detection of a specific biomarker but comprises information about a large amount of proteins and their relations (interactions and modifications), which could be interesting when doubts about the diagnosis of a cyst are cast. This study represents a proof of concept to confirm that TLB cyst thermograms contain valuable information. According to these preliminary results, a further, larger study can lead to the establishment of certain specific profiles for different type of cysts and can help during diagnosis.

The analysis of a cyst fluid sample implies that the patient has undergone an endoscopic ultrasonography procedure, a risky, invasive test that nowadays is the only way to achieve a reasonably accurate diagnosis of the benign or premalignant nature of cysts. Here we wondered if alterations due to the cyst could have a systemic reflection in blood serum, and whether or not they could be detected through TLB. If metabolic alterations in cyst fluid are translated into blood serum alterations, a quick, low-risk, minimally invasive tool to obtain information on the cyst would be available to differentiate between healthy/cystic patients and/or benign/premalignant cystic patients. TLB has been previously applied in our lab to study different type of tumor disease such as gastric, lung cancer or melanoma [30,33,34]. In the present study, we also obtained 15 serum samples from the 20 patients and their TLB serum profiles were obtained (Figure 5). As normally occurs with TLB serum thermograms, it is difficult to visually discriminate and distinguish among patients' profiles. In previous studies from our group, we contributed to develop, first, a

multiparametric analysis [30] and, later, a TLB serum score [33] to manage and assess TLB thermograms according to a simple interpretation index (TLB serum score from 0 to 1) that could be implemented in diagnosis, easily allowing the stratification of the patients.

We first compared the TLB serum thermograms from patients to thermograms from healthy subjects that were not suffering from the disease. We applied a general TLB serum score previously reported [33] and the results were statistically different when comparing healthy subjects with benign or malignant cyst patients, individually or together as a pooled group of patients (p -values lower than 0.05) (Figure 6). Specificity and sensitivity values (98% and 71%, respectively), as well as PPV and NPV values (83% and 98%, respectively), were quite high.

TLB serum scores (from benign or premalignant cyst groups) were not statistically different when using the TLB general formula when comparing to healthy subjects. Therefore, on that basis it was not possible to distinguish between both types of cyst. Therefore, we focused our attention on specifically comparing both patients' groups and obtaining a cyst-specific TLB serum score that could be applied to evaluate intra-group cyst patient variability. This new TLB serum score would strengthen the discrimination power, based on the specific parameters reflecting differences between cysts. The challenge is considerable, because a mono-variant analysis of cyst TLB parameters (Table S3) showed that none of the individual parameters was statistically different between the benign and premalignant cyst group. As we previously confirmed in our studies, the combination of all the parameters in a multiparametric-based single TLB serum score increased the discrimination ability. Despite the small patient sample cohort, it was possible to distinguish between benign and premalignant cysts. This specific TLB serum score (values from 0 to 1) were over 0.75 (according to Youden) in 6 out of 8 (75%) premalignant samples, while TLB serum scores were below 0.75 in 6 out of 6 (100%) benign samples. The diagnosis accuracy based in the area under the curve (AUC) was 0.875, a promising starting point for extending the study. Therefore, more serum samples from patients with pancreatic cysts should be included in a larger future study, but these preliminary results are promising and allow us to foresee that the TLB serum score could be applied routinely in the clinic as an additional complementary tool helping physicians in making better diagnostic decisions.

5. Conclusions

TLB analysis can be applied to both plasmatic serum and cyst fluid as a sort of high information content tool. Despite the small number of samples in this pilot study, it represents a proof of concept for developing a useful technique for classifying and evaluating risk in pancreatic cysts based on liquid biopsy in both body fluids. A future, larger study, with a larger number of samples for each cyst category, could confirm whether TLB of plasma or cyst fluid could be a new diagnosis tool to differentiate between benign and premalignant pancreatic cysts to help clinician gastroenterologists in making decisions about disease management. In case of serum, TLB would represent a quick, low-risk, minimally invasive tool easily translated to clinical practice for diagnosis and patient monitoring. In addition, TLB is reasonably cheap for serum tests (an estimated cost of 100–200 €/ \$ per test, although with a higher cost for cyst fluid test), and could be performed with predefined frequency for patient surveillance.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/2075-4426/11/1/25/s1>, Figure S1: Electrophoresis analysis of proteomic profiles, Figure S2: LC-ESI-MS/MS proteomic content of cyst samples types identification, Figure S3: ROC curve illustrating the statistical performance of TLB serum score (healthy vs. cysts); Table S1: Detailed information of cyst proteomic profiles, Table S2: Mono-variant analysis of TLB parameters of healthy controls and cysts patients, Table S3: Mono-variant analysis of TLB parameters of benign and premalignant cysts patients.

Author Contributions: Conceptualization, A.V.-C., and O.A.; methodology, S.H.-D., J.L.O., O.S.-G., A.V.-C., and O.A.; software, S.H.-D., J.L.O., O.S.-G., A.V.-C., and O.A.; validation, J.L.O., S.V., O.S.-G., A.V.-C., and O.A.; formal analysis, J.L.O., S.V., O.S.-G., O.A., and A.V.-C.; investigation, L.C., S.V., A.V.-C., and O.A.; resources, G.G.-R., J.L.O., O.S.-G., Á.L., C.S., A.V.-C., and O.A.; data curation, S.H.-D., G.G.-R., C.S., J.L.O., and O.A.; writing—original draft preparation, S.H.-D., L.C.-L., J.L.O., A.V.-C., and O.A.; writing—review and editing, S.H.-D., G.G.-R., L.C.-L., J.L.O., S.V., O.S.-G., Á.L., J.M., A.V.-C., and O.A.; visualization, J.L.O., L.C.-L., O.S.-G., A.V.-C., and O.A.; supervision, Á.L., A.V.-C., and O.A.; project administration, O.A. and A.V.-C.; funding acquisition, Á.L., O.A., and A.V.-C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and European ERDF Funds (MCIU/AEI/FEDER, EU) (BFU2016-78232-P to A.V.C.); Projects funded by Instituto de Salud Carlos III and co-funded by European Union (ESF, “Investing in your future”): “PI15/00663 (FIS project to O.A.)”, “PI18/00349 (FIS project to O.A. and Contract to LC)”, “FI19/00146 (PFIS contract for SHD)”, “CPII13/00017 (Miguel Servet Program to OA)”; Diputación General de Aragón (Protein Targets and Bioactive Compounds Group E45_17R to A.V.C. and Digestive Pathology Group B25_17R to O.A.); and the Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Ethics Committee of CEICA (PI16/0228).

Informed Consent Statement: All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: Proteomic analyses were performed in the Proteomics Platform of Servicios Científico Técnicos del CIBA (IACS-Universidad de Zaragoza), ProteoRed ISCIII member, Zaragoza, Spain.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- De Jong, K.; Nio, C.Y.; Hermans, J.J.; Dijkgraaf, M.G.; Gouma, D.J.; van Eijck, C.H.; van Heel, E.; Klass, G.; Fockens, P.; Bruno, M.J. High prevalence of pancreatic cysts detected by screening magnetic resonance imaging examinations. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2010**, *8*, 806–811. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Megibow, A.J.; Baker, M.E.; Gore, R.M.; Taylor, A. The incidental pancreatic cyst. *Radiol. Clin. N. Am.* **2011**, *49*, 349–359. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Klibansky, D.A.; Reid-Lombardo, K.M.; Gordon, S.R.; Gardner, T.B. The clinical relevance of the increasing incidence of intraductal papillary mucinous neoplasm. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2012**, *10*, 555–558. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Jacobson, B.C.; Baron, T.H.; Adler, D.G.; Davila, R.E.; Egan, J.; Hirota, W.K.; Leighton, J.A.; Qureshi, W.; Rajan, E.; Zuckerman, M.J.; et al. ASGE guideline: The role of endoscopy in the diagnosis and the management of cystic lesions and inflammatory fluid collections of the pancreas. *Gastrointest. Endosc.* **2005**, *61*, 363–370. [[CrossRef](#)]
- Tanaka, M.; Chari, S.; Adsay, V.; Fernandez-del Castillo, C.; Falconi, M.; Shimizu, M.; Yamaguchi, K.; Yamao, K.; Matsuno, S. International consensus guidelines for management of intraductal papillary mucinous neoplasms and mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Pancreatol.* **2006**, *6*, 17–32. [[CrossRef](#)]
- Khalid, A.; Brugge, W. ACG practice guidelines for the diagnosis and management of neoplastic pancreatic cysts. *Am. J. Gastroenterol.* **2007**, *102*, 2339–2349. [[CrossRef](#)]
- Tanaka, M.; Fernandez-del Castillo, C.; Adsay, V.; Chari, S.; Falconi, M.; Jang, J.Y.; Kimura, W.; Levy, P.; Pitman, M.B.; Schmidt, C.M.; et al. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatol.* **2012**, *12*, 183–197. [[CrossRef](#)]
- Tanaka, M.; Fernández-Del Castillo, C.; Kamisawa, T.; Jang, J.Y.; Levy, P.; Ohtsuka, T.; Salvia, R.; Shimizu, Y.; Tada, M.; Wolfgang, C.L. Revisions of international consensus Fukuoka guidelines for the management of IPMN of the pancreas. In *Pancreatol.*, © 2017 IAP and EPC; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2017; Volume 17, pp. 738–753.
- European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms. *Gut* **2018**, *67*, 789–804. [[CrossRef](#)]
- Brugge, W.R.; Lauwers, G.Y.; Sahani, D.; Fernandez-del Castillo, C.; Warshaw, A.L. Cystic neoplasms of the pancreas. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 1218–1226. [[CrossRef](#)]
- Muthusamy, V.R.; Chandrasekhara, V.; Acosta, R.D.; Bruining, D.H.; Chathadi, K.V.; Eloubeidi, M.A.; Faulx, A.L.; Fonkalsrud, L.; Gurudu, S.R.; Khashab, M.A.; et al. The role of endoscopy in the diagnosis and treatment of cystic pancreatic neoplasms. *Gastrointest. Endosc.* **2016**, *84*, 1–9. [[CrossRef](#)]

12. Van der Waaij, L.A.; van Dullemen, H.M.; Porte, R.J. Cyst fluid analysis in the differential diagnosis of pancreatic cystic lesions: A pooled analysis. *Gastrointest. Endosc.* **2005**, *62*, 383–389. [[CrossRef](#)]
13. Rogart, J.N.; Loren, D.E.; Singu, B.S.; Kowalski, T.E. Cyst wall puncture and aspiration during EUS-guided fine needle aspiration may increase the diagnostic yield of mucinous cysts of the pancreas. *J. Clin. Gastroenterol.* **2011**, *45*, 164–169. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Jang, J.W.; Kim, M.H.; Jeong, S.U.; Kim, J.; Park, D.H.; Lee, S.S.; Seo, D.W.; Lee, S.K.; Kim, J.H. Clinical characteristics of intraductal papillary mucinous neoplasm manifesting as acute pancreatitis or acute recurrent pancreatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **2013**, *28*, 731–738. [[CrossRef](#)]
15. Brugge, W.R.; Lewandrowski, K.; Lee-Lewandrowski, E.; Centeno, B.A.; Szydlo, T.; Regan, S.; del Castillo, C.F.; Warshaw, A.L. Diagnosis of pancreatic cystic neoplasms: A report of the cooperative pancreatic cyst study. *Gastroenterology* **2004**, *126*, 1330–1336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Singh, H.; McGrath, K.; Singhi, A.D. Novel Biomarkers for Pancreatic Cysts. *Dig. Dis. Sci.* **2017**, *62*, 1796–1807. [[CrossRef](#)]
17. Kaplan, J.H.; Gonda, T.A. The Use of Biomarkers in the Risk Stratification of Cystic Neoplasms. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* **2018**, *28*, 549–568. [[CrossRef](#)]
18. Moris, D.; Damaskos, C.; Spartalis, E.; Papalampros, A.; Vernadakis, S.; Dimitroulis, D.; Griniatsos, J.; Felekouras, E.; Nikiteas, N. Updates and Critical Evaluation on Novel Biomarkers for the Malignant Progression of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Anticancer Res.* **2017**, *37*, 2185–2194. [[CrossRef](#)]
19. Soyer, O.M.; Baran, B.; Ormeci, A.C.; Sahin, D.; Gokturk, S.; Evirgen, S.; Basar, R.; Firat, P.; Akyuz, F.; Demir, K.; et al. Role of biochemistry and cytological analysis of cyst fluid for the differential diagnosis of pancreatic cysts: A retrospective cohort study. *Medicine* **2017**, *96*, e5513. [[CrossRef](#)]
20. Levy, A.; Popovici, T.; Bories, P.N. Tumor markers in pancreatic cystic fluids for diagnosis of malignant cysts. *Int. J. Biol. Markers* **2017**, *32*, e291–e296. [[CrossRef](#)]
21. Ngamruengphong, S.; Lennon, A.M. Analysis of Pancreatic Cyst Fluid. *Surg. Pathol. Clin.* **2016**, *9*, 677–684. [[CrossRef](#)]
22. Garbett, N.C.; Miller, J.J.; Jenson, A.B.; Chaires, J.B. Calorimetric analysis of the plasma proteome. *Semin. Nephrol.* **2007**, *27*, 621–626. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Garbett, N.C.; Miller, J.J.; Jenson, A.B.; Chaires, J.B. Calorimetry outside the box: A new window into the plasma proteome. *Biophys. J.* **2008**, *94*, 1377–1383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Garbett, N.C.; Mekmaysy, C.S.; Helm, C.W.; Jenson, A.B.; Chaires, J.B. Differential scanning calorimetry of blood plasma for clinical diagnosis and monitoring. *Exp. Mol. Pathol.* **2009**, *86*, 186–191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Garbett, N.C.; Merchant, M.L.; Helm, C.W.; Jenson, A.B.; Klein, J.B.; Chaires, J.B. Detection of cervical cancer biomarker patterns in blood plasma and urine by differential scanning calorimetry and mass spectrometry. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e84710. [[CrossRef](#)]
26. Garbett, N.C.; Brock, G.N. Differential scanning calorimetry as a complementary diagnostic tool for the evaluation of biological samples. *Biochim. Biophys. Acta* **2016**, *1860*, 981–989. [[CrossRef](#)]
27. Todinova, S.; Krumova, S.; Kurtev, P.; Dimitrov, V.; Djongov, L.; Dudunkov, Z.; Taneva, S.G. Calorimetry-based profiling of blood plasma from colorectal cancer patients. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1820*, 1879–1885. [[CrossRef](#)]
28. Todinova, S.; Krumova, S.; Radoeva, R.; Gartcheva, L.; Taneva, S.G. Calorimetric markers of Bence Jones and nonsecretory multiple myeloma serum proteome. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 12355–12361. [[CrossRef](#)]
29. Todinova, S.; Krumova, S.; Danailova, A.; Petkova, V.; Guenova, M.; Mihaylov, G.; Gartcheva, L.; Taneva, S.G. Calorimetric markers for monitoring of multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia patients. *Eur. Biophys. J.* **2018**, *47*, 549–559. [[CrossRef](#)]
30. Vega, S.; Garcia-Gonzalez, M.A.; Lanás, A.; Velazquez-Campoy, A.; Abian, O. Deconvolution analysis for classifying gastric adenocarcinoma patients based on differential scanning calorimetry serum thermograms. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 7988. [[CrossRef](#)]
31. Chagovetz, A.A.; Jensen, R.L.; Recht, L.; Glantz, M.; Chagovetz, A.M. Preliminary use of differential scanning calorimetry of cerebrospinal fluid for the diagnosis of glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* **2011**, *105*, 499–506. [[CrossRef](#)]
32. Chagovetz, A.A.; Quinn, C.; Damarse, N.; Hansen, L.D.; Chagovetz, A.M.; Jensen, R.L. Differential scanning calorimetry of gliomas: A new tool in brain cancer diagnostics? *Neurosurgery* **2013**, *73*, 289–295, discussion 295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Rodrigo, A.; Ojeda, J.L.; Vega, S.; Sanchez-Gracia, O.; Lanás, A.; Isla, D.; Velazquez-Campoy, A.; Abian, O. Thermal Liquid Biopsy (TLB): A Predictive Score Derived from Serum Thermograms as a Clinical Tool for Screening Lung Cancer Patients. *Cancers* **2019**, *11*, 12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Velazquez-Campoy, A.; Vega, S.; Sanchez-Gracia, O.; Lanás, A.; Rodrigo, A.; Kaliappan, A.; Hall, M.B.; Nguyen, T.Q.; Brock, G.N.; Chesney, J.A.; et al. Thermal liquid biopsy for monitoring melanoma patients under surveillance during treatment: A pilot study. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2018**, *1862*, 1701–1710. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Rodrigo, A.; Abian, O.; Velázquez-Campoy, A.; Callejo, A.; Vega-Sánchez, S.; Fernandez, A.; Sánchez-Gracia, O.; Iranzo, P.; Cruellas, M.; Quilez, E.; et al. Liquid thermal biopsy as a new non-invasive method of diagnosis for lung cancer patients. *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, e21207. [[CrossRef](#)]
36. Banks, P.A.; Bollen, T.L.; Dervenis, C.; Gooszen, H.G.; Johnson, C.D.; Sarr, M.G.; Tsiotos, G.G.; Vege, S.S.; Group, A.P.C.W. Classification of acute pancreatitis—2012: Revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* **2013**, *62*, 102–111. [[CrossRef](#)]
37. Leach, S.T.; Day, A.S. S100 proteins in the pathogenesis and diagnosis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev. Clin. Immunol.* **2006**, *2*, 471–480. [[CrossRef](#)]

38. Nedjadi, T.; Evans, A.; Sheikh, A.; Barerra, L.; Al-Ghamdi, S.; Oldfield, L.; Greenhalf, W.; Neoptolemos, J.P.; Costello, E. S100A8 and S100A9 proteins form part of a paracrine feedback loop between pancreatic cancer cells and monocytes. *BMC Cancer* **2018**, *18*, 1255. [[CrossRef](#)]
39. Springer, S.; Wang, Y.; Dal Molin, M.; Masica, D.L.; Jiao, Y.; Kinde, I.; Blackford, A.; Raman, S.P.; Wolfgang, C.L.; Tomita, T.; et al. A combination of molecular markers and clinical features improve the classification of pancreatic cysts. *Gastroenterology* **2015**, *149*, 1501–1510. [[CrossRef](#)]
40. Garbett, N.C.; Miller, J.J.; Jenson, A.B.; Miller, D.M.; Chaires, J.B. Interrogation of the plasma proteome with differential scanning calorimetry. *Clin. Chem.* **2007**, *53*, 2012–2014. [[CrossRef](#)]
41. Wiegand, N.; Búcs, G.; Dandé, Á.; Lőrinczy, D. Investigation of protein content of synovial fluids with DSC in different arthritides. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2019**. [[CrossRef](#)]
42. Brandts, J.F.; Lin, L.N. Study of strong to ultratight protein interactions using differential scanning calorimetry. *Biochemistry* **1990**, *29*, 6927–6940. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Do, M.; Han, D.; Wang, J.I.; Kim, H.; Kwon, W.; Han, Y.; Jang, J.Y.; Kim, Y. Quantitative proteomic analysis of pancreatic cyst fluid proteins associated with malignancy in intraductal papillary mucinous neoplasms. *Clin. Proteom.* **2018**, *15*, 17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Ludwig, H.; Evstatiev, R.; Kornek, G.; Aapro, M.; Bauernhofer, T.; Buxhofer-Ausch, V.; Fridrik, M.; Geissler, D.; Geissler, K.; Gisslinger, H.; et al. Iron metabolism and iron supplementation in cancer patients. *Wien. Klin. Wochenschr.* **2015**, *127*, 907–919. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Forciniti, S.; Greco, L.; Grizzi, F.; Malesci, A.; Laghi, L. Iron Metabolism in Cancer Progression. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]