

**Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova**  
**Școala Doctorală**



**Teză de doctorat**

**Rolul polimorfismelor genetice în patologia  
pancreatică**

Rezumat

Conducător de doctorat: Prof. Univ. Dr. Adrian Săftoiu

Student doctorand: Vlad Pădureanu

Craiova

2014

# Cuprins

## PARTEA GENERALĂ

### Capitolul 1:

1.1 Introducere - patologia pancreatică .....	3
---	---

### Capitolul 2:

2.1 Date de epidemiologie .....	3
2.2 Cauze și asocieri .....	4
2.3 Biologie moleculară și progresie tumorală .....	4

### Capitolul 3:

3.1 Diagnosticul clinic prezent și viitor .....	5
3.2 Tehnici imagistice - Ultrasonografia .....	6
- Ecoendoscopia .....	7
- Tomografia computerizată .....	7
- Rezonanță magnetică (IRM) .....	8
3.3 Tehnici moleculare – polimorfisme .....	8

## PARTEA SPECIALĂ

### Capitolul 4: Evaluarea polimorfismelor implicate în patologia pancreatică – pancreatite și tumori pancreatice

4.1 Obiective .....	9
4.2 Material și metode .....	9
4.3 Rezultate .....	10
4.4 Rezultate polimorfisme .....	10
4.5 Discuții .....	11
4.6 Concluzii .....	11
BIBLIOGRAFIE .....	12

CUVINTE CHEIE: pancreatită acută, cronică, cancer pancreatic, polimorfisme, iNOS, VEGFR-2

## **PARTEA GENERALĂ**

### **INTRODUCERE**

Patologia pancreatică este o patologie larg întâlnită, în continuă creștere cu incidențe variabile de la un continent la altul, în funcție de etnie, predispoziție genetică și obiceiuri alimentare. În cadrul patologiei pancreatice intră: anomaliile congenitale, pancreatita acută și cronică, tumorile pancreasului exocrin, tumorile endocrine ale pancreasului și bolile genetice ale pancreasului, pancreatita ereditară. Dintre toată patologia pancreatică ne vom concentra atenția asupra pancreatitelor acute, cronice și tumorilor de pancreas, patologii cu o prevalență și o incidență mai mare în practica clinică. Această teză are ca obiectiv cercetarea corelației între polimorfismele genetice și patologia pancreatică studiată (pancreatită acută, cronică, cancer pancreatic) cu ajutorul analizei genetice.

### **Capitolul 2**

#### **2.1 Date de epidemiologie**

În ceea ce privește incidența pancreatitei acute există diferențe geografice considerabile între diferitele state ale lumii, spre exemplu, în Olanda [4] și Regatul Unit [5] este o incidență scăzută ( 10 – 24 pacienți/ 100.000 de locuitori/ an), în schimb țările scandinave [6-8] și Statele Unite ale Americii [9] au o incidență crescută ( 35 – 73 pacienți/ 100.000 de locuitori/ an) [2]. Apar, de asemenea, diferențe regionale și în ceea ce privește factorul precipitant, etiologia pancreatitei acute. Spre exemplu, în Finlanda [8] și SUA [10] principala cauză a pancreatitei acute este consumul de alcool, în timp ce studiile din Hong Kong [11], Anglia [5], Italia și Grecia [12] au arătat ca fiind mai frecvente pancreatitele acute de cauză biliară [2].

Pancreatita cronică are o distribuție geografică variabilă și neuniformă în funcție de apariția factorilor de risc majori implicați care sunt alcoolismul și malnutriția, incidența fiind în creștere. Incidența pancreatitei cronice variază din punct de vedere geografic, de la 1,6 cazuri noi / 100.000 de locuitori / an în Elveția, până la 23 de cazuri noi / 100.000 de locuitori / an în Finlanda [16]. În 70% din toate cazurile de pancreatită cronică etiologia a fost alcoolică [16].

Tumorile maligne pancreatice sunt reprezentate în aproximativ 90-95% din cazuri de către adenocarcinomul pancreatic, care are originea la nivelul celulelor ductale [21]. Adenocarcinomul pancreatic ductal este recunoscut ca fiind una din cele mai agresive forme de neoplazie și reprezintă actual a 5-a cauză de deces prin cancer după cancerul gastric, mamar, bronhopulmonar

și de prostată. [22,23]. Datele statistice indică o supraviețuire generală de aproximativ 0,2-2% [25]. În Europa, cancerul de pancreas este pe locul 10 ca frecvență între cazurile de cancer, reprezentând aproximativ 2,6% dintre cazuri la ambele sexe, și a opta cauză de deces dintre neoplazii cu aproximativ 65.000 decese în fiecare an [26]. Ca distribuție geografică, cea mai mare incidență a fost descrisă în America de Nord și Noua Zeelandă cu peste 30.000 cazuri noi pe an, o incidență intermediară a fost descrisă pentru Europa și Japonia și cea mai scăzută incidență în Africa și India. În multe țări europene, rata mortalității prin cancer pancreatic este în creștere pentru ambele sexe. Rata mortalității este în prezent la nivelul de 8-12/100000/an pentru sexul masculin și de 4-6/100000/an pentru sexul feminin [27].

## **2.2 Cauze și asocieri**

Factorii etiologici implicați în pancreatita acută sunt multipli, atât pancreatici cât și extrapancreatici, având un rol predispozant sau declanșator. La 80-90% dintre pacienții cu pancreatită acută etiologia este dominată de litiaza biliară (pancreatita acută biliară) și de abuzul de alcool (pancreatita acută alcoolică) variind în funcție de zona geografică și structura etnică a populației [1]. Printre factorii semnificativi de risc pentru cancerul pancreatic se numără fumatul și grupele de sânge non-0 [17]. Carne roșie, mai ales atunci când este preparată la temperaturi ridicate, crește riscul pentru cancerul pancreatic [37]. Obezitatea crește de asemenea și gradul de severitate al pancreatitei acute [17] și este un factor de risc pentru multe tipuri de cancer, inclusiv pancreatic. Pancreatita acută indusă de medicamente este în primul rând o reacție idiosincrazică, multe medicamente fiind citate ca având un rol în a provoca pancreatita acută [17]. Nu sunt cunoscute medicamente care să provoace pancreatită cronică. Deși mai puțin frecvent, hipertrigliceridemie poate provoca pancreatită cronică [60]. Boala celiacă crește riscul de pancreatită de aproximativ 3 ori (rata de risc 2.85) [62]. Riscurile de pancreatită acută și cronică sunt, de asemenea, crescute în rândul pacienților cu boli inflamatorii intestinale, lupus eritematos sistemic, deși estimări exacte nu sunt disponibile [17]. Incidența scăzută a cancerului pancreatic la pacienții cu pancreatită cronică (<5%), demonstrează că pancreatita cronică este o cauză rară de cancer pancreatic [17].

## **2.3 Biologie moleculară și progresie tumorală**

Numeroase studii apreciază că aproximativ 5-10% din tumorile pancreatice maligne au o cauză genetică. Sindroamele ereditare majore asociate cu această neoplazie sunt reprezentate de cancerul colonic ereditar non-polipozic, cancerul de sân familial asociat cu mutații ale genelor

BCRA2, FAMM sau p16, ataxia-telangiectazie și boala von Hippel-Lindau. Fibroza chistică și pancreatita cronică ereditară prezintă un risc crescut de cancer pancreatic, fiind cunoscut faptul că riscul de dezvoltare al cancerului pancreatic este de aproximativ 50 de ori mai mare la pacienții cu pancreatită cronică ereditară decât în populația generală. Cele mai frecvente modificări (frecvența aproximativă este indicată în paranteze) includ mutații ale oncogenei K-ras (90%), p53 (85%), SMAD4/DPC4 (50%), și p16 (85% mutante și 15% silențioase epigenetic) [73] care sunt însoțite de modificări genomice și transcriptomice care facilitează dereglarea ciclului celular, a supraviețuirii celulare și favorizează invazia și metastazele [72]. Progresia de la epiteliul displazic minim (neoplazia intraepitelială pancreatică gradele 1A și 1B) la displazia mai severă (neoplazia intraepitelială pancreatică gradele 2 și 3) și în final la carcinomul invaziv este paralelă cu acumularea succesivă a mutațiilor care includ activarea oncogenei KRAS2, inactivarea CDKN2A gene supresoare tumorale (care codifică inhibitorul de ciclin kinază dependentă 4), și, în sfârșit, inactivarea genelor supresoare tumorale TP53 și DPC4 (SMAD4) [76]. Genele ca SPINK1 și CTSC sunt asociate cu pancreatita cronică și ar trebui mai degrabă să fie considerate ca importanți factori contributivi decât cauzali, singura genă asociată în mod constant cu pancreatita cronică este CFTR [88].

## **Capitolul 3**

### **3.1 Diagnosticul clinic prezent și viitor**

Pancreatita acută debutează brusc și dramatic în majoritatea cazurilor cu durere (95% dintre pacienți) în etajul abdominal superior, care iradiază în spate, în bară sau în semicentură (50%). Grețurile și vărsăturile (la început alimentare, apoi bilioase, dar niciodată fecaloide) însoțesc durerea în 80% dintre cazuri, distensia abdominală apare la 75% dintre pacienți, apărarea și sensibilitatea abdominală (50% dintre cazuri), la care se adaugă febra moderată (38°C), neliniștea, agitația și confuzia (encefalopatia pancreatică). Icterul poate fi dat de un calcul coledocian inclavat (pancreatită biliară), fie în urma compresiunii CBP care apare în procesul de pancreatită cefalică. Dozarea amilazelor serice și urinare rămâne investigația diagnostică uzuală în condiții de urgență, dar din cauza lipsei de specificitate și a valorii prognostice relative, valorile sale nu se corelează cu severitatea pancreatitei acute. Diagnosticul de pancreatită acută este cel mai adesea stabilit prin prezența a două dintre următoarele trei

criterii: durere abdominală; amilază serică și / sau lipază mai mare decât de trei ori limita superioară a normalului, și / sau modificări de imagistică abdominală.

Pancreatita cronică este caracterizată prin episoade recurente de dureri abdominale asociate atât insuficienței pancreatice exocrine cât și endocrine și atrofiei progresive a parenchimului pancreatic [89]. În afară de durere, pancreatita cronică poate conduce la pseudochisturi, fistule, hemoragie digestivă superioară din cauza varicelor esofagiene rupte (cauzate de tromboza venei porte sau splenice), stenoză de duct biliar sau duodenal, ascită și cancer pancreatic [89]. Triada clasică : calcificări pancreatice, steatoree, și diabet zaharat sugerează diagnosticul, dar apar împreună numai în stadiile foarte avansate de boală [90].

Cancerul pancreatic are un tablou clinic din care pot face parte unul sau mai multe dintre următoarele semne și simptome, majoritatea lor fiind nespecifice. Durerea este surdă, agravată de ingestia alimentară, cu evoluție în crize intense. Mecanismele sunt obstructiv, mecanic (prin distensie) și chimic. Scăderea ponderală se datorează atât inapetenței cât și insuficienței pancreatice exocrine, cu malabsorbție. Tulburările de tranzit apar tardiv, datorită invaziei locale sau metastazelor peritoneale. Intoleranța digestivă severă poate apărea prin obstrucție tumorală duodenală. Icterul este de tip mecanic, cu urină hiper Cromă și scaune decolorate; apare mai precoce în localizările la nivelul capului pancreatic, prin compresiunea tumorală, și mai tardiv în localizările corporeo-caudale, unde compresiunea este dată mai curând de către adenopatii și / sau metastaze. Intoleranța la glucoză sau debutul diabetului zaharat pot constitui primul semn al unei tumori pancreatice, posibil datorate secreției de către tumoră a unui polipeptid amidoid insular pancreatic (PAIP). Modificările biochimice mai frecvente pot fi grupate în patru sindroame: sindromul de colestază, datorat obstrucției, sindromul anemic, ce poate însoți anorexia și malabsorbția, sindromul insuficienței pancreatice exocrine, sindromul de scădere a toleranței la glucoză, datorat secreției de PAIP.

### **3.2 Tehnici imagistice - Ultrasonografia**

Ultrasonografia este deseori prima explorare imagistică efectuată în practica din România, mai ales datorită accesibilității și a costului redus, fiind o metodă non-invazivă, extrem de eficientă în abordarea de urgență a pacientului cu o suspiciune clinică și biologică mare de pancreatită acută. Ultrasonografia ca metodă nu poate identifica pancreatita cronică în stadiile incipiente, având factori care depind atât de examinator cât și de pacient, greutatea excesivă, meteorismul abdominal care împiedică vizualizarea pancreasului dar și varietatea individuală

privind forma, aspectul și ecogenitatea pancreasului [96]. Diagnosticul, stadializarea și prognosticul adenocarcinomului pancreatic ductal nu poate fi realizată cu ajutorul ecografiei transabdominale (încă larg folosită în România) datorită acurateței sale scăzute iar rolul său este considerat însă modest pentru diagnosticul precoce al cancerului pancreatic [100], datorită sensibilității și specificității mici comparativ cu CT convențional și EUS.

### **Ecoendoscopia**

Ecoendoscopia reprezintă până în prezent modalitatea imagistică cea mai promițătoare pentru diagnosticarea pancreatitei cronice [106]. Ecoendoscopia reprezintă metoda non-chirurgicală cu sensibilitatea cea mai mare în detectarea formațiunilor pancreatice benigne sau maligne [110]. Sensibilitatea ecoendoscopiei în detectarea formațiunilor pancreatice este de 98%, superioară tomografiei computerizate convenționale care are sensibilitate de 86% dacă se folosesc sisteme de tomografie computerizată moderne cu 32 sau 64 spire (CT multidetector). Ecoendoscopia este, de asemenea, superioară examenului CT pentru stabilirea preoperatorie a rezecabilității tumorii în cancerul pancreatic non-metastatic [111]. Folosirea puncției fine aspirative (PFA) ghidată EUS crește specificitatea metodei la 100% având și o sensibilitate mare, cuprinsă între 80% și 95% cu o acuratețe de până la 99% [114]. Ecoendoscopia cu puncție fină aspirativă este considerată superioară CT și RM pentru diagnosticul tumorilor neuroendocrine pancreatice.

### **Tomografia computerizată**

Tomografia computerizată este considerată standardul de aur în diagnosticul pancreatitei acute [94], evaluând modificările în regiunea pancreatică, peripancreatică și la distanță, fiind util în diagnosticul diferențial cu alte boli intraabdominale, cum ar fi perforația asociată cu un ulcer gastroduodenal [124]. Tomografia computerizată nu poate exclude stadiul incipient de pancreatită cronică, dar are o sensibilitate mai mare în detecția calcificărilor pancreatice comparativ cu ultrasonografia [96]. Tomografia computerizată spirală este considerată actual modalitatea de elecție folosită pentru diagnosticul și stadializarea inițială a pacienților cu suspiciune clinică și ecografică de cancer pancreatic [125]. Sensibilitatea CT spirală pentru diagnosticul cancerului pancreatic este de aproximativ 70-85%, net superioară ecografiei transabdominale și CT convenționale care au sensibilitate sub 50-75%.

## **Rezonanța magnetică**

Tehnicile de rezonanță magnetică au astfel avantajul de a evalua pancreasul, structurile vasculare și căile biliare, respectiv ductul pancreatic, într-o singură examinare, fiind propuse pentru evaluarea inițială a pacienților cu cancer pancreatic [131]. Tehnicile de rezonanță magnetică permit astfel detecția leziunii și evaluarea diagnosticului diferențial benign-malign, stadializarea loco-regională și la distanță, respectiv aprecierea rezecabilității.

### **3.3 Tehnici moleculare – polimorfisme**

În lanțul injuriei pancreatice, o serie de factori genetici, cum ar fi citokine (IL-1; IL-1 antagonist al receptorilor; IL-6; IL-10; TNF- $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ ), factori legați de angiogeneză (VEGFR-2; CXCR-2 ; PAR-1; EGF, TGF- $\beta$ ), genele receptorilor de recunoaștere a modelului (CD14) și iNOS pot juca un rol important, în ceea ce privește severitatea și evoluția procesului inflamator [132]. Studii recente au arătat că polimorfismul iNOS Ser608Leu a fost asociat semnificativ cu riscul de a dezvolta pancreatită acută și a arătat o frecvență mai mare a genotipului TT la pacienții cu pancreatită acută, comparativ cu pacienții sănătoși [132]. iNOS Ser608Leu (rs2297518) poate fi de asemenea folosit ca marker pentru a evalua riscul de pancreatită acută [132]. Factorii asociați cu angiogeneza cum ar fi VEGF, VEGFR-2, RET, EGF, TGF- $\beta$  joacă un rol important în rezultatele cancerului pancreatic [149]. Studii de polimorfisme ale genei VEGF (+405 G/C, dar nu -460 T/C și 936 C/T), au demonstrat o asociere cu susceptibilitatea la adenocarcinomul pancreatic [150]. Recent, s-a demonstrat că polimorfismul VEGFR2-906 C>T are un impact semnificativ în cancerul pancreatic ca predictor al supraviețuirii și recurenței tumorii [148,151]. Astfel, polimorfismele VEGFR2 pot reprezenta un marker de prognostic important pentru cancerul pancreatic [151]. Toate studiile efectuate în ultimii ani au arătat că evaluarea citokinelor, a factorilor asociați cu angiogeneza, a diverselor polimorfisme poate furniza un important instrument genetic și molecular, care poate fi utilizat pentru a identifica diverse subgrupuri din populația cu risc ridicat pentru tulburări pancreatice, poate stabili prognosticul pacienților și alege un curs optim de tratament.



## **PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚII PERSONALE**

### **Capitolul 4**

#### **4.1 Obiective**

Tema de cercetare este de mare actualitate pentru că explorează și îmbunătățește descoperirile recente în domeniul patologiei pancreatice (pancreatita acută, cronică și neoplasm pancreatic) bazându-se în special pe evaluarea polimorfismelor. Studiul actual a avut ca obiective extinderea cunoștințelor legate de polimorfismele genetice implicate în patologia pancreatică. Am avut în vedere faptul că la momentul actual literatura de specialitate cuprinde studii limitate despre polimorfismele genetice care sunt implicate în patologia pancreatică, iar rezultatele lor constituie subiect de controversă. Markerii biologici au avantajul de a fi cuantificabili de-a lungul cascadei carcinogenezei oferind astfel posibilitatea măsurării lor standardizate și, totodată, pot fi aplicați pentru diagnosticul precoce al tumorilor pancreatice sau identificarea pacienților cu risc înalt, permițând monitorizarea lor îndeaproape. În identificarea markerilor de prognostic ai supraviețuirii pacienților cu patologie pancreatică vom încerca să răspundem la întrebările: este markerul de prognostic mai ușor accesibil, printr-o probă de sânge, de exemplu, fără a fi necesar specimen de țesut?

#### **4.2 Material și metode**

În studiu au fost incluși pacienți internați în Clinica de Gastroenterologie, Clinica Chirurgie I și Clinica Chirurgie II din cadrul Spitalului Clinic Judetean de Urgenta Craiova. Numărul total de pacienți cu patologie pancreatică incluși în studiu a fost de 168. Patologia pancreatică a fost reprezentată de pancreatita acută (n=110), pancreatită cronică (n=25), neoplasm de pancreas (n=33). Lotul control a fost alcătuit din pacienți care nu prezintă patologie pancreatică (n=232). Pacienților din loturile de studiu și martor li s-a recoltat sânge pe anticoagulant (EDTA) necesar studierii polimorfismelor. Înaintea prelevării de materiale biologice în vederea studiului toți pacienții au semnat consimțământul informat după explicarea detaliilor și lămurirea eventualelor neclarități apărute. Identificarea polimorfismelor genelor VEGFR2 și iNOS a fost efectuată în Laboratorul de Genomică Umană, din cadrul Centrului de Cercetare în Gastroenterologie și Hepatologie al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova. Protocolul de identificare a polimorfismelor genetice a inclus următoarele etape:

izolarea ADN-ului genomic din sânge, evaluarea spectrofotometrică, identificarea variantelor alelice prin tehnica Real Time PCR cu sonde TaqMan, interpretarea rezultatelor.

#### **4.3 Rezultate**

Pentru prelucrarea datelor s-au folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu suita XLSTAT pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța) și programul IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Informațiile obținute au fost stocate în fișiere Microsoft Excel, fiind apoi prelucrate statistic, în vederea analizării relațiilor dintre datele clinice și paraclinice ale pacienților. Prelucrarea secundară a datelor - analiza descriptivă a lotului în funcție de diferiți parametri, calcularea parametrilor statistici fundamentali, media și deviația standard, a raportului lor, numit coeficient de variație, reprezentarea lor grafică - a fost efectuată cu programul Excel, cu ajutorul comenzilor Pivot Tables, Functions-Statistical, Chart și a modului Data Analysis. Pentru realizarea testelor statistice complexe (testul Chi pătrat, testul Student, testul ANOVA) s-au folosit comenzi din modulul XLSTAT sau au fost efectuate cu ajutorul programului SPSS. Deși împărțirea pe decade de vârstă a pacienților arată diferențe între lotul de studiu și lotul martor, vârsta medie a celor două loturi nu diferă semnificativ ( $p$  test Student=0,419>0,05), per ansamblu pacienții cu vârste mai mici, cu pancreatită acută, fiind contrabalansați de pacienții cu neoplasm, cu vârste mai înaintate, ajungându-se la o medie apropiată de cea a pacienților din lotul martor. Pacienții din lotul de studiu, cu patologie pancreatică, sunt în proporție mai mare fumători decât cei din lotul martor, diferența observată este semnificativă din punct de vedere statistic. Există corespondență extrem de puternică (acord foarte important) între evaluarea pancreatitei acute prin scorul Ranson, Balthazar și prin clasificarea Atlanta.

#### **4.4 Rezultate polimorfisme**

În lotul de studiu varianta GG al VEGFR2 este întâlnită la mai mult de 25% dintre pacienți, în timp ce în lotul martor se regăsește la doar 16%. În concluzie, putem afirma că poate exista o asociere între prezența genotipului GG al VEGFR2 și patologia pancreatică. Am analizat prevalența genotipurile iNOS în lotul de studiu și lotul martor și am constatat că nu există diferențe semnificative între cele două loturi. Deși există anumite diferențe procentuale în ceea ce privește repartitia cazurilor cu diagnostice diferite (neoplasm, pancreatită acută și pancreatită cronică) în funcție de genotipul iNOS identificat, aceste diferențe nu sunt semnificative din punct de vedere statistic. Nu am remarcat diferențe de repartitie pentru cazurile cu diagnostice diferite

(neoplasm, pancreatită acută și pancreatită cronică) în funcție de genotipul VEGFR2 identificat, care a fost ne semnificativ statistic.

#### **4.5 Discuții**

Conform ultimelor date din literatura de specialitate, patologia pancreatică este o patologie larg întâlnită și destul de frecventă în ultima perioadă, iar adenocarcinomul pancreatic reprezintă cancerul digestiv cu cel mai sever prognostic, supraviețuirea la 5 ani fiind sub 5%. Astfel, un diagnostic precoce reprezintă singura șansă pentru prelungirea vieții acestor pacienți. Conform datelor rezultate în urma studiului nostru am observat că genotipurile VEGFR-2 se întâlnesc în proporții semnificativ diferite în cele două loturi, iar în lotul cu patologie pancreatică varianta GG este întâlnită la mai mult de 25% dintre pacienți, tocmai de aceea putem afirma că poate exista o asociere între prezența genotipului GG al VEGFR-2 și patologia pancreatică studiată în lotul nostru. În ceea ce privește prevalența genotipurilor iNOS, conform datelor rezultate în urma studiului nostru am observat că nu există diferențe semnificative între cele două loturi.

#### **4.6 Concluzii**

Am constatat că pentru polimorfismul VEGFR2 (KDR) – 604A>G, prezența genotipului GG este asociată cu un risc de aproximativ două ori mai mare de a dezvolta o patologie inflamatorie sau tumorală cu localizare pancreatică. În model dominant, purtătorii alelei G (genotipurile AG+GG) au un risc de aproximativ 1.4 ori mai mare de a dezvolta pancreatită acută sau cronică sau cancer de pancreas. Rezultatele obținute pentru polimorfismul iNOS2 – 2087A>G nu au fost corelate statistic cu riscul pacienților de a dezvolta patologie inflamatorie sau tumorală cu localizare pancreatică. Deși lotul de studiu nu a fost foarte numeros, el a respectat echilibrul statistic Hardy-Weinberg. În mare parte, rezultatele și concluziile studiului efectuat sunt în concordanță cu literatura de specialitate.

## Bibliografia selectivă

1. Funariu G. Pancreatita acută. În: Grigorescu M. Tratat de gastroenterologie, vol. II., București: Ed. Medicală Națională 2001: 282-323.
2. Stimac D, Mikolasevic I, Krznaric-Zrnic I et al. Epidemiology of Acute Pancreatitis in the North Adriatic Region of Croatia during the Last Ten Years review article. *Gastroenterology Research and Practice* Volume 2013; Article ID 956149.
4. Tran D.D, van Schilfgaarde R. Prevalence and mortality from acute pancreatitis in the Netherlands during 1971–1990. *Digestion*, 1994; 55: 342–343.
5. Thomson S.R., Hendry W.S., McFarlane G.A. et al., Epidemiology and outcome of acute pancreatitis. *British Journal of Surgery*, 1987; 74(5): 398–401.
6. Appelros S., Borgstrom A. Incidence, aetiology and mortality rate of acute pancreatitis over 10 years in a defined urban population in Sweden. *British Journal of Surgery*, 1999; 86(4): 465–470.
7. Halvorsen F.A., Ritland S. Acute pancreatitis in Buskerud County, Norway: incidence and etiology. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1996; 31(4): 411–414.
8. Jaakkola M., Nordback I. Pancreatitis in Finland between 1970 and 1989. *Gut*, 1993; 34(9): 1255–1260.
9. Go V. L. W. Etiology and epidemiology of pancreatitis in the United States, in *Acute Pancreatitis: Diagnosis and Therapy*, E. L. Bradley III, 1994, Ed., pp. 235–239, Raven Press, New York, USA.
10. Renner I.G., Savage W.T., Pantoja J.L. et al., Death due to acute pancreatitis. A retrospective analysis of 405 autopsy cases. *Digestive Diseases and Sciences*, 1985; 30 (10): 1005–1018.
11. Fan S.T., Lai E.C.S., Mok F.P.T. et al., Prediction of the severity of acute pancreatitis. *American Journal of Surgery*, 1993; 166(3): 262-269.
12. Gullo L., Migliori M., Olah A. et al., Acute pancreatitis in five European countries: etiology and mortality. *Pancreas*, 2002; 24(3): 223–227.
16. Díte P, Starý K, Novotný I et al., Incidence of chronic pancreatitis in the Czech Republic. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, 2001;13(6):749-50.
17. Yadav D, Lowenfels A.B., The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Gastroenterology*. 2013; 144(6): 1252–1261.
21. Simon B, Printz H. Epidemiological trends in pancreatic neoplasias. *Dig Dis*. 2001; 19:6-14.
22. Ryu J.K., Hong S.M., Karikari C.A. et al. Aberrant MicroRNA-155 expression is an early event in the multistep progression of pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatol* 2010; 10:66-73.
23. Kesavan Y, Giovannucci E, Fuchs CS et al. A prospective study of magnesium and iron intake and pancreatic cancer in men. *Am J Epidemiol*. 2010;171:233-24.
25. Jemal A, Murray T, Samuels A, et al. Cancer statistics 2003. *CA Cancer J Clin*. 2003; 53: 5-26.
26. Cascinu S, Falconi M, Valentini V, et al. Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2010; 21(5): 55-58.
27. La Vecchia C, Lucchini F, Negri E, et al. Trends of cancer mortality in Europa, 1959-1989. *Eur J Cancer* 1992; 28:132-235.
37. Stolzenberg-Solomon R.Z, Cross A.J, Silverman D.T, et al. Meat and meat-mutagen intake and pancreatic cancer risk in the NIH-AARP cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007; 16:2664–75.
60. Truninger K, Schmid P.A, Hoffmann M.M, et al. Recurrent acute and chronic pancreatitis in two brothers with familial chylomicronemia syndrome. *Pancreas*. 2006; 32:215–9.
62. Sadr-Azodi O, Sanders D.S, Murray J.A, et al. Patients With Celiac Disease Have an Increased Risk for Pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012; 10:1136–42. e3.
72. Maitra A, Hruban R.H. Pancreatic Cancer. *Annu Rev Pathol*. 2008 ; 3: 157–188.
73. Korc M Pathways for aberrant angiogenesis in pancreatic cancer Review. *Molecular Cancer* 2003; 2:8

- 76 Feldmann G, Beaty R, Hruban RH, et al. Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007;14:224-32.
- 88 Derikx M.H, Drenth J.P Genetic factors in chronic pancreatitis; implications for diagnosis, management and prognosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010; 24(3):251-70.
- 89 Gheonea DI, Vilmann P, Săftoiu A, et al. The differential diagnosis of chronic pancreatitis. *Curr Health Sci J*. 2009; 35(3):159-64.
- 90 Freedman Steven, Clinical manifestations and diagnosis of chronic pancreatitis in adults Up To Date 2013
- 94 Golea A., Badea R., Socaciu M., et al. Quantitative analysis of tissue perfusion using contrast-enhanced transabdominal ultrasound (CEUS) in the evaluation of the severity of acute pancreatitis. *Med Ultrason*. 2010; 12(3):198-204.
- 96 Badea R., Diaconu B. Contribution of ultrasound to the diagnosis of chronic pancreatitis and to evaluating its main complications. *Rom J Gastroenterol*. 2005;14(2):183-9.
- 100 DiMagno E.P, Reber H.A, Tempero M.A. AGA technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *American Gastroenterological Association. Gastroenterology* 1999; 117:1464-1484. Review.
- 106 Raimondo M, Wallace M.B. Diagnosis of early chronic pancreatitis by endoscopic ultrasound. Are we there yet? *JOP*. 2004; 5(1):1-7.
- 110 Endosonography. Hawes RH, Fockens P eds, Elsevier Saunders 2006.
- 111 DeWitt J, Devereaux B, Chriswell M, et al. Comparison of endoscopic ultrasound and multidetector computed tomography for the detection and staging of pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 2004; 141: 753-763
- 114 Agarwal B, Abu-Hamda E, Molke et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and multidetector spiral CT in the diagnosis of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(5): 844-50
- 124 Kiriyama S, Gabata T, Takada T, et al. New diagnostic criteria of acute pancreatitis. *JPN Guidelines 2010. J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17(1):24–36
- 125 Dewitt J, Devereaux B.M, Lehman G.A, et al. Comparison of endoscopic ultrasound and computed tomography for the preoperative evaluation of pancreatic cancer: a systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 717-725.
- 131 Materne R, Van Beers B.E, Gigot J.F, et al. Extrahepatic biliary obstruction: magnetic resonance imaging compared with endoscopic ultrasonography. *Endoscopy* 2000; 32: 3-9.
- 132 Özhan G, Sari F.M, Vefai M et al. Short Communication - Acute Pancreatitis Is Associated with Ser608Leu *iNOS* Polymorphism. *Folia Biologica (Praha)* 2012; 58, 256-260
- 149 Donahue T.R, Hines O.J. CXCR2 and RET single nucleotide polymorphisms in pancreatic cancer. *World J Surg* 2009; 33(4): 710-5.
- 150 Sivaprasad S, Govardhan B, Harithakrishna R et al. Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphism and increased serum VEGF concentration with pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatology* 2013; 13(3):267-72
- 151 Uzunoglu F.G, Kolbe J, Wikman H et al. VEGFR-2, CXCR-2 and PAR-1 germline polymorphisms as predictors of survival in pancreatic carcinoma. *Annals of Oncology* 2013; 24: 1282–1290.