

**Rizikové faktory karcinomu pankreatu a možnosti
jejich využití v diagnostice**

Habilitační práce

MUDr. Jan Trna, Ph.D.

Interní gastroenterologická klinika

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity

Brno 2017

Obsah

Předmluva a poděkování.....	5
Abstrakt.....	6
Abstract.....	8
1. Úvod.....	11
1.1. Epidemiologie karcinomu pankreatu	11
<i>Geryk E, Dítě P, Trna J et al. Zátěž nádory pankreatu u české populace. Onkologie. 2010;4(5):322–325.....</i>	11
<i>Geryk E, Dítě P, Trna J et al. Klinická stadia u nemocných s vícečetnými novotvary. Onkologie. 2010;4(6):357–361.....</i>	11
1.2. Etiologie karcinomu pankreatu a rizikové faktory.....	20
1.3. Patologie karcinomu pankreatu.....	21
1.4. Klinické projevy karcinomu pankreatu.....	22
1.5. Diagnostika karcinomu pankreatu	23
1.5.1. Zobrazovací metody	23
1.5.2. Zobrazovací metody v případě chronické pankreatitidy.....	24
1.5.3. Laboratorní diagnostika – diagnostické markery.....	25
<i>Novotný I, Dítě P, Dastych M, Žáková A, Trna J, Novotná H, Nechutová H. Tumor marker M2-pyruvate-kinase in differential diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer. Hepatogastroenterology. 2008;55(85):1475-7.....</i>	26
1.5.4. Aktuální vývoj možností laboratorní diagnostiky karcinomu pankreatu.....	30
1.5.5. IgG4 a karcinom pankreatu.....	31
<i>Dítě P, Novotný I, Kala Z, Hermanová M, Nechutová H, Dvořáčková J, Martínek A, Trna J. Pozitivita imunoglobulinu IgG4 v krevním séru u osob s karcinomem slinivky břišní. Gastroent Hepatol. 2012;66(3):187-190.</i>	31
2. Rizikové faktory vzniku karcinomu pankreatu.....	36
<i>Dítě P, Novotný I, Trna J et al. Je chronická pankreatitida rizikový faktor karcinomu pankreatu? Čes Ger Rev. 2007;5(2):65-67.</i>	36
2.1. Kouření a karcinom pankreatu.....	40
<i>Dítě P, Trna J, Bělobrádková J et al. Pankreatický karcinom – vztah k diabetes mellitus a kouření. Vnitř Lek. 2011;57(2):159–162.</i>	40
2.2. Chronická pankreatitida a karcinom pankreatu	45
2.2.1. Etiopatogeneze, klasifikace a diagnostika chronické pankreatitidy	45

<i>Dítě P, Trna J, Novotný I et al. Chronická pankreatitida v roce 2011. Vnitř Lek. 2011;57(11):891-6.</i>	45
2.2.2. Léčba a dispenzarizace pacientů s chronickou pankreatitidou	51
<i>Trna J, Stibůrek O, Shánělová M et al. Principy léčby chronické pankreatitidy. Gastroenterol prax. 2016;15(1):31-35.</i>	52
2.2.3. Karcinogeneze v terénu chronické pankreatitidy	57
<i>Dítě P, Novotný I, Přecechtělová M, Růžička M, Žáková A, Hermanová M, Trna J, Nechutová H. Incidence of pancreatic carcinoma in patients with chronic pancreatitis. Hepatogastroenterology. 2010;57(101):957-60.</i>	58
<i>Dítě P, Hermanová M, Trna J et al. The role of chronic inflammation: chronic pancreatitis as a risk factor of pancreatic cancer. Dig Dis. 2012;30(3):277-83.</i>	58
2.2.4. Význam oxidativního stresu u chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu	70
<i>Podborská M, Ševčíková A, Trna J et al. Increased markers of oxidative stress in plasma of patients with chronic pancreatitis. Neuro Endocrinol Lett. 2009;30 Suppl 1:116-20.</i>	71
2.2.5. Model karcinogeneze přes spektrum PanIN (pankreatické intraepiteliální neoplázie) lézí	77
<i>Hermanová M, Trna J, Nenutil R, Dítě P, Kala Z. Expression of COX-2 is associated with accumulation of p53 in pancreatic cancer: analysis of COX-2 and p53 expression in premalignant and malignant ductal pancreatic lesions. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2008;20(8):732-9. – rovnocenné prvoautorství</i>	78
2.2.6. Autoimunitní pankreatitida	87
<i>Dítě P, Novotný I, Trna J, Ševčíková A. Autoimmune pancreatitis. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2008;22(1):131-143.</i>	87
2.2.6.1. Pankreatický karcinom a autoimunitní pankreatitida	100
<i>Ševčíková A, Novotný I, Hermanová M, Procházka V, Trna J, Dítě P. Akutní pankreatitida jako první symptom karcinomu pankreatu v terénu difúzní autoimunní pankreatitidy. Buletin HPB 2008;16(3):39-40.</i>	102
<i>Ševčíková A, Novotný I, Hermanová M, Procházka V, Trna J, Dítě P. Acute pancreatitis as a first symptom of pancreatic cancer in a diffuse autoimmune pancreatitis patient. Scripta Medica Facultatis Medicae Universitatis Brunensis Masarykianae 2009;82(4):249-251.</i>	102
2.3. Diabetes mellitus a karcinom pankreatu	108
2.3.1. Etiologické vztahy mezi karcinomem pankreatu a diabetes mellitus	108
<i>Trna J, Dítě P, Hermanová M, Ševčíková A. The relationship between diabetes mellitus and pancreatic cancer and the implications for screening. Gastroenterol Pol. 2010;17:313-316.</i>	109

2.3.2. Četnost diabetes mellitus u pacientů s karcinomem pankreatu	113
<i>Trna J, Dítě P, Adamcová A, Crawford BJ, Hermanová M. Diabetes mellitus in pancreatic cancer patients in the Czech Republic: sex differences. Exp Diabetes Res. 2012;2012:414893.....</i>	
	114
3. Asymptomatický karcinom pankreatu u osob s nově diagnostikovaným diabetem – dosud nepublikovaná data.....	120
3.1. Výsledky EUS vyšetření	121
3.2. MALDI (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací) vyšetření sér s cílem nalézt diagnostické diabetogenní markery	123
4. Závěr	129
5. Seznam literatury doprovodného komentáře	131
6. Seznam tabulek	137
7. Seznam obrázků	137

Předmluva a poděkování

Tato habilitační práce je sestavena jako soubor 17 publikovaných vědeckých prací, jichž je uchazeč autorem či spoluautorem. Publikované práce jsou vloženy v grafické podobě a jazyce odpovídajícím příslušnému časopisu. Jednotlivé články jsou propojeny doplňujícím textem, který je uvádí do kontextu se současným stavem znalostí, dále je zmíněna případná hodnota impact factoru daného časopisu a počet citací příslušného článku ve Web of Science. Práce též obsahuje dosud nepublikovaná data, která uchazeč nashromáždil v průběhu své výzkumné práce.

Velký dík patří těm kolegům z IGEEK a dalších spolupracujících pracovišť, kteří mě v průběhu mé dosavadní kariéry podporovali.

Zvláštní poděkování bych chtěl věnovat prof. MUDr. Petru Dítě, DrSc., který ve mě zažehl zájem o studium nemocí pankreatu a je mi po celou kariéru laskavým mentorem, dále prof. MUDr. Markétě Hermanové, Ph.D., která je dlouhodobě motorem prací z oboru pankreatologie a prof. Santhi Vegemu, M.D., díky kterému jsem měl jedinečnou možnost se seznámit s kulturou a způsobem práce na Mayo Clinic.

V neposlední řadě patří poděkování mé rodině za podporu a toleranci.

Věnováno památce doc. RNDr. Josefa Trny, CSc. (1954 – 2017).

Abstrakt

Karcinom pankreatu představuje závažný problém současné medicíny. Jeho incidence narůstá a přes veškerý pokrok v diagnostice a terapii zůstává prognóza velmi špatná. Jedním z důvodů této nepříznivé situace je dlouhý asymptomatický průběh onemocnění, díky kterému je diagnóza většinou stanovena v pozdním stádiu a kurativní chirurgický výkon již není možný. Z těchto důvodů se současný výzkum soustředí mimo jiné na identifikaci rizikových faktorů a definování skupin osob ve vysokém riziku vzniku karcinomu pankreatu, což by mohlo umožnit screening a zvýšit šanci na včasné stanovení diagnózy.

Tato habilitační práce je sestavena jako soubor 17 publikovaných vědeckých prací, jichž je uchazeč autorem či spoluautorem. Tyto články se spolu s propojujícím textem zabývají různými aspekty vzniku karcinomu pankreatu, popisem rizikových faktorů a jejich potenciálním využitím v diagnostice. Zvláštní pozornost je věnována chronické pankreatitidě, která je prokazatelně spojena se zvýšeným rizikem rozvoje karcinomu pankreatu, a diabetu jako potenciálnímu prvnímu symptomu. Závěrečnou část práce tvoří dosud nepublikovaná data získaná na skupině pacientů s nově diagnostikovaným diabetem.

V předkládaných již publikovaných studiích mimo jiné poukazujeme na nárůst karcinomu pankreatu v České republice – mezi lety 1989 a 2005 se prevalence zvýšila u mužů o 45,9 % a u žen dokonce o 119,1 %. Diagnóza je bohužel i nadále stanovena většinou v pokročilých stádiích.

Z řady známých rizikových faktorů vzniku karcinomu pankreatu podporují námi publikovaná data roli kouření jako nezávislého rizikového faktoru karcinogeneze. Toto zvýšení rizika bylo v naší studii obzvláště patrné u pacientů s diabetem. Ve sledované skupině 83 pacientů s karcinomem pankreatu bylo více než 50 % kuřáků s diabetem.

Značného pokroku bylo dosaženo na poli tumor markerů. Tato práce prezentuje jejich přehled a výsledky vlastního výzkumu, který se zabýval markerem M2 pyruvát kinázou včetně možností jeho potenciálního využití v diferenciální diagnostice chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu.

Několik článků s propojujícím komentářem se věnuje roli chronického zánětu v terénu chronické pankreatitidy a jeho vztahu ke karcinogenezi. Potvrdili jsme signifikantní zvýšení rizika karcinomu pankreatu, ale též extrapancreatických malignit ve skupině

pacientů s chronickou pankreatitidou. V průběhu čtrnáctiletého sledování skupiny 223 pacientů s chronickou pankreatitidou jsme zachytili 13 případů karcinomu pankreatu (5,8 %), 3 případy karcinomu žaludku a jeden případ karcinomu jícnu. Tyto výsledky potvrzují nutnost důsledné dispenzarizace těchto pacientů. Jedním z důvodů zvýšení rizika rozvoje karcinomu pankreatu v terénu chronické pankreatitidy se zdá být oxidativní stres související se zánětlivými procesy. V souladu s touto teorií jsme našli v plazmě pacientů s chronickou pankreatitidou signifikantně zvýšené hladiny markerů oxidativního stresu oproti zdravým kontrolám. Také jsme prokázali signifikantně narůstající expresi cyklooxygenázy-2 a p53 mezi jednotlivými stupni premaligních PanIN lézí a karcinomem pankreatu. Tento nálezn podporuje všeobecně akceptovaný model karcinogeneze přes spektrum PanIN lézí a podtrhuje roli chronického zánětu. Tyto znalosti jsou již využívány v diagnostice a do budoucna je možné, že budou běžněji využitelné i v cílené terapii.

Část textu je též věnována autoimunitní pankreatitidě a nejasnostem v míře zvýšení rizika rozvoje pankreatických, ale i extrapankreatických malignit. Řada publikovaných prací dosahuje protichůdných výsledků a na definitivní rozhodnutí je tudíž nutné vyčkat. Diskutována a dokumentována na základě publikované kazuistiky je obávaná situace záměny autoimunitní pankreatitidy za karcinom pankreatu.

Vztah diabetes mellitus a karcinomu pankreatu představuje závěrečnou část této habilitační práce. Uvedený přehledový článek a související komentář vysvětluje v detailech komplikovaný dvoustranný vztah mezi těmito chorobami, kdy dlouhotrvající diabetes představuje rizikový faktor vzniku karcinomu pankreatu, zatímco nově se objevující diabetes může být první manifestací této malignity. Naše retrospektivní studie potvrdila, že prevalence diabetu mezi pacienty s karcinomem pankreatu je signifikantně vyšší než u kontrolní skupiny. Novým, dosud nepublikovaným, zjištěním byl vyšší podíl žen diabetiček mezi pacienty s karcinomem pankreatu (25 % ve skupině mužů oproti 43,9 % ve skupině žen), zatímco v kontrolní skupině byla prevalence diabetu u obou pohlaví podobná. Tento nálezn by mohl hrát roli ve stratifikaci pacientů do různých rizikových skupin a zasluhuje další výzkum.

Poslední kapitolu prezentované habilitační práce tvoří výsledky prospektivní studie pacientů s nově diagnostikovaným diabetem a klinickým profilem suspektním

z přítomnosti karcinomu pankreatu. Ve shodě s ostatními autory se klinický profil diabetu nezdá dostatečným k definování rizikové skupiny pacientů s vysokým záchytem karcinomu pankreatu – v naší skupině jsme endosonograficky nezachytili žádný případ. Zklamáním skončila též laboratorní část studie porovávající proteinové profily sér pacientů s karcinomem pankreatu, chronickou pankreatitidou a zdravých kontrol. Profily nebyly dostatečně rozdílné a nepřinesly zásadní pomoc v diferenciální diagnostice jednotlivých skupin.

Abstract

Pancreatic cancer represents a serious problem for medicine today. Its incidence is increasing and despite the efforts for the improvement of diagnostics and therapy the prognosis remains dismal. One of the primary causes for this unfavorable situation is the long asymptomatic course of the disease, so when the disease is discovered, it is usually in the advanced stage and curative surgery is typically impossible. Therefore, current pancreatologic research focuses on the identification of risk factors and the determination of high-risk patient groups to increase the potential for screening and early diagnosis of pancreatic cancer.

This thesis consists of 17 articles of which the applicant is author or co-author. These articles, completed with connecting commentaries, are dealing with various aspects of pancreatic cancer development and diagnostics. Special focus is paid to chronic pancreatitis as a precancerous condition and diabetes mellitus as a potential early symptom of pancreatic cancer. Previously unpublished study of patients with newly diagnosed diabetes represents the last part of the thesis.

We proved an increase in pancreatic cancer in the population of the Czech Republic - between 1989–2005 the prevalence increased by 45,9 % in males and by 119,1 % in females. Unfortunately most of tumors are still diagnosed in advanced stages.

Among many known risk factors of pancreatic cancer we supported the evidence that smoking is an independent risk factor for pancreatic cancer induction and it importantly increases the risk of pancreatic cancer in patients with diabetes mellitus. In the group of 83 pancreatic cancer patients who were divided into 3 groups (non-smokers with diabetes

mellitus, smokers and smokers with diabetes mellitus) more than 50 % were smokers with diabetes mellitus.

Substantial amount of research has been done in the field of tumor markers. The thesis presents their overview and also results of our own research of M2-pyruvate-kinase and its potential useful role in differential diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer.

Several articles with connecting commentary address the role of chronic inflammation in chronic pancreatitis and its relation to carcinogenesis. We confirmed a significant risk of pancreatic and also extra-pancreatic cancers among patients with chronic pancreatitis. During a 14 years observation of 223 chronic pancreatitis patients pancreatic cancer was detected in 13 cases (5,8 %), 3 patients were diagnosed with gastric cancer and one with esophageal cancer. This confirms the importance of thorough follow-up of these patients. One of the reasons of increased risk of pancreatic cancer in chronic pancreatitis is believed to be the oxidative stress accompanying the inflammatory processes. In agreement with this theory, we found significantly increased levels of markers of oxidative stress in plasma of chronic pancreatitis patients compared with healthy controls. We also observed significantly increasing expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and p53 between different grades of premalignant PanIN lesions and pancreatic cancer. These findings confirm the generally accepted pancreatic cancer progression model and supported the role of chronic inflammation of its development. This knowledge is already useful in diagnostics and in future it may also offer opportunities for targeted therapy.

Diabetes mellitus and pancreatic cancer constitute the last portion of the thesis. The presented review article and the related commentary explain in detail the complicated two-sided relationship of the diseases, with long-standing diabetes representing a risk factor for pancreatic cancer and new-onset diabetes being sometimes a manifestation of the malignancy. Our retrospective study proved that the prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer patients is significantly higher than in the control group. Pancreatic cancer patients with diabetes in our were predominantly females (25 % of male population vs 43,9 % of female population), while diabetes was equally prevalent among sexes in the control group. This finding was new to the world literature and it suggests

that patient sex may play important role in the risk stratification and this issue deserves further research.

The last chapter contains the results of the prospective study of patients with newly diagnosed diabetes mellitus with clinical profile that may be suspicious of relationship with pancreatic cancer. These patients were screened endosonographically to exclude pancreatic cancer. Unfortunately, we did not discover any case of pancreatic cancer among these individuals which is in agreement with researchers who do not find the clinical profile helpful in distinguishing between the two forms of diabetes. In laboratory part of the study the sera of pancreatic cancer patients were tested for the presence of diabetogenic factors and then the protein profiling was compared with healthy controls with intention to find diagnostic differences. Unfortunately, also this part of the project ended up in disappointment and the profiling did not prove helpful in differentiating patients with pancreatic cancer.

1. Úvod

1.1. Epidemiologie karcinomu pankreatu

Karcinom pankreatu (PC) patří k palčivým problémům současné medicíny. Pod pojmem PC se nejčastěji rozumí karcinom z duktálních buněk (tzv. duktální adenokarcinom), který představuje cca 90 % malignit pankreatu. Tato terminologie je použita i v této práci. Jedná se o nádor rezistentní na léčbu, jehož incidence má vzrůstající tendenci s průměrným pětiletým přežitím cca 5 % (1). Nepříznivá prognóza souvisí mimo jiné s pozdní diagnostikou - většina případů je diagnostikována v lokálně pokročilé fázi a často již s přítomností vzdálených metastáz.

Absence recentních epidemiologických dat posuzujících vývoj v četnosti PC v České republice vedla naši skupinu k vypracování epidemiologických studií, které potvrdily vzrůstající trend v incidenci PC v české populaci - prevalence PC vzrostla mezi lety 1989 až 2005 u mužů o 45,9 % a u žen dokonce o 119,1 %. Většina nádorů je diagnostikována v pozdních stádiích a dle našich výsledků bohužel nedochází ke zlepšování této nepříznivé situace v čase. Byla též zkoumána zajímavá problematika vícečetných nádorů pankreatu, synchronních a metachronních nádorů jiných orgánů. Nalezli jsme vysoké množství následných nádorů pankreatu u pacientů dispenzarizovaných pro jiné malignity a též vysoké množství následných nádorů jiných orgánů u pacientů, kteří přežívají s PC. Průměrný interval do objevení následné malignity u pacientů s PC byl 3,2 let u mužů a 2,1 let u žen. Nejčastěji šlo o nádory trávicí, dýchací a urogenitální a v případě žen ještě prsu. Zarážející je však množství následných nádorů zachycených v pokročilých stádiích (u mužů 54,9 % a u žen 45,1 %), což svědčí pro ne zcela ideální fungování dispenzarizace onkologických pacientů.

Geryk E, Dítě P, Trna J et al. Zátěž nádory pankreatu u české populace. Onkologie. 2010;4(5):322–325.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 15 % - sběr a analýza dat)

Geryk E, Dítě P, Trna J et al. Klinická stadia u nemocných s vícečetnými novotvary. Onkologie. 2010;4(6):357–361.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 15 % - sběr a analýza dat)

Zátěž nádory pankreatu u české populace

Edvard Geryk¹, Petr Dítě¹, Jan Trna¹, Jiří Kozel², Milan Konečný², Petr Kubíček², Radim Štampach²

¹Fakultní nemocnice, Brno

²Geografický ústav Přírodovědecké fakulty Brno

Za posledních 46 let bylo u české populace evidováno 56 828 onemocnění nádorem pankreatu (PC) dg. C25, s incidencí 19,1 na 100 tis. mužů a 18,2 na 100 tis. žen v roce 2007. Prevalence PC vzrostla mezi roky 1989–2005 u mužů o 45,9 % na 629, u žen o 119,1 % na 241. Z 3 632 vícečetných nádorů PC, evidovaných za období 1976–2005 v registru, bylo u mužů 321 (1,5 %) primárních a 1 581 (7,4 %) následných, u žen 241 (1,2 %) primárních a 1 489 (7,7 %) následných, které představovaly 11 % ze všech nově hlášených PC. Duplicitní PC byl početnější u žen, multiplicitní u mužů. Počet primárních PC se zvýšil na 34 případů a následných PC na 258 v r. 2005. Téměř polovina vícečetných PC u mužů a třetina u žen byla evidována ve věku 35–64 let. Z 3 632 vícečetných PC se více vyskytlo v kraji Severomoravském 11,8 %, Jihomoravském 11,1 % a v Praze 8,1 %. Průměrný interval mezi primárním PC a jinými následnými novotvary (dg. C00–D48) byl 3,2 roku u mužů a 2,1 roku u žen, poměr synchronních a metachronních případů byl 1:0,7 u mužů a 1:0,5 u žen. Nejpočetnější po primárních PC byly u mužů nádory trávicích, dýchacích a močových cest a pohlavních orgánů, u žen nádory trávicích cest, pohlavních orgánů, močových cest a prsu. Následným PC nejčastěji předcházely u mužů primární nádory kůže, trávicích, dýchacích a močových cest a pohlavních orgánů, u žen nádory kůže, pohlavních orgánů, trávicích cest a prsu. Z 562 primárních PC zemřelo k říjnu 2007 celkem 526 (93,6 %) nemocných a přežilo jen 23 mužů a 13 žen. Český screeningový program a dispenzární péče se nejeví dostatečný vzhledem k riziku vícečetných PC, ale také ostatních nádorů GIT a zejména kolorekta. Rozbor 165 050 následných novotvarů u 125 262 nemocných s nádory pokračuje s průběžnými sděleními.

Klíčová slova: nádor pankreatu, incidence, prevalence, vícečetné zhubné novotvary, primární a následné nádory.

Pancreas cancer burden of the Czech population

Over the last 46 years, there were registered 56 828 cases of pancreatic cancer (PC; ICD-10: C25) in the Czech population with rate 19.1 per 100,000 males and 18.2 per 100,000 females in 2007. Between 1989–2005 the prevalence of PC increased by 45.9% in males to 629, by 119.1% in females to 241. A total of 3,632 multiple PC registered in 1976–2005 in the Czech Cancer Registry there were 321 (1.5%) primary and 1 581 (7.4%) subsequent in males, 241 (1.2%) primary and 1 489 (7.7%) subsequent in females, of which were 11% multiple PC of all new registered PC. Double PC were higher in females, multiple in males. The number of primary PC increased to 34 cases, of subsequent to 258 in 2005. Almost half of multiple PC in males and third of females were registered in the age group of 35–64 years. Of 3,632 multiple PC were distributed mostly in the Northern 11.8% and Southern 11.1% Moravia regions and in Prague 8.1%. The average interval between primary PC and subsequent other neoplasms (ICD-10: C00–D48) was 3.2 years in males and 2.1 years in females, the ratio of synchronous to metachronous cases was 1:0.7 in males and 1:0.5 in females. The most frequent cases following primary PC in males were cancers of digestive, respiratory, urinary and genital tract, in females these were cancers of digestive, genital and urinary tract and breast. The most frequent cancers preceding the next subsequent PC included in males primary cancers of the skin, digestive, respiratory, urinary and genital tract, in females cancers of the skin, genital and digestive tract and breast. Up to October 2007, of 562 primary PC died 526 (93.6%) patients and survived only 23 males and 13 females. The Czech screening programme and medical surveillance is decisive in view of risk of multiple PC and digestive, especially colorectal cancers. The analysis of 165,050 subsequent neoplasms in 125,262 cancer patients continue with ongoing issues.

Key words: cancer of pancreas, incidence, prevalence, multiple malignant neoplasms, primary and subsequent cancers.

Onkologie 2010; 4(5): 322–325

Věnováno památce prof. MUDr. Adolfa Závky, DrSc., emeritního přednosty Ústavu sociálního lékařství LF MU Brno, ušlechtilého člověka a tvůrčího odborníka (†20. 6. 2010 v 92 letech).

Úvod

I když v porovnání s jinými malignitami je incidence pankreatického karcinomu (PC) v populaci nižší, představuje jednu z mimořádně závažných diagnóz. Jeho světový počet 277 tis. nově odhadovaných onemocnění v roce 2008 dosahuje 2,5 % ze všech nádorů (1), osmou příčinu nádorové mortality ve světové populaci

a čtvrtou v rozvinutých zemích (2). Ze 40 tisíc nemocných, ročně diagnostikovaných s PC v EU, je 36 tisíc případů neresekabilních (3). Dlouhý interval 1–10 let od progresu do vzniku invazivního tumoru nabízí řadu možností pro jeho včasné zjištění a zahájení léčby, která u této historicky infaustní diagnózy vykazuje ve statistických přehledech prokazatelné výsledky. S tímto cílem jsme porovnali údaje o vývoji počtu nových onemocnění PC, jeho prevalence a výskytu vícečetných případů PC, na které jsme u české populace poprvé upozornili v přehledech nádorových multiplicit (4).

Metodika

Údaje o počtech nádorů pankreatu (dg. C25) byly získány z databáze Národního onkologického registru ČR: incidence (za 1959–2007) z recentních edičních přehledů (5), prevalence (za 1989–2005) a multiplicity (za 1976–2005) z dat verifikovaných ÚZIS ČR k 17. 10. 2007. Jejich časová a geografická distribuce byla doplněna zastoupením mužů a žen v ekonomicky produktivním věku 35–64 let. Primární a následné nádory pankreatu byly porovnány s výskytem následných a předcházejících ostatních novotvarů u diagnostických skupin karcinomu út

a hlitanu (C00–C14), trávícího traktu (C15–C26), dýchacích cest (C30–C39), melanomu (C43), kůže (C44), prsu (C50), pohlaví žen (C51–57), pohlaví mužů (C60–63), vylučovacích cest (C64–68), krevetvorby a lymfatických uzlin (C81–96), ca in situ (D00–D09) a novotvarů nejisté povahy (D37–D48). K rodným číslům nemocných byly přiřazeny příslušné diagnózy a po kontrole dat byla z důvodu jejich ochrany identifikace odstraněna.

Výsledek

V letech 1959–2007 bylo u české populace evidováno 56 828 onemocnění PC, z toho 30 168 (53,1 %) u mužů a 26 660 (46,9 %) u žen. Za toto období z 289 482 nově zjištěných nádorů gastrointestinálního traktu (GIT) představoval PC u mužů 10,4 %, z 241 795 nádorů GIT u žen 11 %. V pětiletých cyklech (bez počtů roku 1959) vzrostl podíl PC u mužů ze 7,1 % na 11,8 %, u žen z 6,5 % na 15,5 % (graf 1) s recentní incidencí 19,1 u mužů a 18,2 u žen na 100 tis. v roce 2007. Nová onemocnění ve věku 35–64 let ze všech nemocných s PC se mezi roky 1975 a 2007 pohybovala u mužů v rozsahu 41,1–59,2 %, u žen 24,7–29,5 % (graf 2), přičemž 10 403 (průměr 43,2 %) mužů,

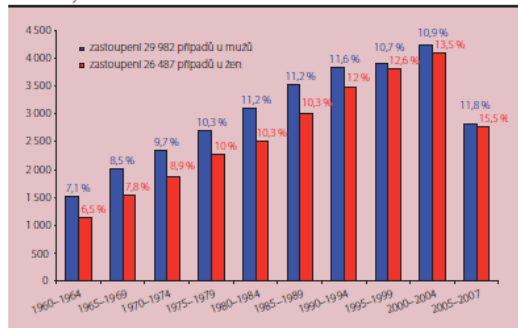
diagnostikovaných za celé období v ekonomicky produktivním věku, bylo mnohem nepříznivějších než 5 903 (průměr 26,9 %) u žen.

V letech 1989–2005 vzrostl roční počet přežívajících s PC z 431 mužů na 629 (o 45,9 %), z 355 žen na 637 (o 79,4 %), což při rychlejší nárůstu prevalence ostatních nádorů GIT se projevilo poklesem podílu mužů s PC na 2,3 % a žen na 2,8 % v roce 2005 (graf 3). Prevalence mužů ve věku 35–64 let mezi nemocnými s PC ve všech věkových skupinách se zvýšila z 217 na 312 (o 43,8 %), u žen ze 110 na 241 (o 119,1 %). Při celkovém zvýšení počtu přežívajících s PC se podíl mužů v ekonomicky produktivním věku snížil na 49,6 %, u žen zvýšil na 37,8 % v 2005 (graf 4). S výjimkou nemocných v Praze, vykazovala prevalence PC ve většině krajů nárůst s vyšším zastoupením za celé období v kraji Moravskoslezském 13,1 %, Středočeském 12,4 % a Jihomoravském 10,4 % (graf 5).

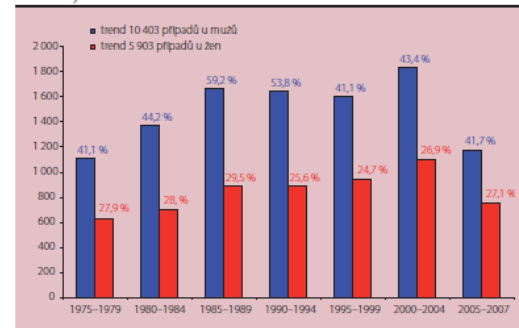
V letech 1976–2005 z 21 487 onemocnění PC u mužů, nahlášených do registru nádorů, bylo 321 (1,5 %) primárních a 1 581 (7,4 %) následných případů spojených s dalšími novotvary, z 19 435 onemocnění PC u žen 241 (1,2 %) primárních a 1 489 (7,7 %) následných případů. Následný PC

se vyskytl jako 2. diagnóza u 1 374 (72,2 %) mužů a 1 321 (76,4 %) žen, 3. diagnóza u 163 (8,6 %) mužů a 140 (8,1 %) žen, 4. diagnóza u 26 (1,4 %) mužů a 18 (1 %) žen, 5.–9. diagnóza u 18 (0,9 %) mužů a 10 (0,6 %) žen. Za uvedené období vzrostl za obě pohlaví počet primárních PC na 34 a následných PC na 258 případů v roce 2005 (graf 6). V porovnání s ženami se u mužů vyskytly vícečetné PC v mladším věku: do 69 let 61,4 % primárních a 45,3 % následných případů, zatímco u žen 46,1 % primárních a 36 % následných (graf 7), přitom ve věku 35–64 let bylo evidováno u mužů 624 oproti 405 vícečetných PC u žen. Z 3 632 multiplicit PC bylo 460 (12,7 %) v kraji Moravskoslezském, 429 (11,8 %) Jihomoravském, 404 (11,1 %) v Praze, 295 (8,1 %) Středočeském, 281 (7,7 %) Olomouckém a Jihočeském, 276 (7,6 %) Plzeňském, 219 (6 %) Zlínském, 210 (5,8 %) Královéhradeckém, 200 (5,5 %) Ústeckém, 169 (4,7 %) na Vysočině, 163 (4,5 %) Pardubickém, 128 (3,5 %) Karlovarském a 117 (3,2 %) Libereckém, jejichž primární a následné případy byly rozlišeny dle pohlaví (graf 8). Z následných 587 novotvarů (dg. C00–D48) po primárních PC se vyskytlo synchronně, tj. do jednoho roku po zjištění primárního PC, celkem 193 (58,1 %) případů

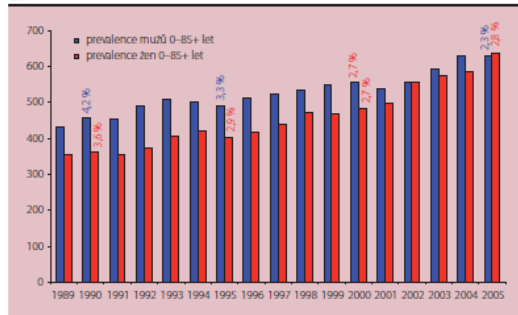
Graf 1. Zastoupení 56 468 nových onemocnění nádory pankreatu mezi karcinomy GIT



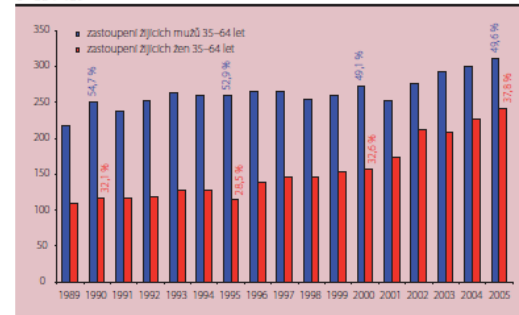
Graf 2. Zastoupení nových nádorů pankreatu ve věku 35–64 let mezi nemocnými ve věku 0–85+ let



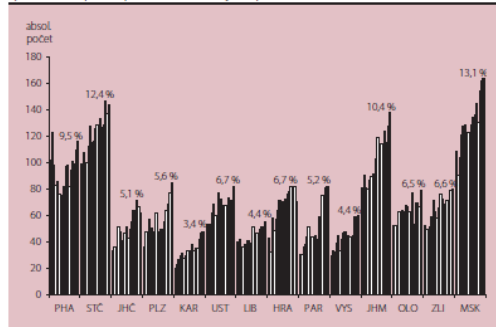
Graf 3. Zastoupení prevalence nádorů pankreatu u žijících s karcinomy GIT



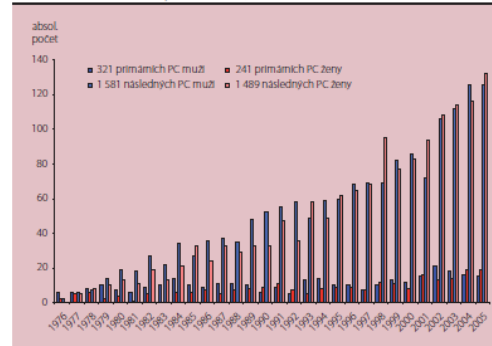
Graf 4. Žijící s nádory pankreatu ve věku 35–64 let u nemocných ve věku 0–85+ let



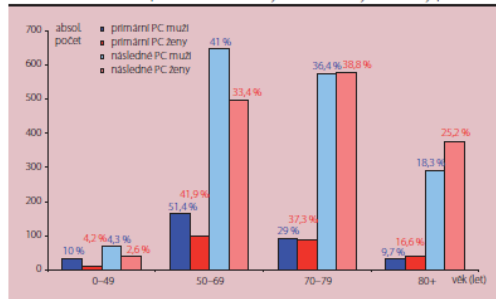
Graf 5. Vývoj počtu žijících s nádory pankreatu podle krajů 1989–2005 (procentní podíl příslušného kraje v prevalenci za celé období)



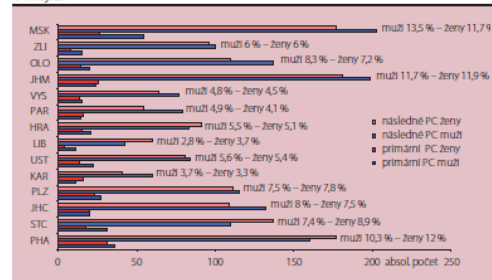
Graf 6. Trend vícečetných nádorů pankreatu u 1902 mužů a 1730 žen



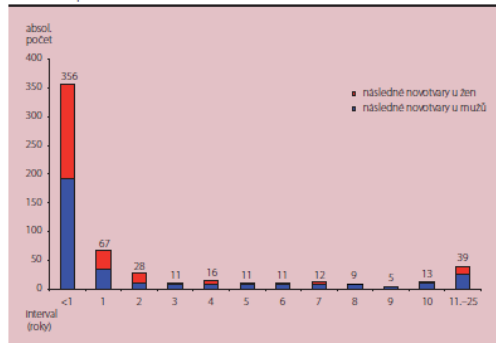
Graf 7. Věkové zastoupení 3632 nemocných s vícečetnými nádory pankreatu



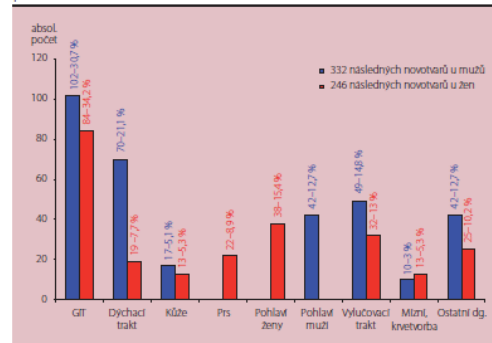
Graf 8. Zastoupení 3632 vícečetných nádorů pankreatu podle pohlaví v krajích



Graf 9. Následné novotvary podle doby intervalu výskytu po primárních nádorech pankreatu



Graf 10. Zastoupení 578 následných novotvarů po primárních nádorech pankreatu



u mužů a 163 (66,3%) u žen, metachronně 139 (41,9%) u mužů a 83 (74,4%) u žen s poměrem synchronních a metachronních případů 1:0,7 u mužů a 1:0,5 u žen (graf 9). Průměrný interval výskytu následných novotvarů po primárních PC byl u mužů 3,2 roku, u žen 2,1 roku.

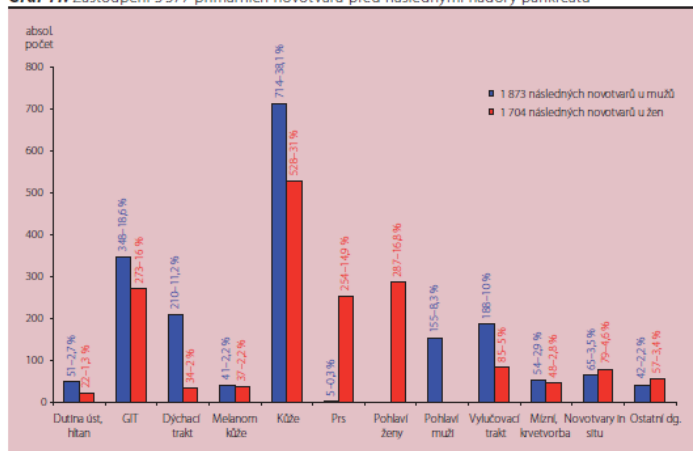
Po primárních PC byly u mužů čtenější následné nádory GIT 30,7%, dýchacích 21,1% a močových cest 14,8% a pohlavních orgánů 12,7%, u žen nádory GIT 34,2%, pohlavních or-

gánů 15,4%, močových cest 13% a prsu 8,9% (graf 10). Následným PC, bez ohledu na jejich pořadí, předcházely u mužů nejvíce nádory kůže 38,1%, GIT 18,6%, dýchacích 11,2% a močových cest 10%, pohlavních orgánů 8,3%, u žen nádory kůže 31%, pohlavních orgánů 16,8%, GIT 16% a prsu 14,9% (graf 11). Z 562 nemocných, evidovaných s primárním PC, zemřelo k 27. 10. 2007 celkem 526 (93,6%) osob a žilo 36 (6,4%), z toho 23 mužů a 13 žen.

Diskuze

Z dosavadní analýzy nemocných s vícečetnými histologicky a orgánově odlišnými novotvarů představoval pankreatický karcinom za obě pohlaví 562 (0,4%) ze 125 262 všech primárních novotvarů a 3 070 (1,9%) ze 165 050 všech následných (4). Multiplicity PC zahrnovaly mezi nově hlášenými onemocněnými PC u obou pohlaví shodně 8,9%, z toho bylo víc primárních PC (1,5%) u mužů proti ženám, u žen naopak víc následných PC (7,6%).

Graf 11. Zastoupení 3 577 primárních novotvarů před následnými nádory pankreatu



Při celkovém počtu 3 632 vícečetných onemocnění PC za 30 let připadlo ročně na každý region průměrně 9 případů, spojených s dalšími novotvary. Tento počet se může jevit natolik nicotným, že jakékoliv kritické posouzení zavedených algoritmů dispenzární péče evokuje zbytečně vynaložené úsilí. Pokud je však tento záměr posouzen z hlediska potřeb gastroenterologie, pak v letech 1976–2005 se vyskytlo mezi 193 547 nově diagnostikovanými nádory GIT u mužů 8 862 (4,6%) primárních a 14 626 (7,6%) následných nádorů GIT, u žen z 162 077 nových onemocnění 5 882 (3,6%) primárních a 12 164 (7,5%) následných, což představuje za obě pohlaví 11,7% nádorů GIT, spojených s výskytem dalších novotvarů (6). Roční průměr v každém regionu se tak zvýšil na 99 vícečetných nádorů GIT, z nich 35 primárních a 64 následných. Tyto varující údaje by měly být důvodem k posouzení naplně a intervalů dispenzárních prohlídek jak v gastroenterologii, tak v ostatních oborech o to víc, oč větší jsou rostoucí náklady na zdravotní péči nemocných s vícečetnými novotvary při pokračujícím trendu jejich počtů.

Stanovený průměrný interval výskytu dalšího novotvaru po primárním PC 3,2 roku u mužů a 2,1 roku u žen je zatím nejkratším mezi dosud analyzovanými multiplicitními diagnózami, ze kterých délka intervalu u nemocných po primárním karcinomu kůže byla 7,3 roku (7), prsu 6 let (8), prostaty 4,1 roku (9).

Screening nejzávažnějších nádorů v české populaci neodpovídá zcela eliminaci pokračujících trendů jejich incidence a prevalence zejména s ohledem na zastoupení pokročilých klinických stadií. Vzhledem k vícečetným nádorům je potřebné zaměřit dispenzární péči u onkologicky nemocných na včasné zjištění následných diagnóz, které podle dostupných údajů vykazují největší riziko. Jeho přehlednému zpracování budeme věnovat samostatné sdělení. Extrémně krátká doba přežívání nemocných s pankreatickým karcinomem znemožňuje posouzení dalších primárních novotvarů a vysvětluje chybějící výpočty jejich rizika. Rozbor 38 351 přežívajících s PC nezjistil rozdíl rizika pro následné karcinomy u mužů a žen, jen jeho zvýšení u černošské populace USA. Signifikantně vyšší riziko následných nádorů tenkého střeva a štítné žlázy autoři zpochybnili vzhledem k malým počtům a náhodně zjištěným pitevním nálezům (10). Také další dvě studie PC, založené na datech registrů, neuvádí vyšší rizika dalších nádorů proti ostatní populaci (11, 12).

Závěr

Pokračující nárůst incidence onemocnění pankreatickým nádorem je provázen vyššími prevalenčními počty jako důkaz přínosu nových metod diagnostiky a terapie. Prodlužující se doba přežívání a vyšší počty nemocných přinášejí obecně zvýšené riziko nejen metastáz,

ale i následných primárních novotvarů. I při kratší době přežívání nemocných s PC je nutné počítat s možností vzniku dalších malignit, jichž údaje v české populaci naznačují horší výsledky u mužů.

Poděkování

Autoři vyjadřují poděkování paní Elišce Vankové z ÚZIS ČR za přípravu a kontrolu vstupních údajů. Zpracování přehledu bylo podpořeno grantem IGA MZ ČR č. NS9861-4.

Literatura

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008. *Globocan 2008*. *Int J Canc* 2010; 116: 17 (v tisku).
2. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Cancer incidence and mortality worldwide. *IARC CancerBase No. 10*. IARC Lyon, 2010; <http://globocan.iarc.fr>.
3. Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an update. *Falk Symposium 173*, Brno June 4, 2010; (v tisku).
4. Geryk E, Dítě P, Pešek M, a kol. Následné primární novotvary u 125 262 onkologicky nemocných v České republice 1976–2005. *Onkologie*; 2010; 3(3): 181–189.
5. ÚZIS. Novotvary ČR. Ediční řada Zdravotnická statistika, ÚZIS ČR, 1977–2010, www.uzis.cz.
6. Geryk E, Dítě P, Kozel J, a kol. Nádorové multiplicity v české populaci. *ČLČ*, 2010; 149(4): 178–183.
7. Geryk E, Dítě P, Sedláčková L, a kol. Trend vícečetných nemelanomových nádorů kůže z pohledu jejich epidemiologie. *Dermatologie pro praxi*, 2010; 4(1): 5–9.
8. Geryk E, Bendová M, Kozel J. Karcinom prsu a následné primární zhoubné novotvary v České republice 1976–2005. *Onkologie* 2009; 3(1): 54–61.
9. Geryk E, Dítě P, Kozel J, a kol. Další primární novotvary u nemocných s karcinomem prostaty ve srovnání s jeho incidencí, mortalitou a prevalencí. *Onkologie* 2010; 4(2): 89–93.
10. Stolzenberg-Solomon RZ, Fraumeni JF, Jr., Wideroff L, et al. New malignancies following cancer of the digestive tract, excluding colorectal cancer. In: Curtis RE, et al. New malignancies among cancer survivors: SEER cancer registries 1973–2000. NCI, NIH Publ. No. 05-5302, Bethesda, MD, 2006; p. 59.
11. Hoar SK, Wilson J, et al. Second cancer following cancer of the digestive system in Connecticut, 1935–82. *Natl Canc Inst Monogr*. 1985; 68: 49–82.
12. Lynge E, Jensen OM, et al. Second cancer following cancer of the digestive system in Denmark, 1943–80. *Natl Canc Inst Monogr*. 1985; 68: 277–308.

MUDr. Edvard Geryk
 Fakultní nemocnice Brno-Bohunice
 Jihlavská 20, 625 00 Brno-Bohunice
 egeryk@fnbrno.cz

Klinická stadia u nemocných s vícečetnými novotvary

Edvard Geryk¹, Petr Dítě¹, Jan Trna¹, Jiří Kozel², Milan Konečný²

¹Fakultní nemocnice, Brno

²Geografický ústav Přírodovědecké fakulty MU, Brno

Výsledky na bázi dat Národního onkologického registru ČR z období 1976–2005 uvádí:

- a) Z 125 262 primárních novotvarů (52,1 % mužů, 47,9 % žen) bylo evidováno v časných klinických stadiích 37,1 % nádorů u mužů a 46,6 % u žen, v pokročilých stadiích 9,3 % u mužů a 9,5 % u žen. Neznámá stadia převažovala nad ostatními stadii až do roku 1994. Za celé období převažovali muži ve stadiu IV nad ženami. Nejvíce časných stadií se vyskytlo v Praze, pokročilých stadií v kraji Plzeňském. Po vyloučení neznámých stadií bylo z 54 187 duplicit u mužů 63,8 % v časných stadiích, u žen 71,3 %, v pokročilých stadiích u mužů 18,4 % a 15,8 % u žen. Z ostatních 10 292 multiplicit bylo 16,2 % časných stadií u mužů a 11,7 % u žen, v pokročilých stadiích 1,6 % u mužů a 1,2 % u žen.
- b) Z 165 050 následných novotvarů (54,4 % mužů, 45,6 % žen) – u případů po primárních stadiích I a II. bylo evidováno 21,7 % časných klinických stadií u mužů a 27 % u žen, 5 % pokročilých stadií u mužů a 6 % u žen – u případů po primárních stadiích III a IV bylo evidováno 2,5 % časných stadií u mužů a 3,2 % u žen, 1,8 % pokročilých stadií u mužů a 2,2 % u žen. Pozoruhodných bylo u mužů 12 418 následných nádorů v pokročilých stadiích (13,8 % ze všech 89 796 následných), u žen 10 189 (13,5 % ze všech 75 254 následných) po primárních nádorech stadia III a IV. Mezi následnými pokročilými stadii převažovalo – u mužů 36,9 % nádorů trávicích a 33,1 % dýchacích cest, 10,3 % pohlavních orgánů, 8,1 % močových cest – u žen 37 % nádorů trávicích cest, 21 % prsů, 17,2 % rodidel, 12,8 % dýchacích a 4,5 % močových cest. Je varující, že z vícečetných onemocnění byl každý sedmý nádor gastrointestina u mužů a pátý u žen po primárním novotvaru zjištěn v některém pokročilém klinickém stadiu.
- c) Ze 41 161 přeživajících k 17. 10. 2007 bylo 54,7 % časných stadií u mužů a 58 % u žen, 5 % pokročilých stadiích u mužů a 5,2 % u žen, neznámých stadií 40,3 % u mužů a 36,9 % u žen. Z 84 101 zemřelých bylo 30 % časných stadií u mužů a 39,8 % u žen, 11 % pokročilých stadií u mužů a 12,1 % u žen, neznámých stadií 59 % u mužů a 48,1 % u žen.

Z výsledků lze doporučit, aby přehledy vícečetných diagnóz a jejich stadia se staly součástí ročních statistických přehledů novotvarů u české populace.

Klíčová slova: vícečetné novotvary, časná a pokročilá klinická stadia, jejich rozložení.

Clinical stages in patients with multiple neoplasms

The results based in the Czech Cancer Registry in 1976–2005:

- a) Of the 125,262 primary neoplasms (52.1 % males, 47.9 % females) there were registered 37.1 % of early clinical stages in males and 46.6 % in females, 9.3 % of advanced stages in males and 9.5 % in females. Unknown stages prevailed over the other stages until 1994. The cancers of stage IV prevailed in males during the total period. The most of early stages were in Prague, of advanced stages in Pilsen region. After exclusion of unknown stages, there were of 54,187 duplicities 63.8 % cases of early stages in males and 71.3 % in females; 18.4 % of advanced stages in males and 15.8 % in women. Of other 10,292 multiplicities there were 16.2 % of early stages in males and 11.7 % in females, 1.6 % of advanced stages in males and 1.2 % in females.

- b) Of the 165,050 subsequent neoplasms (54.4 % males, 45.6 % females) – in cases following the primary stages I and II there were registered 21.7 % of early stages in males and 27 % in females, 5 % of advanced stages in males and 6 % in females, – in cases following the primary stages III and IV there were registered 2.5 % of early stages in males and 3.2 % in females, 1.8 % of the advanced stages in males and 2.2 % in females.

There were uncommon the number of 12,418 subsequent tumors of advanced stages in men (13.8 % of total 89,796 subsequent ones) and 10,189 in women (13.5 % of total 75,254 subsequent ones), following the primary cancers of stages III, IV. Between these subsequent and advanced stages predominated – in males 36.9 % cancers of gastrointestinal and 33.1 % respiratory tract, 10.3 % genital organs, 8.1 % urinary tract, – in females 37 % cancers of gastrointestinum, 21 % breast, 17.2 % genital organs, 12.8 % respiratory and 4.5 % urinary tract. It is worrying that of total multiple cases every the seventh gastrointestinal cancer in males and the fifth in females were detected at any advanced clinical stages after primary cancer.

- c) Of 41,161 survived up to October 2007 there were 54.7 % of early stages in males and 58 % in females, 5 % of advanced stages in males and 5.2 % in females, unknown stages 40.3 % in males and 36.9 % in females. Of 84,101 deaths there were 30 % of early stages in males and 39.8 % in females, 11 % of advanced stages in males and 12.1 % in females, unknown stages 59 % in males and 48.1 % in females.

The results can be suggested to list the multiple neoplasms and their clinical stages in the annual statistical reports of cancers in the Czech population.

Key words: multiple neoplasms, early and advanced clinical stages, their distribution.

Úvod

Časná a pokročilá klinická stadia (ST) u nemocných s nově diagnostickými zhoubnými novotvarů zahrnují také případy jejich vícečetných onemocnění. Pro jejich léčbu je podobně jako u primárních nádorů rozhodující klinické stadium. Dispenzární péče primárních nádorů by měla přinést kromě zjištění metastáz i časnější diagnostiku následných orgánově a histologicky odlišných malignit. Posouzení vývoje jejich počtů podle klinických stadií by mělo přispět k doplnění algoritmů dispenzární péče, zaměření screeningů a objasnění příčin nádorových multiplicit. Z nich je popisován vliv genetické predispozice (1–4), předchozí transplantace (5–8), dialýzy (9), radioterapie (10–17) a chemoterapie (18–22). I když četná sdělení poukázala na zvýšené riziko těchto faktorů, jejich vliv nebyl většinou statisticky významný. Přesto je nutné připustit, že jejich vzájemná koincidence může podpořit erupci následných nádorů, které vysoce zatěžují nemocné, jejich rodiny i lékaře, usilující o optimální terapii. Je nesporné, že ve srovnání s metastázou primárního novotvaru zasahuje další malignita do nastaveného léčebného schématu a ovlivní délku přežívání nemocných, jejichž paliativní péče nabývá mimořádné obtížnosti.

Toto vše, vnímáno z pohledu povahy a objemu zdravotní péče, může při pokračujícím nárůstu prevalence novotvarů (23) a vývoje ekonomicky ztížených podmínek zdravotnictví při společenském zadlužení (24) představovat mimořádně krizový problém. Jestliže také z důvodu hledání úsporných opatření je trvale zdůrazňována nutnost brzké diagnostiky nádorového onemocnění, platí tato výzva především u onkologicky dispenzarizovaných se zvýšeným rizikem vzniku dalších novotvarů. Protože zastoupení jejich klinických stadií nebylo v české literatuře dosud popsáno, doplňujeme předběžné sdělení (25) údaji z pokračujícího rozboru 290 312 vícečetných novotvarů, evidovaných u české populace v letech 1976–2005 (26) se zaměřením na pokročilá stadia multiplicit a jejich častějších diagnóz.

Metodika

Údaje o vícečetných novotvarech vycházely z počtu onemocnění, evidovaných v Národním onkologickém registru ČR od května 1976 do prosince 2005 a verifikovaných ÚZIS ČR k 17. 10. 2007. Primární a následné novotvary v rozsahu dg. C00–D48 byly vztaženy k rodným číslům s ochranou osobní identifikace a následně anony-

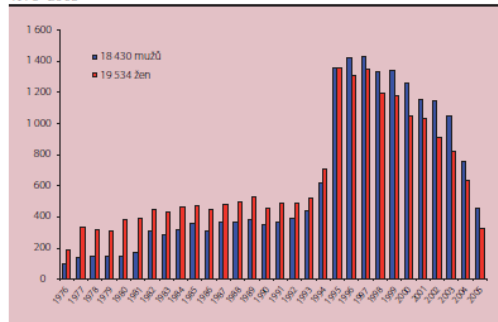
mizovány v sumárních přehledech. Jejich klinická stadia a další údaje odpovídaly klasifikaci nemoci v době určení diagnózy a podléhaly úrovni hlášení příslušné diagnózy v daném regionu.

Výsledky

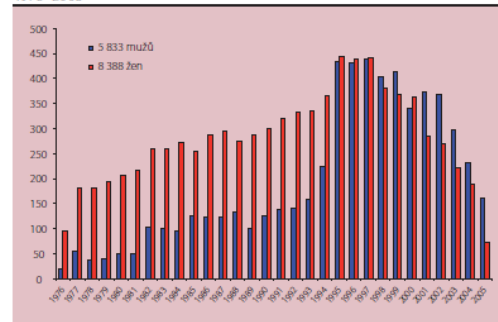
Primární onemocnění

Z 65 292 primárních novotvarů u mužů bylo v časných klinických stadiích zjištěno 24 263 (37,1 %) onemocnění (z toho 28,2 % ve ST I), v pokročilých stadiích 6 051 (9,3 %) případů (z toho 4,2 % ve ST IV), nehlášeno bylo 34 978 (53,6 %) stadií. Z 59 970 novotvarů u žen se vyskytlo v časných stadiích 27 922 (46,6 %) onemocnění (z toho 32,6 % ve ST I), v pokročilých stadiích 5 707 (9,5 %) případů (z toho 3,2 % ve ST IV), nehlášeno bylo 26 341 (43,9 %) stadií. Převahe nehlášených trvala u obou pohlaví až do roku 1994, od dalšího roku jejich počet klesl o 1 667 (57,9 %) zejména u časných stadií primárních novotvarů. U žen převažovaly až do roku 1994 novotvary ve ST I (graf 1), ST II (graf 2) a ST III (graf 3) nad muži, jejichž stadia IV byla proti ženám početnější do roku 1994 i v dalších letech (graf 4) také jako výsledek jejich zpřesněné evidence (graf 5).

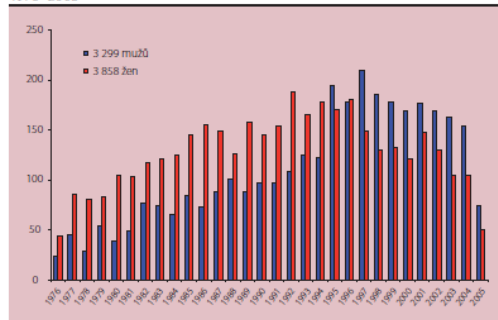
Graf 1. Zastoupení 37 964 nemocných s primárními novotvary ST I v letech 1976–2005



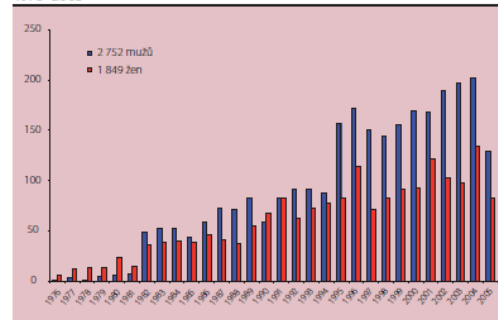
Graf 2. Zastoupení 14 221 nemocných s primárními novotvary ST II v letech 1976–2005



Graf 3. Zastoupení 7 157 nemocných s primárními novotvary ST III v letech 1976–2005



Graf 4. Zastoupení 4 601 nemocných s primárními novotvary ST IV v letech 1976–2005



Do 49 let se vyskytlo 8,3% primárních novotvarů u mužů a 15,6% u žen, v 50–69 letech 52,4% u mužů a 47,8% u žen, v 70–79 letech 31,2% u mužů a 26,7% u žen, nad 80 let 8% u mužů a 9,8% u žen (graf 6). Po vyloučení 61 319 nádorů neznámého stadia zůstalo u mužů 30 314 případů a 33 629 u žen s evidovaným stadiem ve stadiu:

- I a II u mužů ve věku 70–79 let, u žen do 49 let a nad 80 let
- III a IV u mužů ve věku 50–79 let, u žen do 49 let a nad 80 let

Nejvyšší zastoupení z 52 185 nádorů v časných stadiích vykázala Praha 48,2%, nejnižší kraj Vysočina 36,4%. Nejvyšší zastoupení z 11 758 nádorů v pokročilých stadiích vykázal kraj Plzeňský 11,1%, nejméně Královéhradecký 7,1%. U primárních a následných novotvarů byla za celé období víc než polovina nehlášených stadií v pěti krajích (Královéhradecký, Pardubický, Vysočina, Olomoucký, Moravskoslezský) (graf 7).

Z primárních novotvarů bylo 102 371 (81,7%) spojeno s druhým, 15 176 (12,1%) s třetím a 7 715 (6,2%) s více následnými novotvarů. Po vyloučení 61 319 případů neznámého stadia bylo u mužů z 24 934 duplicitních novotvarů 19 351 (63,8%) v časných stadiích a 5 583 (18,4%) v pokročilých, u žen z 29 253 duplicitních novotvarů 23 964 (71,3%) v časných a 5 289 (15,8%) v pokročilých stadiích. Ze zbývajících 5 380 vícečetných novotvarů u mužů bylo 4 912 (16,2%) v časných stadiích a 468 (1,6%) v pokročilých, u žen z 4 376 vícečetných novotvarů bylo 3 958 (11,7%) v časných a 418 (1,2%) v pokročilých stadiích (graf 8).

Následná onemocnění

Z 165 050 následných novotvarů bylo po primárních onemocněních diagnostikováno u mu-

žů 89 796 (54,4%) případů, u žen 75 254 (45,6%). Z těchto počtů se vyskytlo:

- a) u mužů:
- po primárních novotvarech ve ST I a II celkem 19 504 (21,7%) nádorů v časných stadiích a 4 488 (5%) v pokročilých,
 - po primárních novotvarech ve ST III a IV celkem 2 246 (2,5%) nádorů v časných stadiích a 1 640 (1,8%) v pokročilých,
 - neznámých stadií u primárních a následných novotvarů bylo 61 918 (69%) případů, z nich 6 290 (7%) v pokročilých stadiích,
- b) u žen:
- po primárních novotvarech ve ST I a II celkem 20 307 (27%) nádorů v časných stadiích a 4 549 (6%) v pokročilých,
 - po primárních novotvarech ve ST III a IV celkem 2 378 (3,2%) nádorů v časných stadiích a 1 620 (2,2%) v pokročilých,
 - neznámých stadií u primárních a následných novotvarů bylo 46 400 (61,7%) případů, z nich 4 020 (5,3%) v pokročilých stadiích.
- c) podle diagnóz:
- po primárních stadiích I–IV převažovalo 4 546 následných nádorů trávicích a 2 815 dýchacích cest, 1 300 prsů (z nich 3 u mužů), 1 055 rodidel, 722 močových cest a 628 pohlaví mužů,
 - výše uvedených 12 297 následných nádorů ve ST III a IV u obou pohlaví představovalo 7,5% ze všech následných novotvarů s nejčastější lokalizací – z 6 126 případů u mužů 2 262 (36,9%) nádorů trávicích a 2 026 (33,1%) dýchacích cest, 628 (10,3%) pohlaví, 496 (8,1%) močových cest, – z 6 168 případů u žen 2 284 (37%) nádorů trávicích cest, 1 297 (21%) prsů, 1 055 (17,2%) rodidel, 789 (12,8%) dýchacích a 276 (4,5%) močových cest. Muži měli vyšší zastoupení následných nádorů hlavy a krku, dýchacích a vylučovacích cest proti ženám (graf 9).

K 17. 10. 2007 bylo evidováno z 65 292 primárních novotvarů u mužů 18 887 (28,9%) žijících a 46 405 (71,1%) zemřelých, z 59 970 novotvarů u žen 22 274 (37,1%) žijících a 37 696 (62,9%) zemřelých. Ze žijících bylo 54,7% časných stadií u mužů a 58% u žen, 5% pokročilých stadií u mužů a 5,2% u žen, 40,3% neznámých stadií u mužů a 36,9% u žen. Ze zemřelých bylo 30% časných stadií u mužů a 39,8% u žen, 11% pokročilých stadií u mužů a 12,1% u žen, 59% neznámých stadií u mužů a 48,1% u žen (graf 10).

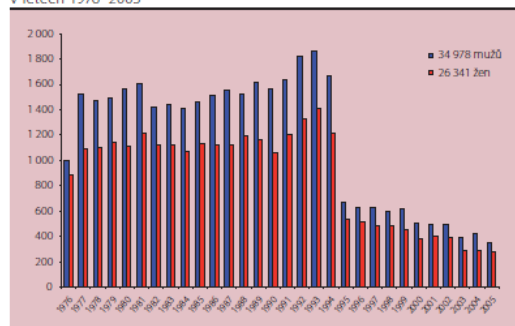
Diskuze

Předpokládali jsme, že i přes potíže, spojené se systematickou dispenzární péčí o onkologicky nemocné, bude mezi dalšími orgánově, topograficky a histologicky odlišnými následnými novotvarů jen nízký podíl jejich pokročilých stadií, protože jak terapeutické zkušenosti a bdělost lékařů, tak snaha samotných onkologicky nemocných o co nejdřívejší přežití a kvalitu života by měly navodit optimální podmínky pro oboustrannou spolupráci a pochopení. Uvedené počty potvrzují, že se tento předpoklad z řady temných příčin nenaplnil.

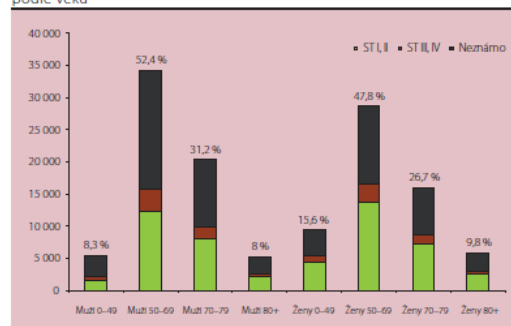
Po primárních novotvarech bylo ve stadiích III a IV diagnostikováno 22 607 následných onemocnění, z toho u mužů 12 418 (54,9%) a 10 189 (45,1%) u žen. Tato pokročilá onemocnění představovala z počtu všech následných novotvarů 13,8% u mužů a 13,5% u žen. Z 1 430 458 nově zjištěných novotvarů (dg. C00–C97), evidovaných v registru nádorů ČR od května 1976 do prosince 2005, uvedených v úvodním přehledu (27), bylo z 743 507 onemocnění u mužů 1,7% následných pokročilých stadií a z 686 951 onemocnění u žen 1,5% případů.

Je výskyt následných pokročilých stadií a jejich diagnóz vysoký nebo nízký? Odpovědí je 77 854 nádorů (40 595 muži, 37 259 ženy), evidovaných v časných stadiích, které mezi následnými novotvarů představovaly 45,2% případů u mužů

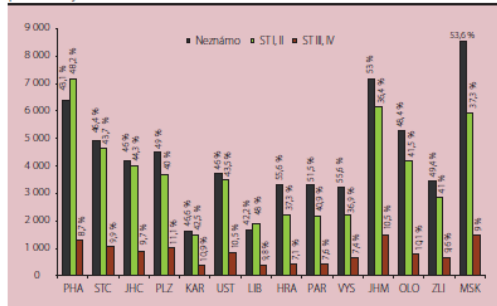
Graf 5. Zastoupení 61 319 nemocných s primárními novotvarů ST neznámé v letech 1976–2005



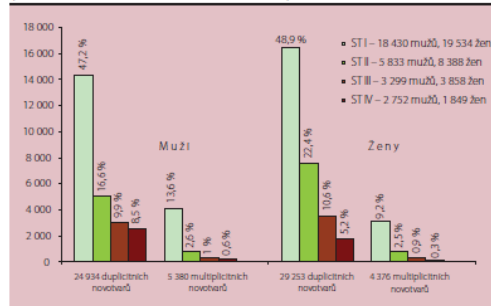
Graf 6. Klinická stadia vícečetných novotvarů u 65 292 mužů a 59 970 žen podle věku



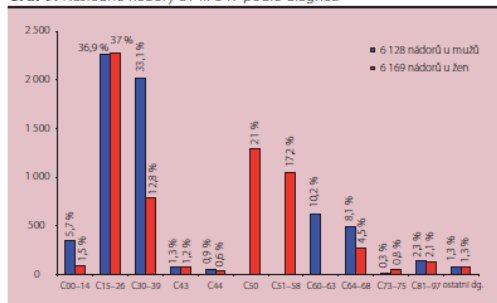
Graf 7. Klinická stadia u 125 262 nemocných s primárními novotvary podle krajů



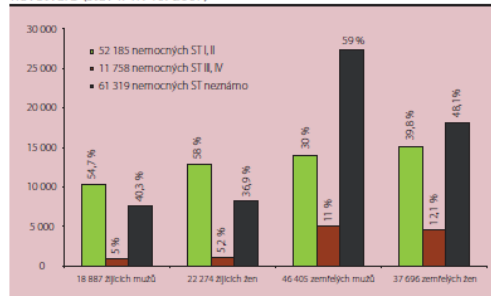
Graf 8. Četnost primárních novotvarů podle klinických stadií a pohlaví (bez 61 319 novotvarů neznámého stadia)



Graf 9. Následné nádory ST III a IV podle diagnóz



Graf 10. Zastoupení žijících a zemřelých podle klinických stadií primárních novotvarů (stav k 17. 10. 2007)



a 49,5% u žen. Následná onemocnění se týkala také 4 756 novotvarů in situ (dg. D00-D09), 1 904 novotvarů neznámé povahy (dg. D37-D48) a dalších nejméně 6 232 diagnóz, nepodléhajících hlášení klinického stadia. I po jejich odečtení bylo 62% nehlášených stadií u následných nádorů u mužů a 56,3% u žen vyšších, které zkruslovaly vývoj v letech 1976–1994. Příčinou chybění klinického stadia může být zjištění nádoru při pitvě (DCO), náhlé úmrtí pacienta, kontraindikace léčby nebo její odmítnutí, část případů byla způsobena neúplným nahlášením onemocnění do registru. Z klinického pohledu zasluhuje pozornost 22 607 následných karcinomů ve stadiu III a IV. Jejich rozbor by mohl přinést důvody k dispenzárním opatřením u nejpočetnějších diagnóz a jejich komentáři proto bude věnováno další sdělení.

U obou pohlaví byla po primárních stadiích III a IV nejpočetnější pokročilá stadia nádorů trávicích cest jako důkaz pro zlepšení jejich dispenzarizace a screeningu zejména karcinomu kolorekta. Pomineme-li multiplicitně nejpočetnější nemelanomové nádory kůže, které předcházely výskytu většiny následných novotvarů (28), pak 41,5 tisíce nádorů trávicích cest, spojených s výskytem dalších novotvarů, zahrnovalo 12,1%

ze všech nádorů gastrointestina evidovaných v letech 1976–2005 (29). Přitom z 14 626 následných karcinomů trávicích cest u mužů a 12 164 u žen (kterým předcházelo 17 592, respektive 13 929 jiných novotvarů s dg. C00-D48) bylo zjištěno ve ST III a IV u 2 262 (15,5%) mužů a 2 284 (18,8%) žen, tj. každý sedmý nádor gastrointestina u mužů a pátý u žen po primárním novotvaru byl evidován v pokročilém klinickém stadiu.

Závěr

I když dosavadní výsledky přináší zatím víc otázek než odpovědí, evokují počty vícečetných novotvarů potřebu optimalizace algoritmů dispenzární péče. Vzhledem ke sledování vývoje by se měly stát přehledy vícečetných diagnóz a jejich klinická stadia obligatorní součástí ročních statistických přehledů novotvarů také u české populace, podobně jako je tomu ve výstupech renomovaných registrů nádorů (30).

Za pomoc při přípravě, ověření a interpretaci vstupních dat děkujeme paní Elišce Vankové, odborné pracovníci ÚZIS ČR.

Zpracování výsledků bylo podpořeno grantem IGA NS 9861-4.

Literatura

- Hsada M, Garber JE, Fung CY, et al. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(8): 606–611.
- Muto S, Horie S, Takahashi S, et al. Genetic and epigenetic alterations in normal bladder epithellum in patients with metachronous bladder cancer. *Cancer Res* 2000; 60(15): 4021–4025.
- Kirchhoff T, Kauff ND, Mitra N, et al. BRCA mutations and risk of prostate cancer in Ashkenazi Jews. *Clin Cancer Res* 2004; 10(9): 2918–2921.
- Nelson HD, Huffman LH, Fu R, et al. Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2005; 143(5): 362–379.
- Birkeland SA, Storm HH, Lamm LU, et al. Cancer risk after renal transplantation in the Nordic countries, 1964–1986. *Int J Cancer* 1995; 60(2): 183–189.
- Curtis RE, Rowlings PA, Deeg HJ, et al. Solid cancers after bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1999; 336(13): 897–904.
- Socié G, Curtis RE, Deeg HJ, et al. New malignant diseases after allogeneic marrow transplantation for childhood acute leukemia. *J Clin Oncol* 2000; 18(2): 348–357.
- Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med* 2003; 348(17): 1681–1691.
- Fairley CK, Shell AG, McNeil JJ, et al. The risk of anogenital malignancies in dialysis and transplant patients. *Clin Nephrol* 1994; 41(2): 101–105.
- Huang J, Walker R, Groome PG, et al. Risk of thyroid carcinoma in a female population after radiotherapy for breast carcinoma. *Cancer* 2001; 92(6): 1411–1418.

11. Holland JM, Arsanjani A, Liem BJ, et al. Second malignancies in early stage laryngeal carcinoma patients treated with radiotherapy. *J Laryngol Otol* 2002; 116(3): 190–193.
12. Baxter NN, Tepper JE, Durham SB, et al. Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study. *Gastroenterology*, 2005; 128: 819–824.
13. Clarke M, Collins R, Darby S, et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005; 366(9503): 2087–2106.
14. Darby SC, McGale P, Taylor CW, et al. Long-term mortality from heart disease and lung cancer after radiotherapy for early breast cancer: prospective cohort study of about 300,000 women in US SEER cancer registries. *Lancet Oncol* 2005; 6(8): 557–565.
15. Kirova YM, Vilcoq JR, Asselain B, et al. Radiation-induced sarcomas after radiotherapy for breast carcinoma: a large-scale single-institution review. *Cancer* 2005; 104(4): 856–863.
16. Rubino C, Shamsaldin A, La MG, et al. Radiation dose and risk of soft tissue and bone sarcoma after breast cancer treatment. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 89(3): 277–288.
17. Zablotska LB, Chak A, Das A, et al. Increased risk of squamous cell esophageal cancer after adjuvant radiation therapy for primary breast cancer. *Am J Epidemiol* 2005; 161(4): 330–337.
18. Valagussa P, Moliterni A, Terenziani M, et al. Second malignancies following CMF-based adjuvant chemotherapy in resectable breast cancer. *Ann Oncol* 1994; 5(9): 803–808.
19. Kaldor JM, Day NE, Kittelmann B, et al. Bladder tumours following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case-control study. *Int J Cancer* 1995; 63(1): 1–6.
20. Travis LB, Gospodarowicz M, Curtis RE, et al. Lung cancer following chemotherapy and radiotherapy for Hodgkin's disease. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(3): 182–192.
21. Curtis RE, Freedman DM, Sherman ME, et al. Risk of malignant mixed müllerian tumors after tamoxifen therapy for breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(1): 70–74.
22. Swerdlow AJ, Jones ME. Tamoxifen treatment for breast cancer and risk of endometrial cancer: a case-control study. *British Tamoxifen Second Cancer Study Group. J Natl Cancer Inst* 2005; 97(5): 375–384.
23. Konečný M, Geryk E, Kubíček P, kol. Prevalence nádorů v České republice 1989: 2005–2015. PIF MU Brno, 2008; 69: ISBN 978-80-903255-2-4.
24. Geryk E, Dítě P, kol. Zátěž nádory a jejich multiplicita. *Čas. Lék. Čes.* 2011; v tisku.
25. Geryk E, Dítě P. Co mohou naznačit pokročilá klinická stadia u nemocných s vícečetnými novotvary. *Sborník přednášek XV. dny prof. V. Staška, Praha 9.4. 2010, 2010: 31–32, ISBN 978-80-87339-02-2.*
26. Geryk E, Dítě P, Pešek M, Kozel J. Následné primární novotary u 125 262 onkologicky nemocných v České republice 1976–2005. *Onkologie* 2009; 3(3): 181–189.
27. Geryk E, Dítě P, Kozel J, kol. Nádorové multiplicity u české populace. *Čas. Lék. Čes.* 2001; 149(4): 178–183.
28. Geryk E, Dítě P, Sedláková L, kol. Trend vícečetných melanomových nádorů kůže z pohledu jejich epidemiologie. *Dermatologie pro praxi* 2010; 4(1): 5–9.
29. Geryk E, Dítě P, Kozel J, kol. Vícečetné nádory gastrointestinálního traktu v České republice v letech 1976–2005. *Čas. Slov Gastroent Hepatol* 2010; 64(1): 12–21.
30. ACS. *Cancer Facts & Figures* 2009. Atlanta: American Cancer Society, 2009: 1–68.

MUDr. Edvard Geryk
FN Brno Bohunice
Jihlavská 20, 625 00 Brno
egeryk@fnbrno.cz

1.2. Etiologie karcinomu pankreatu a rizikové faktory

Etiologie PC je dosud nejasná. Přibližně u 4–16 % nemocných je pozorován rodinný výskyt a v některých případech se podařilo identifikovat příčinné geny a jejich mutace (2). Zvýšené riziko PC mají též pacienti s jinými nádorovými syndromy: Peutz-Jeghersův syndrom, hereditární non-polypózní kolorektální karcinom (HNPCC), familiární adenomatózní polypóza (pro nádory lokalizované periampulárně), FAMMM syndrom (Familial Atypical Multiple Mole Melanoma) (3). Známé rizikové faktory shrnuje Tabulka 1. U osob patřících do skupiny s výrazně zvýšeným rizikem jsou v poslední době zvažovány screeningové programy (nejčastěji pomocí endosonografie - EUS) (4).

Tabulka 1: Rizikové faktory pro rozvoj PC

Mírné zvýšení rizika (méně než 5x)	Střední zvýšení rizika (5-10x)
BMI nad 30	BRCA2 mutace
BRCA1 mutace	Chronická pankreatitida
Diabetes mellitus 2. typu déle než 5 let	Cystická fibróza
Familiární adenomatózní polypóza	Rodinná anamnéza PC u 2 příbuzných I. stupně
Rodinná anamnéza PC u příbuzného I. stupně	Vysoké zvýšení rizika (více než 10x)
Hereditární non-polypózní kolorektální karcinom	FAMMM syndrom
Kouření tabáku	Hereditární pankreatitida (mutace PRSS-1)
Konzumace alkoholu (více než 4j denně)	Peutz-Jeghersův syndrom
Expozice karcinogenů (polycyklické a chlorované uhlovodíky apod.)	Rodinná anamnéza PC u ≥ 3 příbuzných jakéhokoliv stupně

1.3. Patologie karcinomu pankreatu

PC se v cca 60-70 % nalézá v hlavě pankreatu, zbytek případů pak v těle a kaudě či v processus uncinatus. Při lokalizaci v hlavě je častá infiltrace ductus choledochus a ductus pancreaticus major s následnou stenózou a proximální dilatací obou vývodných systémů (tzv double duct sign). Při lokalizaci v processus uncinatus pak klinické projevy mohou pramenit z infiltrace vena mesenterica superior a stenotizace D3 duodena. Karcinomy těla a kaudy pankreatu působí obstrukci ductus pancreaticus major, ale nepostihují ductus choledochus (5).

Pro PC je nápadná tuhá konzistence, hranice tumoru jsou obtížně rozeznatelné vzhledem k chronické obstrukční fibroproduktivní pankreatitidě, která nádorovou infiltraci často provází, a makroskopicky je tato tkáň prakticky neodlišitelná od infiltrace nádorové. Velikost tumoru je obvykle mezi 1,5 – 5 cm; karcinomy těla a kaudy pankreatu bývají v průměru v době diagnózy větší.

V době diagnózy je PC často lokálně pokročilý s infiltrací okolí - retroperitoneální tuková tkáň, mezenterické a slezinné cévy, duodenum, Vaterská papila, ale i slezina, žaludek, levostranná nadledvina či kolon. V pokročilých stádiích pak může být přítomna nádorová diseminace na peritoneu. Časté je lymfogenní šíření do regionálních lymfatických uzlin a hematogenní do jater, plic, nadledvin, vzácněji do ledvin, kostí, mozku a kůže.

Prognóza adenokarcinomu je špatná. Většina tj. 80-85 % pacientů má v době stanovení diagnózy generalizaci onemocnění anebo lokálně pokročilý inoperabilní nález. Pětileté přežití dosahuje pouze cca 6 % pacientů s PC (6). U pacientů s mikroskopicky pozitivními resekcními okraji (R1) je celkové přežití v podstatě shodné s pacienty léčenými pouze chemoradioterapií bez resekce.

1.4. Klinické projevy karcinomu pankreatu

Klinické příznaky se liší podle velikosti a lokalizace PC a jsou obecně relativně pozdní. Dříve se mohou projevit nádory hlavy pankreatu - obstrukční ikterus (v 70-80 %), který může být komplikován cholangitidou, případně nebolestivě zvětšený a hmatný žlučník (Courvoisierův příznak), který je projevem městnání žluči a dilatace extrahepatálních žlučovných cest. Nádory processus uncinatus působí stenózu duodena v oblasti D2 anebo D3, která vede k poruše pasáže s tlaky v epigastriu, pocity plnosti, nauseou, popřípadě zvracením po jídle. Bolesti v epigastriu a zádech se vyskytují asi u 25 % nemocných - vznikají drážděním nervových struktur v retroperitoneu. Nádory lokalizované v těle a kaudě slinivky mají lokální příznaky méně vyjádřené. Nádory v této lokalizaci mohou lokálně působit při prorůstání do duodena (D3 a D4), popřípadě do retroperitonea.

Mezi nespecifické celkové příznaky patří ikterus, ztráta hmotnosti, nechutenství, náhlý výskyt diabetes mellitus u pacientů nad 50 let (v 5 %), nebo náhlá nevysvětlitelná ataka

akutní pankreatitidy (5 %). V případě generalizace choroby je to nález metastáz, nejčastěji v játrech a na peritoneu či maligní ascites.

1.5. Diagnostika karcinomu pankreatu

Diagnostika PC není vždy jednoduchá a je nutné využít kombinaci více metod k potvrzení diagnózy a určení rozsahu nádorového postižení. Důležitou otázkou je posouzení případné resektability včetně vyloučení nebo potvrzení přítomnosti metastáz.

1.5.1. Zobrazovací metody

Ultrazvukové vyšetření (UZ) je často první vyšetření, při kterém je vzneseno podezření na PC. Běžný transabdominální UZ však dosahuje relativně nízké senzitivity a častěji zobrazuje nepřímé známky PC jako dilatace pankreatického vývodu, dilatace žlučových cest, přítomnost jaterních metastáz nebo ascitu. Aplikace kontrastní látky může zvýšit senzitivitu a specificitu nativního ultrazvuku a do budoucna by mohla být využitelná v diferenciální diagnostice mezi chronickou pankreatitidou (ChP) a PC (7). Samostatnou kapitolu představují endosonografické či peroperační vyšetření, které dosahují jednoznačně vyšší senzitivity než transabdominální přístup.

Výpočetní tomografie (CT) s aplikací jodové kontrastní látky intravenózně a provedením pankreatické fáze je v současnosti zlatým standardem pro diagnózu a staging PC (8). Zásadní význam CT je v posouzení resektability onemocnění – především umožňuje zhodnocení infiltrace okolních cév. Pozitivní prediktivní hodnota CT pankreatu je 73-91 % pro resektabilitu a 95-100 % pro neresektabilitu (9).

Použití **magnetické rezonance (MR)** je výhodné u pacientů s alergií na jodovou kontrastní látku používanou při CT, v případě mladých pacientů, u kterých lze očekávat nutnost opakovaných vyšetření (snížení radiační zátěže) a při současně přítomné indeterminované jaterní lézi, kdy aplikace hepatospecifických kontrastních látek umožní její zařazení. Nevýhodou jsou především vyšší cena a horší dostupnost. Za velkou výhodu lze považovat zhodnocení pankreatického ductu při MRCP sekvencích, kdy navíc ve srovnání s ERCP lze hodnotit i změny periferně od obstrukce.

Pozitronová emisní tomografie (PET) především ve formě fúze s CT (PET/CT) může být výhodná v případech, kdy samotné CT má nižší přesnost - např. diferenciace menších

tumorů do 2 cm a rozlišení fokální ChP a PC. Při celotělovém vyšetření je významnou přidanou hodnotou detekce vzdálených metastáz (10). Nicméně senzitivita a specificita PET pro PC je nižší než pro jiné malignity, její použití proto není rutinní. Navíc hyperglykémie, často přítomná u pacientů s pankreatopatiemi, dále snižuje senzitivitu tohoto vyšetření (11).

Nezpochybnitelné místo v diagnostice PC má v současnosti **endosonografie (EUS)**. Uplatňuje se jako další zobrazovací metoda po CT nebo MR vyšetření, resp. při nejasném nálezu a spíše u ložisek menších rozměrů. Spolehlivě identifikuje i solidní ložiska pod 2 cm, s výjimkou nálezů v terénu kalcifikující ChP. U malých lézí je EUS považována za metodu citlivější než CT (12). Nově je diskutována možnost zvýšení výtěžnosti EUS aplikací kontrastní látky (13). Velkou výhodou EUS představuje možnost získání tkáně za pomoci aspirační biopsie tenkou jehlou (FNAB) a nověji i za použití jehel většího kalibru (14,15). Nejčastější indikací je ložisko pankreatu hodnocené dle zobrazovacích metod jako lokálně inoperabilní nebo generalizované a výsledek vyšetření FNAB aspirátu slouží pro potřeby následné onkologické léčby. Mezi další indikace lze zařadit solidní ložisko pankreatu u pacienta rizikového pro chirurgický výkon či odmítajícího chirurgické řešení bez cytologické/histologické verifikace a podezření např. na lymfom, který vyžaduje primárně nechirurgické řešení.

1.5.2. Zobrazovací metody v případě chronické pankreatitidy

I přes pokrok v zobrazovacích metodách za poslední desetiletí nedošlo k výraznějšímu posunu při diferenciaci PC v terénu ChP. Zejména u fokální ChP se zánětlivým pseudotumorem může být morfologický obraz identický s PC. Nápomocné mohou být některé nálezy zobrazovacích metod, i když jejich spolehlivost není 100%. U PC typicky nacházíme větší dilataci pankreatického ductu za stenózou, nebo je pankreatický vývod zcela uzavřen. Též nebývá přítomna dilatace vedlejších vývodů. V případě ložiskové ChP bývá pankreatický vývod zobrazitelný i v postižené tkáni (duct penetrating sign), dilatace je často nepravidelná s rozšířením i vedlejších větví. Na rozdíl od PC nedochází u ChP k infiltraci cév, nicméně stenózy či trombózy žilních kmenů mohou být přítomné u obou diagnóz (16).

Asi čtvrtina PC menších než 2 cm je izodenzních s okolním parenchymem při CT (17). Proto jsou-li přítomny sekundární známky (ikterus, dilatace žlučovodu, dilatace

pankreatického vývodu), je vhodné zvážit resekci i v těchto případech sporných výsledků zobrazovacích metod. Vždy je nutné radiologické nálezy posoudit i v kontextu s anamnézou pacienta. Důležitý může být i věk a pohlaví, které jsou někdy typické pro výskyt některých typů nádorů.

Kromě některých méně častých tumorů pankreatu se i některá benigní onemocnění mohou prezentovat jako ložisko při zobrazovacích metodách. Jedná se především o fokální formy ChP – např. žlábková (groove) pankreatitida (maximum zánětlivých změn v oblasti duodenopankreatického žlábků) a vzácná forma ChP tzv autoimunitní pankreatitida (AIP) (18).

1.5.3. Laboratorní diagnostika – diagnostické markery

Vzhledem k agresivní povaze a pozdní diagnostice PC je věnována velká pozornost výzkumu v oblasti screeningu a laboratorních markerů pro neinvazivní diagnostiku PC. Dle nových poznatků se PC vyvíjí řadu let (19), než dosáhne pokročilého stadia, a velká pozornost je tudíž věnována možnosti záchytu časných stadií za pomoci laboratorních markerů. Role řady v úvodu nadějných markerů však nebyla dalším zkoumáním potvrzena.

Elevace jediného v rutinní klinické praxi používaného onkomarkeru CA19-9 ve většině případů souvisí s pokročilým onemocněním a nedobrou prognózou (20) a jeho role v diagnostice časných stadií je tudíž omezená. Mimo jiné z těchto důvodů není CA19-9 doporučen jak screeningový marker pro PC (21). Navíc pozitivita CA19-9 může být způsobena řadou jiných (i benigních) onemocnění (22).

Jednou z možností zlepšení senzitivity CA19-9 je stanovení specifických mucinových nebo proteinových struktur, na kterých je tento onkomarker navázán. Například stanovování mucinu MUC1 významně zvyšuje senzitivitu CA19-9 v případě PC (23).

Některé nové onkomarkery však v pilotních i následných studiích vykazují lepší výsledky než CA19-9 – např. PC-594 (24).

Jeden z potenciálních onkomarkerů – M2-PK (M2 pyruvát kináza) byl zkoumán v naší studii stanovující hladiny tohoto onkomarkeru u 132 osob – pacientů s různými stadii PC, s ChP, PC v terénu ChP a zdravých kontrol. Nejvyšší hladiny M2-PK byla zjištěny u pacientů s pokročilým, většinou metastazujícím, PC ($96 \pm 19,1$ U/ml). Jednalo se o statisticky významně vyšší hodnoty než u pacientů s nepokročilým PC ($39 \pm 21,3$ U/ml), ChP

(44±19,9 U/ml) a zdravých kontrol (10±17,4 U/ml). Vysoké hodnoty byly nalezeny též u pacientů s PC vzniklým v terénu dlouholeté ChP (74±22,4 U/ml). Potvrdili jsme tudíž vyšší hladiny u pacientů s PC ve srovnání s kontrolní skupinou. Jako zajímavý výsledek se jeví statisticky významná rozdílnost hladin M2-PK mezi pokročilým a nepokročilým PC, která není jednoznačně prokázána pro běžně používané onkomarkery jako například CA19-9. Bohužel nebyla potvrzena rozdílnost hladin M2-PK mezi pacienty s nepokročilým PC a ChP, což limituje použitelnost v této významné diferenciální diagnostice. Vzhledem k vysokým hodnotám M2-PK u pacientů s PC v terénu dlouholeté ChP by nárůst tohoto markeru u pacientů sledovaných s ChP měl vést k důslednému přešetření s cílem vyloučit rozvoj malignity.

Novotný I, Dítě P, Dastych M, Žáková A, Trna J, Novotná H, Nechutová H. Tumor marker M2-pyruvate-kinase in differential diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer. Hepatogastroenterology. 2008;55(85):1475-7.

IF 0,68. Citováno 8x ve Web of Science.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 10 % - klinické vyšetřování pacientů, sběr a analýza dat)

Tumor Marker M2-Pyruvate-Kinase in Differential Diagnosis of Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer

Ivo Novotný, Petr Dítě, Milan Dastych, Anna Žáková, Jan Trna, H Novotná¹, H Nechutová

Internal Hepatic-gastroenterology Clinic and ¹Department of Clinical Biochemistry and Hematology at UH Brno, Czech Republic

Corresponding Author: Ivo Novotny, MD, PhD, Internal Hepatic-gastroenterology Clinic FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic

Tel: +420 532 233 472, Fax: +420 532 233 254, E-mail: inovotny@fnbrno.cz

ABSTRACT

Background/Aims: This study addresses the possibility of very difficult differential diagnosis of pancreatic cancer and chronic pancreatitis, especially in cases where pancreatic cancer appears in the course of chronic pancreatitis. A combination of graphical methods and pancreatic biopsy targeted with endosonography seems to be the most precise diagnostic technique. Even negative findings for this procedure cannot exclude the risk of existing tumor and is additionally an invasive technique. Therefore there are different conditions that have to be fulfilled to allow use of both endoscopic and bioptic instruments (biopsy with biopsy needle).

Tumor markers of blood serum are used in the practice, but this use seems to be limited by the sensitivity, which is on the level of 60-70% in average.

Methodology: The authors examined M2-pyruvate-kinase concentration in their group, which included

patients with chronic pancreatitis, different grading of pancreatic cancer as well as patients with pancreatic cancer which appeared in the course of chronic pancreatitis. M2-pyruvate-kinase was used as a marker of tumor hyperplasia as it is present in higher concentration in tumors of gastrointestinal tract.

Results: The authors observed important growth in advanced forms of pancreatic tumor compared to patients with chronic pancreatitis. M2-PK was increased in a similar way in patients with pancreatic cancer in the course of chronic pancreatitis. The results led to the conclusion that evaluation of M2-PK concentration helps differentiating between pancreatic cancer and chronic pancreatitis, especially in cases where morphological changes of the gland have focal character and are imitating pancreatic cancer.

KEY WORDS:

Chronic pancreatitis; Pancreatic cancer; M2-pyruvate-kinase

INTRODUCTION

Diagnostics of early phases of pancreatic cancer is still a very difficult issue, as well as differentiation between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. Tumors of the gastrointestinal tract are one of the most frequent worldwide, including the Czech Republic. While incidence and prevalence of pancreatic cancer is much lower than for example colorectal cancers, the percentage of patients surviving 5 years after diagnosis is very low for pancreatic cancer. At the same time the need for early and precise diagnosis is one of the base factors that can potentially impact this unfavorable reality.

Usage of tumor markers in the diagnostic armamentarium is one of the theoretical possibilities, which is limited however by its low sensitivity. That is why methods allowing identification of the morphologically smallest foci and allowing targeted biopsy of the tissue are most frequently used. Endoscopic ultrasound with targeted biopsy is for sure one of those methods. The size of the tumor is the limitation. Lesions smaller than 1.0cm in average are

hardly confirmable.

Chronic pancreatitis is a disease which qualifies as one of the evident risk factors of pancreatic cancer. It practically means that we meet patients in which pancreatic cancer developed in the location of chronic pancreatitis. Due to that, differential diagnostics of chronic pancreatitis and pancreatic cancer is essential, while differentiation itself is very difficult.

M2-pyruvate-kinase (M2-PK) is a marker whose level is increased in people with pancreatic cancer. It was described for the first time as early as 1985 by Eigenbrodt *et al.* (1-3) as so called tumor-metabolom, characterized by dependence of the expression on metabolic changes in cells. M2-PK is possible to find in all proliferating cells, as embryonic and adult stem cells, as well as tumor cells (4). Tetrameric form of PK is a part of intracellular glycolytic complex, which converts glucose to lactate (5). Dimeric form, named M2-PK, is always predominant in tumor cells. Dimeric form is converted to tetrameric form as a result of glycolytic, glutaminolysis and glutamate degradation processes and increased presence of phosphates

metabolism (6).

M2-PK is reactivated to a tetrameric form when oxygen is lacking in the tissue due to the inhibition of glutamate metabolism.

Due to this, M2-PK may be a sensitive sensor, which reacts and allows tumor cells to adapt to different nutrition and oxygenation stimuli (7).

Evaluation of M2-PK concentration is possible in the blood serum (blood taken to EDTA) or in the stool (8).

Many studies described an increase of M2-PK level in patients with pancreatic cancer (9-12). Usage of this marker in the differential diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer was the objective of this study.

METHODOLOGY

One hundred and thirty-three patients were included in the evaluated group. Twenty healthy people were used as a control, 20 patients were diagnosed with stage III-IV of chronic pancreatitis according to ERCP and Cambridge classification; 31 patients had histologically verified pancreatic cancer of the I-II stage and 40 patients had pancreatic cancer of III-IV degree. Twelve patients that were observed for a long time as chronic pancreatitis cases (minimally for 5 years period), developed pancreatic cancer in the terminal phase. Pancreatic cancer diagnosis was confirmed histologically in all patients, it was ductal type of carcinoma in all cases. Average age in the group was 62 years (± 14 years).

Samples of the blood serum with evident hemolysis were not evaluated (as it affects results of M2-PK readings as well as hyperlipidemia does). The evaluated group did not include patients with diabetic nephropathy, chronic cardiac insufficiency, rheumatic disease and non-specific gastrointestinal inflammations. M2-PK level was evaluated in blood serum with EDTA, using immunoassay method (2). Statistic evaluation was performed with Wilcoxon test and Mann-Whitney U test.

RESULTS

M2-PK in EDTA blood serum was found in patients with pancreatic cancer and distant metastases grade III-IV, and it reached 96 U/mL, with

spread ± 19.1 U/mL. In patients with pancreatic cancer grade I-II we found statistically lower levels of 39 ± 21.3 U/mL; statistical difference was on the level of significance $p < 0.01$. The level of M2-PK in patients with chronic pancreatitis was lower in a statistically significant way compared to patients with pancreatic cancer grade III-IV, making 44 ± 19.9 U/mL ($p < 0.01$), but it was not different from levels found in patients with pancreatic cancer grade I-II. Level of M2-PK in the control group was 10.0 ± 17.4 U/mL and was significantly lower than for patients with pancreatic cancer grade III-IV ($P < 0.001$), as well as patients with pancreatic cancer grade I-II or persons suffering from chronic pancreatitis ($p < 0.05$).

In patients with diagnosed pancreatic cancer in the area of chronic pancreatitis, average level of M2-PK was high, reaching 74.0 ± 22.4 U/mL, and was not statistically different from pancreatic cancer grade III-IV (Table 1).

DISCUSSION

Many studies (11,12) have shown the existence of good selectivity (90%) and sensitivity (80%) of M2-PK increased level in patients with pancreatic cancer and generally with gastrointestinal tumors (13-16). Differentiation between inflammatory and neoplastic diseases of the pancreas is still a diagnostic problem, especially in patients with tumor in the area of chronic inflammation, including pancreatitis. Cerwenka *et al.* (9) described in 1999 changes of M2-PK concentrations in patients with tumor diseases of the pancreas, related to the grade of the disease. Patients with pancreatic cancer grade III-IV, which means patients with metastases, have higher M2-PK concentration than patients without metastases. Such correlation was not found for CA 19-9, respectively CEA antigen. Hardt *et al.* (17) established plasmatic concentration of M2-PK in patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer. They found a statistically important difference between the group with pancreatic cancer and healthy controls as well compared to patients with chronic pancreatitis. Low number of examined patients (only 14 patients with pancreatic cancer) was a disadvantage of these studies.

Similarly high, statistical difference of M2-PK levels in patients with cholecystolithiasis and patients with pancreatic cancer was found by Siriwardanou and *alt.* (10), whose findings correlated with CA 19-9 level changes. Author recommends combination of these two tests to achieve higher accuracy of pancreatic cancer diagnostics. Ventrucci and *alt.* (12) found very low selectivity of M2-PK, however this marker was evaluated as well in people with acute pancreatitis, chronic pancreatitis, cystic tumors, neuroendocrine tumors and many other benign diseases, which were used as a control group.

The present study confirmed the findings of other authors, who found a statistically significant difference of M2-PK levels between control group of healthy people and patients with pancreatic cancer.

TABLE 1 M2-PK of Blood Serum in People with Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer

	Number of people	Average M2-PK concentration (U/mL)	Value spread (U/mL)	Value deviation
Control group	20	10.0	8.0-17.4	7.1
Pancreatic cancer I- II	31	39.0	21.3-49.1	21.4
Pancreatic cancer III-IV	40	96.0	39.1-134.2	64.8
Chronic pancreatitis	20	44.0	19.9-62.4	31.6
Pancreatic cancer + chronic pancreatitis	12	74.0	22.4-84.6	54.2

respectively between control group and patients with chronic pancreatitis. Evaluation of M2-PK concentration significantly differentiates patients with different grades of pancreatic cancer; patients with metastases have the highest levels, different from the ones observed in patients with chronic pancreatitis. The present authors found that in patients treated for more than 5 years due to chronic pancreatitis, development of pancreatic cancer in the terminal phase was accompanied by dramatic increase of M2-PK level and seems to be a convenient marker in con-

trolling dynamics of the disease, including possible carcinogenesis in the course of previously diagnosed chronic pancreatitis.

There is still no effective screening available for people with early phases of chronic pancreatitis or with early phase cancer of this gland. It seems to be a very important issue. Regarding that, evaluation of M2-PK dynamics in 1-year intervals seems to be a good armamentarium for regular follow-up on people with chronic pancreatitis in order to evaluate possible tumor transformation.

REFERENCES

- 1 Egenbrodt E, Reinacher M, Scheefers-Borchel U, Scheefers H, Friis R: Double role for pyruvate kinase type M2 in the expansion of phosphometabolite pools found in tumour cells. *Crit Rev Oncog* 1992; 3:91-115.
- 2 Egenbrodt E, Basenau D, Holthusen S, Mazurek S, Fischer G: Quantification of tumour type M2 pyruvate kinase (TUM2-PK) in human carcinomas. *Anticancer Res* 1997; 17:3153-3156.
- 3 Egenbrodt E, Gerbracht H, Mazurek S, Prosek P, Friss R: Carbohydrate metabolism and neoplasia: new perspectives for diagnosis and therapy. In: Prestlow T (Ed.). *Biochemical and molecular aspects of selected cancers*. New York: Academic Press 1994; 311-385.
- 4 Becker ME, Stracke MI, Liotta LA, Schiffmann E: Glycolysis as primary energy source in tumour cell chemotaxis. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1836-1840.
- 5 Board M, Humm S, Newsholme EA: Maximum activities of key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, pentose phosphate pathway and tricarboxylic acid cycle in normal, neoplastic and suppressed cells. *Biochem J* 1990; 265:503-509.
- 6 McKeehan WL: Glycolysis, glutaminolysis and cell proliferation. *Cell Biol Int Rep* 1982; 6:635-650.
- 7 Kumar Y, Tapuria N, Kirmani N, Davidson BR: Tumour M2-pyruvate kinase: a gastrointestinal cancer marker. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19:265-276.
- 8 Oremek GM, Gerstmeier F, Sauer-Eppel H, Sapoutzis N, Wechsel HW: Preanalytical problems in the measurement of tumour type pyruvate kinase (tumour M2-PK). *Anticancer Res* 2003; 23:1127-1130.
- 9 Cerwenka H, Aigner R, Bacher H, et al: TUM2-PK (pyruvate kinase type tumour M2), CA 19-9 and CEA in patients with benign, malignant and metastasizing pancreatic lesions. *Anticancer Res* 1999; 19:849-852.
- 10 Siriwardana HPP, King NKK, France MW, et al: Plasma tumour-M2-pyruvate kinase and serum carbohydrate antigen for the preoperative diagnosis of pancreatic cancer. *Br J Surg* 2005; 92(Suppl 1):100.
- 11 Oremek GM, Eibenbrodt E, Raedle J, Zeuzern S, Seiffert UB: Value of the serum levels of the tumour marker TUM2-PK in pancreatic cancer. *Anticancer Res* 1997; 17:3031-3034.
- 12 Ventrucci M, Cipolla A, Racchini C, Casadei R, Simoni P, Gullo L: Tumour M2-pyruvate kinase, a new metabolic marker for pancreatic cancer. *Dig Dis Sci* 2004; 49:1149-1155.
- 13 Schneider J, Schultze G: Comparison of tumour M2-pyruvate kinase (tumour M2-PK), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen CA 19-9 and CA 72-4 in the diagnosis of gastrointestinal cancer. *Anticancer Res* 2003; 23:5089-5094.
- 14 Schulze O: The tumour marker M2-PK: an application in the diagnosis of gastrointestinal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20:4961-4964.
- 15 Zhang B, Chen JY, Chen DD, Wang GB, Shen P: Tumour type M2 pyruvate kinase expression in gastric cancer, colorectal cancer and controls. *World J Gastroenterol* 2004; 10:1643-1646.
- 16 Hugo F, Fischer G, Egenbrodt E: Quantitative detection of tumour M2-PK in serum and plasma. *Anticancer Res* 1999; 19:2753-2757.
- 17 Hardt PD, Ngoumou BK, Rupp J, et al: Tumour M2-pyruvate kinase: a promising tumour marker in the diagnosis of gastro-intestinal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20:4965-4968.

1.5.4. Aktuální vývoj možností laboratorní diagnostiky karcinomu pankreatu

Možností, kterou některé vědecké skupiny testují, je použití **panelu různých markerů**. Metody **proteomiky** umožňují stanovit profily proteinových fragmentů v séru či jiných biologických materiálech včetně moči a některé výsledky naznačují použitelnost v diagnostice PC (25-27).

Řada potenciálních markerů byla a je zkoumána **ve vzorcích pankreatické šťávy či žluči**. Tyto tělesné tekutiny však nelze považovat za snadno dostupné a navíc řada zkoumaných markerů (např. onkomarkery CEA, CA19-9) neprokázala efektivitu v diferenciální diagnostice pankreatobiliárních malignit. Nadějnější výsledky by mohly přinést novější markery – např. sLR11 (soluble LDL receptor relative with 11 ligand-binding repeats) (28).

Vzhledem k tomu, že přítomnost nádorových buněk představuje stimulační faktor imunitních odpovědí, je v současné době testována řada **autoprotilátek** souvisejících s PC. Jejich zvažovaná role je jednak výzkumná (umožňují nalézt antigeny přítomné na buňkách PC a tím pomoci ve studiu jejich struktury), ale též by mohly být použitelné v diagnostice a v predikci přežití. Bohužel nízká hladina cirkulujících protilátek a fakt, že nejsou přítomny standardně u všech pacientů s PC, jejich klinické použití zatím neumožňují (29).

Podobně spíše studijním účelům slouží stanovování hladin **cytokinů, chemokinů a růstových faktorů**. Existují však práce popisující použitelnost profilování panelu těchto markerů a jejich rozdílů v diferenciální diagnostice ChP a PC (30,31).

Zatím též spíše na úrovni výzkumu je hodnocení **cirkulujících nádorových buněk** v periferní krvi a změny v profilu a genomu mononukleárních leukocytů v periferní krvi. Jako slibná možnost v diferenciální diagnostice ChP a PC se jeví **profilování epigenetických změn (především metylace DNA)**.

Narůstající popularitu v posledních letech získává stanovování **mikroRNA**. Tyto malé částice hrají roli v regulaci řady genů ovlivňováním posttranskripčních změn. Byla prokázána jejich významná role v iniciaci, progresi a metastazování malignit – kontrolou růstu, proliferace, apoptózy atd. Profil miRNA se u malignit mění, některé jsou ve srovnání se zdravými jedinci a pacienty s nemaligními chorobami přítomny ve větším množství, některé naopak v menším. Těchto rozdílů lze využít v diagnostice (32-34).

Postupný vývoj od zdravé tkáně do metastatického PC zahrnuje mutaci v řadě genů (dle některých výzkumů až 100). Jako možná diagnostická strategie se tudíž nabízí **stanovování mutací jednotlivých genů** (35). Jednou z nejčasnějších mutací je mutace v onkogenu KRAS, která je přítomná v 80-100 % případů PC (36).

Také hodnocení **telomerázové aktivity** může být dle některých studií použitelné v diferenciální diagnostice PC a ChP (37). Hodnocení telomerázové aktivity v pankreatické šťávě se jeví dokonce jako přesnější v diferenciální diagnostice PC a ChP než stanovování mutací známých genů (38).

1.5.5. IgG4 a karcinom pankreatu

Elevace IgG4 podtřídy imunoglobulinu G vykazuje vysokou specifitu a senzitivitu pro AIP. Existují však kazuistiky pacientů s PC a pozitivitou IgG4 v séru, což představuje diferenciálně diagnostický problém. Naše studie provedená na skupině 81 pacientů s histologicky verifikovaným PC prokázala nadhraniční hodnotu IgG4 (> 135 mg/dl) u 8 osob (9,8 % souboru) s průměrnou hodnotou 173 mg/dl (112,9 % horní hranice) a s maximální hodnotou 195,5 mg/dl. Potvrdili jsme tak, že nadhraniční IgG4 nelze považovat za jednoznačný marker pro diferenciální diagnostiku mezi AIP a PC a ve shodě s dalšími studiemi prokázali relativně častou mírnou (zvýšení do 120 % horní hranice) elevaci IgG4 u pacientů s PC. Za významný diagnostický znak AIP by mělo být považováno až minimálně dvojnásobné zvýšení hladiny IgG4 v krevním séru, které je dle některých prací přítomno u méně než 1 % pacientů s PC.

Dítě P, Novotný I, Kala Z, Hermanová M, Nechutová H, Dvořáčková J, Martínek A, Trna J. Pozitivita imunoglobulinu IgG4 v krevním séru u osob s karcinomem slinivky břišní. Gastroent Hepatol. 2012;66(3):187-190.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 10 % - klinické vyšetřování pacientů, sběr a analýza dat)

Pozitivita imunoglobulinu IgG4 v krevním séru u osob s karcinomem slinivky břišní

The serological positivity of immunoglobulin IgG4 in patients with pancreatic carcinoma

P. Dítě¹, I. Novotný², Z. Kala³, M. Hermanová⁴, H. Nechutová⁵, J. Dvořáčková⁶, A. Martinek¹, J. Trna⁵

¹Akademické centrum digestivní onkologie, Lékařská fakulta Ostrava

²Endoskopické centrum, Masarykův onkologický ústav, Brno

³Chirurgická klinika, FN Brno

⁴Ústav patologie FN u sv. Anny v Brně

⁵Interní gastroenterologická klinika, FN Brno

⁶Ústav patologie, Lékařská fakulta Ostravské univerzity, Ostrava

Souhrn: Skupinu chorob vyznačujících se vysokou hladinou imunoglobulinu G4 (IgG4) v krevním séru označujeme jako IgG4 asociovaná onemocnění. Nejčastěji se vyskytující nemocí z této skupiny je autoimunitní forma pankreatitidy. Onemocnění je charakterizované v úvodu nepřítliší intenzivními subjektivními potížemi, spíše pouze břišním dyskomfortem, ale prvním příznakem může být bezbolestný obstrukční ikterus. Zobrazovací metodami lze zobrazit difúzně nebo segmentárně zvětšený pankreas, což může činit obtíž v odlišení od pankreatického karcinomu. Pro autoimunitní formu pankreatitidy, především pro její 1. typ, je charakteristickým nálezem zvýšené hodnoty IgG4 krevního séra, kdy 97% specifita a 95% senzitivita predikují diagnózu autoimunitní formy pankreatitidy. V literatuře se také objevila kazuistická sdělení uvádějící nález vysoké hladiny IgG4 u osob s pankreatickým karcinomem. Proto jsme v prospektivní studii vyšetřili soubor osob s histologicky verifikovaným pankreatickým karcinomem a stanovili u nich IgG4 v krevním séru. **Materiál a metodika:** V průběhu 52 měsíců byla v krevním séru vyšetřena hladina IgG4 metodou nefelometrickou u 81 osob s histologicky verifikovaným pankreatickým karcinomem. Podle literárních standardů je mezní hodnotou hladina IgG4 vyšší než 135 mg/dl. **Výsledky:** Ve sledovaném souboru byla hladina IgG4 vyšší než 135 mg/dl prokázána u osmi osob (9,8%). Průměrná hodnota IgG4 byla 173 mg/dl, tj. o 12,9% vyšší oproti hraniční hodnotě. U osob, které měly prokázáno vyšší hladinu IgG4, bylo pět osob, kde lze předpokládat vznik karcinomu v terénu chronické pankreatitidy, protože diagnóza chronické pankreatitidy byla stanovena více než pět let před stanovením diagnózy pankreatického karcinomu. Ani jedna z osmi osob s vyšší hladinou IgG4 neměla jakékoli diagnostické znaky autoimunitní formy pankreatitidy. **Závěr:** Vyšší hladina IgG4 může provázet i nález pankreatického karcinomu, avšak hodnota IgG4 je zvýšena ne více než o 20% nad tzv. limitní hodnotu IgG4 v séru. Stanovení IgG4 není markerem vhodným pro diferenciální diagnostiku mezi autoimunitní formou pankreatitidy a pankreatickým karcinomem, jak bylo původně předpokládáno, a lze souhlasit s názory, že alespoň dvojnásobné zvýšení IgG4 krevního séra je významným diagnostickým znakem pro autoimunitní formu pankreatitidy, resp. pro celou skupinu chorob označených IgG4 asociované nemoci.

Klíčová slova: IgG4 – autoimunitní pankreatitida – karcinom pankreatu

Summary: The group of illnesses marked by high level of immunoglobulin G4 (IgG4) in blood serum are designated as IgG4-associated diseases. The most common disease in this group is an autoimmune form of pancreatitis. In its initial stage, this is characterised by mild, subjective complaints, which more resemble stomach discomfort. The first symptom, however, may be a painless, obstructive icterus. Imaging methods can be used to view the diffuse or segmental enlargement of the pancreas, which can cause difficulties in distinguishing it from a pancreatic carcinoma. A characteristic feature of the autoimmune form of pancreatitis, and in particular first type, is an increased level of IgG4 of the blood serum, where a 97% specificity and 95% sensitivity predict a diagnosis of the autoimmune form of pancreatitis. Case studies have also appeared in specialist literature showing a high level of IgG4 in patients with a pancreatic carcinoma. In our prospective study, we therefore examined a set of patients with histologically verified pancreatic carcinomas and determined the level of IgG4 in their blood serum. **Materials and methods:** Over the course of a 52-month period, the level of IgG4 in blood serum was analysed using the nephelometric method in 81 patients with histologically verified pancreatic carcinomas. According to standards set in literature, the borderline IgG4 value is higher than 135 mg/dl. **Results:** In the observed group an IgG4 level exceeding 135 mg/dl was demonstrated in 8 patients (9.8%). The average IgG4 level was 173 mg/dl, i.e. 12.9% higher against the borderline value. Amongst the patients showing a greater IgG4 value were five in whom the creation of a carcinoma during the course

of chronic pancreatitis could be anticipated, as the diagnosis of chronic pancreatitis was determined more than 5 years before the determination of the diagnosis of the pancreatic carcinoma. None of the 8 patients with a higher IgG4 value showed any diagnostic signs of the autoimmune form of pancreatitis. **Conclusion:** A higher level of IgG4 can accompany the finding of a pancreatic carcinoma; however, the IgG4 value is increased by no more than 20% above the so-called serum IgG4 limit value. Determination of IgG4 is not a suitable marker for differential diagnostics between the autoimmune form of pancreatitis and a pancreatic carcinoma, as was originally assumed, and it is possible to agree with opinions that an at least twofold increase in IgG4 of the blood serum is a significant diagnostic sign for the autoimmune form of pancreatitis and the entire group of diseases designated as IgG4-associated diseases.

Key words: IgG4 – autoimmune pancreatitis – carcinoma of the pancreas

V současné době byla popsána skupina onemocnění označená jako IgG4-related disease – IgG4 asociovaná onemocnění [1,2]. Nejčastěji zastoupeným onemocněním je autoimunitní forma pankreatitidy (AIP) [3], se kterou jsou často asociována další orgánová postižení jako IgG4 pozitivní sklerotizující cholangitida [4,5], IgG4 pozitivní retroperitoneální fibróza, Mikulicizův syndrom, IgG4 pozitivní prostatitida, nefritida nebo pneumonitida [6,7]. Autoimunitní forma pankreatitidy je dělena na dvě formy. První forma nemoci postihuje starší jedince, zvláště muže, a je spojena s přítomností mimopankreatických postižení. Druhá forma je vzácná a bývá spojena pouze se současným výskytem nespecifických střevních zánětů [8–11].

Klinické symptomy autoimunitní formy pankreatitidy bývají nevyzrazné, lze je charakterizovat jako břišní dyskomfort, někteří nemocní přichází s bezbolestným obstrukčním ikterem, hubnutím, recentním diabetem a řadou dalších nespecifických příznaků. Morfologicky lze nalézt buď difúzní, anebo segmentární zvětšení, většinou v oblasti hlavy pankreatu, které nelze vždy jednoznačně odlišit od malignity [12].

Charakteristickým nálezem, typickým pro většinu IgG4 asociovaných onemocnění, je nález zvýšené hodnoty sérového IgG4 [13], což však ne zcela platí pro druhý typ autoimunitní formy pankreatitidy, kde je diagnostika založena na charakteristických změnách histologických (lymfoplazmatická infiltrace pankreatického parenchymu, obstrukční venulitidy, pozitivita IgG4

pozitivních plazmatických buněk, zvýšená přítomnost fibrózy, GEL pozitivita a další) [9–11].

Nález zvýšené sérové hodnoty IgG4 je však zásadní a dle Hamana et al [13] má tento nález 95% senzitivitu a 97% specifitu pro diagnózu autoimunitní formy pankreatitidy.

Vzhledem k tomu, že v literatuře byly popsány jednotlivé případy zvýšené hladiny IgG4 u jedinců s karcinomem pankreatu [14–16] a protože jsme v roce 2008 sami takového pacienta mohli sledovat, rozhodli jsme se vyšetřovat prospektivně sérovou hladinu IgG4 u osob s recentním karcinomem pankreatu, kdy diagnóza byla potvrzena histologicky.

Materiál a metody vyšetřování

Celkem jsme za období od září 2008 do prosince 2011 vyšetřili IgG4 u 85 osob s karcinomem pankreatu. Histologický materiál k potvrzení diagnózy byl získán peroperačně anebo biopsií pankreatu pod endosonografickým vedením. Kontrolní skupina 60 osob pro

vyšetření IgG4 v krevním séru byla získána z řad dárců krve.

Vzorky krevního séra byly okamžitě po odběru doručeny do laboratoře a IgG4 bylo stanoveno metodou nefelometrie. Hodnota IgG4 vyšší než 135 mg/dl byla považována za abnormálně zvýšenou.

Výsledky

Ve skupině 85 vyšetřených osob bylo 32 žen (38,8 %) a 53 mužů (61,2 %). V kontrolní skupině bylo vyšetřeno 28 žen (46 %) a 32 mužů (54 %).

Průměrný věk u nemocných s karcinomem byl 68,8 roku (42–85), kontrolní skupiny 49,5 roku (29–61).

U všech osob kontrolní skupiny byla hodnota IgG4 menší než 135 mg/dl. Ve skupině osob s pankreatickým karcinomem jsme u osmi osob (9,8 %) prokázali hodnotu IgG4 vyšší než 135,0 mg/dL. Absolutní abnormální hodnoty IgG4 u osmi osob s karcinomem pankreatu ukazuje tab. 1.

Průměrná hodnota u osob s adenokarcinomem a zvýšenou hladinou IgG4

Tab. 1. Pankreatický adenokarcinom a zvýšená hodnota IgG4.

Tab. 1. Pancreatic adenocarcinoma and increased IgG4.

	Věk v době stanovení dg	Pohlaví	IgG4 / mg/dL
1.	48	M	189,0
2.	54	M	144,6
3.	58	M	153,8
4.	71	M	166,7
5.	64	M	169,9
6.	60	M	176,3
7.	70	M	188,5
8.	59	M	195,5

byla 173,0 mg/dL (144,6–195,5 mg/dL), tj. horní hranici normální hodnoty překročila v průměru o 12,9 % (10,6–14,4 %).

U všech nemocných byly získané hodnoty stanoveny před zahájením onkologické léčby, nikdo z nemocných nebyl předtím léčen jako diabetes 1. typu a nebyla nalezena žádná jiná onemocnění ve vztahu ke změnám autoimunity.

U pěti osob s karcinomem pankreatu a zvýšenou hladinou IgG4 byla v anamnéze stanovena diagnóza chronické pankreatitidy, a to více než pět let před diagnózou pankreatického karcinomu. Chronické pankreatitidě odpovídalo histologické vyšetření perinádorové pankreatické tkáně. Etiologicky se jednalo vesměs o alkoholickou formu chronické pankreatitidy, v jednom případě o formu idiopatickou. Nebyla histologicky potvrzena forma autoimunitní pankreatitidy, u jednoho z nemocných byla zjištěna pozitivní CFTR mutace, u ostatních bylo vyšetření na možnou hereditární etiologii negativní (SPINK1 a PRSS1).

Diskuze

Autoimunitní forma pankreatitidy je definována jako specifická forma pankreatitidy, klinicky prezentována bezbolestným obstrukčním ikterem, často s nálezem zvětšení oblasti hlavy pankreatu. Histologicky je charakteristickým nálezem lymfoplazmatická infiltrace a přítomnost fibrózy, typickým je rovněž terapeutický efekt kortikosteroidů. Dle mezinárodního konsenzu diagnostických kritérií pro autoimunitní formu pankreatitidy [11] jsou dle histologického a klinického profilu rozlišovány dvě formy nemoci. První typ je označen jako Lymphoplasmatic Sclerosing Pancreatitis (LPSP) nebo autoimunitní pankreatitida bez granulocytárních epiteliálních lézí – GEL negativní forma. V histopatologii je charakteristickým příznakem masivní infiltrace parenchymu žlázy lymfoplazmatickými buňkami, významný přítomností fibrózy, venulitidou, často

s obliterací cév a konečně abundantní přítomností IgG4 pozitivních plazmatických buněk – více než deset buněk (High-Power Field (HPF)).

Charakteristickým pro tento typ autoimunitní formy pankreatitidy je současná přítomnost řady extrapancreatických lézí a nález zvýšení sérové hladiny IgG4.

Klinickou manifestací je nejčastěji pouze břišní dyskomfort, který ovšem bývá i v iniciálních stádiích karcinomu pankreatu.

Druhý typ autoimunitní formy nemoci je vzácnější, není spojen s extrapancreatickými lézemi, výjimkou je možná přítomnost idiopatických střevních zánětů, histopatologické změny jsou odlišné od prvního typu a tato forma je označena jako Idiopathic Duct-Centric Pancreatitis (IDCP) nebo jako forma GEL pozitivní. IgG4 sérová hladina je nízká nebo normální. Tato forma autoimunitní pankreatitidy je séronegativní, definitivní diagnózu přinese až biopsie pankreatu [10,11].

Autoimunitní forma pankreatitidy klinicky nebývá výrazná, stejně jako iniciální stadia pankreatického karcinomu, a protože fokální forma autoimunitní pankreatitidy je podobná zvětšené hlavě pankreatu při tumorózním postižení žlázy, je diferenciální diagnostika zásadní a ne vždy jednoduchá. Jak zbytečná resekce pankreatu, tak nepoznání nádoru záměnou za obraz „autoimunitní formy pankreatitidy“ jsou bohužel možné. Iniciální údaje o možnosti využití v diferenciální diagnostice na stanovení hladiny IgG4 se ukázaly v prospektivní studii z Pittsburgu [17] stejně tak jako v naší studii mylné. Přesto několik studií potvrdilo nález přítomného IgG4 u osob s karcinomem pankreatu. Tabata et al [20] našli pozitivitu v 6 % pacientů, již zmíněná studie z Pittsburgu v 7 % [17] a Ghazale et al našli vyšší IgG4 v krevním séru u 10 %, ale pouze jedno procento s hladinou vyšší než 280 mg/dL [21]. Zajímavý je poznatek, že u dvou osob s karcinomem pankreatu po pankreatoduodenektomii

byl zaznamenán pokles hodnoty IgG4 a podobně tomu bylo u jednoho nemocného po skončení chemoterapie. Nikdo z těchto uváděných nemocných nesplňoval kritéria autoimunitní formy pankreatitidy. Není jasné, zda karcinom jako takový iniciuje imunologickou reakci, anebo jsou přítomna jiná onemocnění s pozitivitou IgG4 bez klinických manifestací. Lze souhlasit s názorem Raina et al [17], že až více než dvojnásobné zvýšení IgG4 je významné pro diagnózu autoimunitní formy pankreatitidy, nižší hladiny patří spíše do tzv. šedé výsledkové zóny a nepatří mezi diagnostická kritéria autoimunitní pankreatitidy. Proto, v diferenciální diagnostice mezi karcinomem a autoimunitní formou pankreatitidy, hrají zásadní roli metody zobrazovací CT, MRI, doplněné o sérologii pankreatu (sérová hladina IgG4), ev. o vyšetření endosonografické, s odběrem biopsií z oblasti Vaterovy papily. Při velké pravděpodobnosti, že se jedná o první typ autoimunitní pankreatitidy, je indikováno nasazení steroidů. Při selhání odpovědi na steroidy je vždy nutné nové ověření diagnózy [18,19]. Biopsie pankreatu pod endosonografickou kontrolou je indikována při podezření na druhý typ autoimunitní formy nemoci nebo vždy tam, kde jsou kritéria pro autoimunitní formu pouze částečně naplněna a možnou nádorovou lézí nelze vyloučit [10–12].

Není pochyb, že stanovení IgG4 je dobrým diagnostickým parametrem u osob s autoimunitní formou pankreatitidy [22], má význam nejen pro diagnostiku, ale i pro sledování aktivity nemoci, přesto jeho pozitivita u osob s pankreatickým karcinomem není stále dostatečně spolehlivým markerem mezi malignitou pankreatu a AIP. Některé pankreatické nádory mohou mít rovněž zvýšenou hladinu IgG4, avšak toto zvýšení obvykle není více než 30 % maximální hodnoty normy a neznamena, že nádor vznikl v terénu autoimunitní formy pankreatitidy.

Literatura

- Kamisawa T, Okamoto A. Autoimmune pancreatitis: proposal of IgG4-related sclerosing disease. *J Gastroenterol* 2006; 41(7): 613–625.
- Kamisawa T, Nakajima H, Egawa N et al. IgG4-related sclerosing disease incorporated sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialoadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. *Pancreas* 2006; 6(1–2): 132–137.
- Okazaki K, Chiba T. Autoimmune-related pancreatitis. *Gut* 2002; 51(1): 1–4.
- Kamisawa T, Tu Y, Nakajima H et al. Sclerosing cholecystitis associated with autoimmune pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12(23): 3736–3739.
- Mendes FD, Jorgensen R, Keach J et al. Elevated serum IgG4 concentration in patients with primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(9): 2070–2075.
- Hirano K, Kawabe T, Komatu Y et al. High-rate pulmonary involvement in autoimmune pancreatitis. *Intern Med J* 2006; 36(1): 58–61.
- Kamisawa T, Chen PY, Tu Y et al. Autoimmune pancreatitis metachronously associated with retroperitoneal fibrosis with IgG4-positive plasma cell infiltration. *World J Gastroenterol* 2006; 12(18): 2655–2657.
- Kamisawa T. Clinical subtypes of autoimmune pancreatitis. *Intern Med* 2005; 44(8): 785–786.
- Kloeppel G, Detlefsen S, Chari ST. Autoimmune pancreatitis: their clinicopathological characteristics of the subtype with granulocytic epithelial lesions. *J Gastroenterol* 2010; 45(8): 787–793.
- Hari ST, Kloeppel G, Zhang I et al. The Autoimmune Pancreatitis International Cooperative Study group. Histologic and Clinical Subtypes of Autoimmune Pancreatitis: The Honolulu Consensus Document. *Pancreas* 2010; 39: 549–554.
- Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L et al. International Consensus Diagnostic Criteria for Autoimmune Pancreatitis. Guidelines of the International Association of Pancreatology. *Pancreas* 2011; 40(3): 352–358.
- Chari ST, Takahashi N, Levy MJ et al. A diagnostic strategy to distinguish autoimmune pancreatitis from pancreatic cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7(10): 1097–1103.
- Hamano H, Kawa S, Horoucní A et al. High serum IgG4 concentration in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; 344(10): 732–738.
- Inoue HMD, Miyatani HMD, Sawada YMD. A case of pancreatic cancer with autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2006; 33(2): 209–209.
- Kamisawa T, Chen PY, Tu Y et al. Pancreatic cancer with a high serum IgG4 concentration. *World J Gastroenterol* 2006; 12(38): 6225–6228.
- Sakashita F, Tanahashi T, Yamaguchi K. Case of pancreatic tail cancer associated with auto-immune pancreatitis. *Japan J Gastroenterol* 2006; 39: 78–83.
- Raina A, Krasinskas AM, Greer JB et al. Serum immunoglobulin fraction 4 in pancreatic cancer. Elevation not associated with autoimmune pancreatitis. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132(1): 48–53.
- Erkelens GW, Vleggaar FP, Lesterhuis W et al. Sclerosing pancreato-cholangitis responsive to steroid therapy. *Lancet* 1999; 354(9172): 43–44.
- Moon SH, Kim MH, Park DH et al. Is a 2-week steroid trial after initial negative investigation for malignancy useful in differentiating autoimmune pancreatitis from pancreatic cancer? A prospective outcome study. *Gut* 2008; 57(12): 1704–1712.
- Tabata T, Kamisawa T, Takuma K et al. Serial changes of elevated serum IgG4 levels in IgG4-related systemic diseases. *Intern Med* 2011; 50(2): 69–75.
- Ghazale A, Chari ST, Smyrk TE et al. Value of serum IgG4 in the diagnosis of autoimmune pancreatitis and in distinguishing it from pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 2007; 102(8): 1646–1653.
- Morselli-Labate AM, Pezzilli R. Usefulness of serum IgG4 in the diagnosis and follow-up of autoimmune pancreatitis: a systematic literature review and meta analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(1): 15–36.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy. The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasláné do biomedicínských časopisů. The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

Doručeno/Submitted: 15. 3. 2012

Přijato/Accepted: 21. 5. 2012

*prof. MUDr. Petr Dítě, DrSc.
Akademické centrum digestivní onkologie
LF OU v Ostravě
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava
petr.dite@osu.cz*

2. Rizikové faktory vzniku karcinomu pankreatu

Vzhledem k již popsaným neuspokojivým diagnosticko-terapeutickým výsledkům léčby PC je ve výzkumu věnována pozornost identifikaci rizikových faktorů rozvoje PC a vyšetřování osob ve vysokém riziku. Mezi faktory s udávaným vztahem k PC patří mimo jiné ChP, DM, kouření, nadměrná konzumace alkoholu, genetické vlivy, věk, obezita a další. Jejich přehled (včetně míry zvýšení rizika rozvoje PC) uvádí Tabulka 1 výše v textu, některé podrobnosti lze nalézt v níže uvedené přehledové práci a především pak v následujících podkapitolách, které se detailně zabývají vztahem PC k základním rizikovým faktorům jeho rozvoje – kouření, ChP a DM.

Dítě P, Novotný I, Trna J et al. Je chronická pankreatitida rizikový faktor karcinomu pankreatu? Čes Ger Rev. 2007;5(2):65-67.

(publikovaná přehledová práce - kvantitativní podíl uchazeče 15 % - vyhledávání a analýza literatury, příprava částí textu publikace)

JE CHRONICKÁ PANKREATITIDA RIZIKOVÝ FAKTOR KARCINOMU PANKREATU?

P. DÍTĚ, I. NOVOTNÝ, J. TRNA, H. NECHUTOVÁ, A. ŠEVČÍKOVÁ, H. DUJSÍKOVÁ, M. PŘECECHTELŮVÁ

SOUHRN

Pankreatický karcinom je u mužů 4. nejčastější příčinou úmrtí a 5. nejčastější příčinou úmrtí u žen, a to v rámci všech diagnóz nádorových onemocnění. 95 % všech pankreatických karcinomů jsou duktální adenokarcinomy. Podle statistiky vydané IDCA z r. 2002 je výskyt pankreatického karcinomu ve světě 200 000 nových případů za kalendářní rok a úmrtnost je v absolutních číslech rovna incidenci. Stále platí, že 5leté přežití není vyšší než 1–5 %; tento karcinom má tedy téměř nejhorší ukazatele ze všech nádorů. Problém je, že stále není k dispozici dostatečně senzitivní diagnostická metoda časných nádorových stadií slinivky břišní, neexistuje žádný efektivní screening nemoci a významný je nakonec i fakt, že onemocnění je dlouho bezpříznakové, resp. při objevení se prvních příznaků jsou již přítomny metastázy tumoru.

ABSTRACT

Is chronic pancreatitis a risk factor for pancreatic carcinoma? Pancreatic carcinoma mortality is the 4th and 5th most frequent cause of death in men and women, respectively, from among all tumour diseases. 95 % of all pancreatic carcinomas are ductal carcinomas. According to a 2002 IDCA statistic, the incidence of pancreatic carcinoma amounts to 200,000 new cases on the world scale per calendar year and the absolute mortality figures equal the figures of incidence. It is still true that the 5 year survival rate does not exceed 1 to 5 %, this being the worst indicator from among all tumour diseases. The problem is that there is still no sufficiently sensitive method of diagnosing early stages of pancreatic tumours and no effective screening for the disease. Also significant is the fact that the disease is long asymptomatic and metastases will have developed even before the occurrence of the first symptoms of the disease.

ÚVOD

Incidence pankreatického nádoru v průmyslově vyspělých státech je udávána v rozmezí 8 až 12/1 000 000 obyvatel/rok a stále narůstá [1].

V rámci Evropy se uvádí vyšší incidence v severních oblastech než v oblastech jižních [2]. Významným epidemiologickým faktorem je věk nemocných. Zatímco incidence ve věku 40–44 let činí 19,0, u osob nad 75 let činí již 43/100 000/rok.

Protože naše diagnostické možnosti a screening jsou, jak výše uvedeno, neuspokojivé, je věnována pozornost především identifikaci možných rizikových faktorů vzniku nemoci.

RIZIKOVÉ FAKTORY

PANKREATICKÉHO KARCINOMU

1. chronická pankreatitida
2. diabetes mellitus
3. tělesná hmotnost a fyzická aktivita

4. kouření
5. strava
6. káva
7. alkohol
8. genetika
9. zevní faktory
10. věk

CHRONICKÁ PANKREATITIDA

Všechny typy chronické pankreatitidy, a to bez ohledu na etiologii onemocnění, mohou být rizikovým faktorem vzniku pankreatického karcinomu, což je při incidenci chronické pankreatitidy 7,9/100 000/rok v České republice nezanedbatelný fakt. Výskyt pankreatického karcinomu u sporadické chronické pankreatitidy je až 17krát častější než u běžné populace.

Významnou roli hraje doba trvání chronické pankreatitidy obecně chronického zánětlivého

KLÍČOVÁ SLOVA

chronická
pankreatitida
karcinom pankreatu
rizikové faktory

KEY WORDS

chronic pancreatitis
pancreatic
carcinoma
risk factors

« incidence
karcinomu
pankreatu

« incidence
chronické
pankreatitidy
v ČR

<p>RR vzniku ca pankreatu po chronické pankreatitidě ▶</p>	<p>procesu. Uvádí se doba 5–10 let trvání chronické pankreatitidy, po které je třeba nemocné pravidelně sledovat právě vzhledem k možnosti vzniku pankreatického karcinomu [3]. Podle tzv. case-control studií je relativní se riziko vzniku pankreatického karcinomu u osob s chronickou pankreatitidou pohybuje v rozmezí 2,31–8,5 [4].</p> <p>Problém je, především u starších osob, diferenciální diagnostika mezi fokální zánětlivou lézí pankreatu a lézí nádorovou. Významným přínosem a dnes zásadní diagnostickou metodou je vyšetření slinivky břišní endosonograficky s možností cíleného odběru pankreatické tkáně trucat-jehlou anebo s možností odběru pankreatické cytologie tenkou CHIBA jehlou.</p>	<p>tického karcinomu. V italské studii byla přímá závislost vzniku pankreatického karcinomu prokázána u osob pravidelně konzumujících červené maso, párky, játra ale i šunku. Naopak jakoby protektivně působí ovoce, olivový olej a ryby. Bohužel, všechny tyto poznatky byly získány prostřednictvím studií, které mají metodologické limity, takže považovat výsledky za jednoznačné ve smyslu standardu nelze [8].</p>
<p>diagnostika endosonografií ▶</p>	<p>DIABETES MELLITUS</p> <p>Dnes existují studie upozorňující na vztah mezi diabetes mellitus a pankreatickým karcinomem, a to nejen u diabetiků 1. typu, ale i u nemocných s diabetem 2. typu [5]. Zdá se, že inzulin se může jevit jako promotor pankreatické karcinogeneze. Lidské pankreatické adenokarcinomy totiž exprimují inzulinové receptory, které stimulují mitózu. Navíc může vysoká hladina inzulinu u osob s inzulinovou rezistencí nepřímo iniciovat karcinogenezi cestou IGF (insulin-like growth factor).</p>	<p>KÁVA A ALKOHOL</p> <p>I přes ojedinělá pozorování o možném vztahu mezi pitím kávy a vznikem pankreatického karcinomu neexistuje metodologicky odpovídající studie, která by tento vztah potvrdila. Podobně je to s alkoholem, který je rizikovým faktorem, jelikož indukuje pankreatitidu [8–10].</p>
<p>inzulin – promotor pankreatické karcinogeneze ▶</p>	<p>TĚLESNÁ HMOTNOST A FYZICKÁ AKTIVITA</p> <p>Jak již bylo zmíněno, diabetes mellitus a inzulinová rezistence patří mezi rizikové faktory vzniku pankreatického karcinomu. A právě tyto stavy jsou zvláště často spojeny s nadměrnou tělesnou hmotností.</p> <p>V současnosti existují 2 studie prokazující, že vysoká tělesná hmotnost (body mass index/BMI nad 30 kg/m²) zvyšuje výskyt pankreatického karcinomu, a naopak fyzická aktivita a pokles BMI riziko pankreatického karcinomu snižují [6,7].</p>	<p>GENETIKA</p> <p>V současné době neobyčejně intenzivně studovaná oblast v pankreatologii. Pankreatický karcinom je spojen s řadou genetických syndromů, jako např. Peutzův-Jeghersův syndrom, hereditární non-polypózní karcinom střeva, hereditární plicní karcinom a další. Neobyčejně významná v tomto smyslu je hereditární pankreatitida, onemocnění, které dnes bylo již přesně identifikováno [11], u něhož riziko vzniku karcinomu je uváděno 60–80krát častěji než u běžné populace [12,13]. Hereditární pankreatitida je autozomálně dědičné onemocnění s penetrací asi 80 %, při níž zásadní roli hrají změny genetické aberace pro kationický trypsinogen a CFTR mutace [14].</p>
<p>hereditární pankreatitida ▶▶</p>	<p>KOURENÍ</p> <p>Řada dobře definovaných case-control studií dokumentuje, že kouření je skutečně významným rizikovým faktorem vzniku pankreatického karcinomu [4]. Otázkou zůstává ovlivnění frekvence pankreatického karcinomu u osob, které kouřit přestanou. Zdá se, že teprve interval 10 let nekuřáctví je významným faktorem ovlivnění vzniku pankreatického karcinomu u bývalých kuřáků.</p> <p>STRAVA</p> <p>Červené maso a strava bohatá na cholesterol jsou obecně uznané rizikové faktory vzniku pankrea-</p>	<p>ZÁVĚR</p> <p>Jestliže v současné situaci jsou naše možnosti screeningu pankreatického karcinomu a časná diagnostika nemocí limitovány, je evidentní, že je třeba se pokusit vyhledávat rizikové faktory onemocnění a dispenzarizovat osoby, u nichž jsou rizikové faktory vzniku pankreatického karcinomu přítomny. Významným rizikovým faktorem je věk. Právě nemocní vyššího věku s chronickou pankreatitidou vyžadují stejně jako mladí pacienti s formou hereditární zcela pravidelné a systematické kontroly zdravotního stavu. Tyto kontroly spočívají jednak ve využití moderních zobrazovacích metod včetně cílených endosonografických biopsií a intraduktální pankreatické endosonografie, jednak v odběrech nádorových markerů, z nichž je v klinické praxi stále využíván sérový CA 19-9 a v biotickém materiálu především proonkogen K-ras.</p>

LITERATURA

1. Hanely AJ, Johnson KC, Villeneuve PJ, Mao Y. Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. Physical activity, anthropometric factors and risk of pancreatic cancer: results from the Canadian enhanced cancer surveillance system. *Int J Cancer* 2001; 94: 140-147.
2. Hemminki K, Li X. Familial and second primary pancreatic cancer: a nationwide epidemiologic study from Sweden. *Int J Cancer* 2003; 103: 525-530.
3. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993; 328: 1433-1437.
4. Maisonneuve P, Lowenfels AB. Chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Dig Dis* 2002; 20: 32-37.
5. McCarty MF. Insulin secretion as a determinant of pancreatic cancer risk. *Med Hypotheses* 2001; 57: 146-150.
6. Michaud DS, Giovannucci E, Willett WC et al. Physical activity, obesity, height, and the risk of pancreatic cancer. *Jama* 2001; 286: 921-929.
7. Michaud DS, Giovannucci E, Willett WC et al. Dietary meat, dairy products, fat, and cholesterol and pancreatic cancer risk in a prospective study. *Am J Epidemiol* 2003; 157: 1115-1125.
8. Soler M, Chatenoud L, La Vecchia C et al. Diet, alcohol, coffee and pancreatic cancer: final results from an Italian study. *Eur J Cancer Prev* 1998; 7: 455-460.
9. Ye W, Lagergren J, Weiderpass E et al. Alcohol abuse and the risk of pancreatic cancer. *Gut* 2002; 51: 236-239.
10. MacMahon B, Yen S, Trichopoulos D et al. Coffee and cancer of the pancreas. *N Engl J Med* 1981; 304: 630-633.
11. Lowenfels AB, Maisonneuve P, DiMagno EP et al. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 442-446.
12. Lynch HT, Brand RE, Deters CA et al. Hereditary pancreatic cancer. *Pancreatology* 2001; 1: 466-471.
13. Malka D, Hammel P, Maire F et al. Risk of pancreatic adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut* 2002; 51: 849-852.
14. Silverman DT. Risk factors for pancreatic cancer: a case-control study based on direct interviews. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 2001; 21: 7-25.

*doručeno do redakce 30. 1. 2007
přijato k publikaci 27. 3. 2007*

PROF. MUDR. PETR DÍTĚ, DRSC.
MUDR. IVO NOVOTNÝ, CSC.
MUDR. JAN TRNA
MUDR. HANA NECHUTOVÁ
MUDR. ARONA ŠEVČÍKOVÁ
MUDR. HANA DUJSÍKOVÁ
MUDR. MARIE PŘECECHTĚLOVÁ

INTERNÍ HEPATOGASTROENTEROLOGICKÁ KLINIKA
LF MU A FN BRNO, PRACOVISŤE BOHUNICE
PDITE@FNBRNO.CZ

2.1. Kouření a karcinom pankreatu

Vztah PC ke dvěma udávaným rizikovým faktorům (kouření a diabetes mellitus) hodnotila naše níže uvedená studie, která poukázala na zvýšené riziko PC především při kumulaci jednotlivých rizikových faktorů. V analyzované skupině pacientů s PC bylo 24 % diabetiků, 25,3 % kuřáků a 50,6 % kouřících diabetiků. U kuřáků byl PC diagnostikován v průměrně nižším věku (64,7 let) než u nekuřáků (67,4 let). Nejnižší průměrný věk (62,5 let) při stanovení diagnózy PC měli kouřící diabetiky. Většina pacientů kuřáků (66,5 %) kouřila denně více než 10 cigaret. U kuřáků byla diagnóza PC stanovena častěji (v 52,4 %) již do 1 roku od prvních příznaků – což může mimo jiné poukazovat na rychlejší progresi této malignity u kuřáků.

Dítě P, Trna J, Bělobrádková J et al. Pankreatický karcinom – vztah k diabetes mellitus a kouření. Vnitř Lek. 2011;57(2):159–162.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 20 % - koordinace práce, vyšetřování a dispenzarizace pacientů, sběr a analýza dat)

Pankreatický karcinom – vztah k diabetes mellitus a kouření

P. Dítě¹, J. Trma¹, J. Bělobrádková¹, I. Novotný², M. Hermanová³, P. Vlčková¹, K. Klímová¹, B. Kianička⁴, Abdul Lemine¹, M. Liberda⁵, E. Geryk¹

¹ Interní gastroenterologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Aleš Hep, CSc.

² Masarykův onkologický ústav Brno, ředitel prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

³ I. patologicko-anatomický ústav Lékařské fakulty MU a FN u sv. Anny Brno, přednosta prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

⁴ Gastroenterologické oddělení II. interní kliniky Lékařské fakulty MU a FN u sv. Anny Brno, přednosta prof. MUDr. Miroslav Souček, CSc.

⁵ Interní oddělení nemocnice Valašské Meziříčí, přednosta prim. MUDr. Pavel Prodělal

Souhrn: Úvod: Karcinom pankreatu patří k onemocněním s velmi nepříznivým vývojem. Jednou z příčin je neobyčejně agresivní růst nádoru a v naprosté většině případů pozdní, další léčbu limitující diagnostika. Kromě toho neexistuje žádný efektivní screeningový program karcinomu pankreatu, takže jednou z alternativ diagnostiky časných stadií nemoci je identifikace rizikových faktorů spojených se vznikem pankreatického karcinomu. Obecně jako rizikový nádorový faktor je udáváno kouření, a pokud jde o pankreatický karcinom, tak přítomnost diabetes mellitus. Cílem naší prospektivní studie u osob s karcinomem pankreatu bylo identifikovat nemocné s přítomným diabetes mellitus a rozdělit je na kuřáky a nekuřáky – ve vztahu k nálezům pankreatického karcinomu. *Materiál a metodika:* Celkem bylo zařazeno 83 osob, 50 mužů a 33 žen s pankreatickým karcinomem, a tyto byly rozděleny do 3 skupin – nekuřáci s diabetes mellitus, kuřáci a kuřáci s diabetes mellitus, u skupiny mužů činil průměrný věk 64,2 roku, u žen 59,8 roku. Karcinom pankreatu byl potvrzen histomorfologicky na základě vyšetření pankreatických biopsií nebo histologie pankreatické tkáně získané během operačního řešení. *Výsledky:* U osob s diabetes mellitus byl pankreatický karcinom diagnostikován za 3 a více let od prvních symptomů nemoci, u kuřáků byla většina diagnóz stanovena již do 1. roku od prvních dyspeptických symptomů. Prokázali jsme, že s počtem vykouřených cigaret denně stoupá procento osob s následnou diagnózou karcinomu pankreatu (do 10 cigaret denně u 33,3% a nad 10 cigaret denně 66,5%). Přitom největší výskyt karcinomu pankreatu byl spojen se současně přítomným diabetes mellitus a kouřením – u 42 osob (50,6%). *Závěr:* Pankreatický karcinom byl prokázán u 24% osob s diabetes mellitus, u 25,3% kuřáků bez diabetu a u více než 50% kuřáků se současným diabetes mellitus. Domníváme se, že kouření je samostatným rizikovým faktorem indukce pankreatického karcinomu a při přítomném diabetes mellitus kouření riziko vzniku pankreatického karcinomu významně zvyšuje.

Klíčová slova: pankreatický karcinom – diabetes mellitus – kouření

Pancreatic cancer – association with diabetes mellitus and smoking

Summary: *Introduction:* Pancreatic cancer is a disease with rather poor prognosis. This can be explained, among other reasons, by unusually aggressive course of the tumour growth and, in the majority of cases, late, and thus further treatment limiting, diagnosis. In addition, no effective screening programme for pancreatic cancer is available and thus identification of risk factors associated with the development of pancreatic cancer represents a possible approach to diagnosing early stages of the disease. Smoking represents a general and diabetes mellitus a specific risk factor for pancreatic cancer. *The aim* of our prospective study in pancreatic cancer patients was to identify patients with diabetes mellitus and divide these into smokers and non-smokers – in association with the diagnosis of pancreatic carcinoma. *Materials and methods:* We included 83 patients, 50 men and 33 women, with pancreatic cancer who were divided into 3 groups – non-smokers with diabetes mellitus, smokers and smokers with diabetes mellitus; the mean age was 64.2 years in male and 59.8 years in female patients. Pancreatic cancer was confirmed histomorphologically from pancreatic biopsies or a histology of pancreatic tissue obtained during a surgery. *Results:* Pancreatic cancer was diagnosed after 3 or more years in patients with diabetes mellitus, the majority of diagnoses in smokers were made within the first year from the first dyspeptic symptoms. We found that the proportion of patients with subsequent diagnosis of pancreatic cancer increased with the number of cigarettes smoked per day (33.3% up to 10 cigarettes per day and 66.5% over 10 cigarettes per day). The highest incidence of pancreatic cancer, in 42 persons (50.6%), was associated with concurrent diabetes and smoking. *Conclusion:* Pancreatic cancer was identified in 24% of patients with diabetes mellitus, 25.3% of smokers with no diabetes and in more than 50% of smokers with diabetes mellitus. We assume that smoking is an independent risk factor for pancreatic cancer induction and it importantly increases the risk of pancreatic cancer in patients with diabetes mellitus.

Key words: pancreatic cancer – diabetes mellitus – smoking

Úvod

Karcinom slinivky břišní patří v současnosti k malignitám s obzvláště nepříznivou prognózou. Přibližně 250 000 nově diagnostikovaných případů za

kalendářní rok je následováno stejným množstvím úmrtí na pankreatický karcinom za stejné období. Jediná efektivní terapie je chirurgická resekce nádoru, ale diagnostika onemocnění je

v naprosté většině případů diagnostikou pozdní, a proto není divu, že 5leté přežití onemocnění je udáváno v 5–7% [1,2]. Navíc pankreatický karcinom patří k nádorům neobyčejně

agresivním, metastázy jsou časté i u nádorů centimetrových rozměrů a rezistence k chemoterapii a radioterapii je charakteristickou.

Vzhledem k tomu, že časná diagnostika pankreatického karcinomu je neuspokojivá, jsou hledány rizikové faktory, které mohou vznik nádoru indukovat, průběh onemocnění významně ovlivňovat a které mohou být za určitých okolností časným diagnostickým markerem. Mezi takové faktory patří nepochybně diabetes mellitus a kouření [3,4]. Diabetes mellitus je spojován s pankreatickým karcinomem již řadu let [5–8]. Starší studie se věnovaly diabetu jako rizikovému faktoru [9–12], v poslední době je věnována pozornost objevení se diabetu u starších osob jako varujícího signálu z možné následné manifestace pankreatické malignity [3,13–15].

Proč dochází ke vzniku malignity, vycházející z exokrinní části pankreatu u osob s diabetem, není stále zcela uspokojivě vyřešeno. U osob s diabetes mellitus 2. typu je významný vliv inzulinové rezistence s následnou zvýšenou tvorbou inzulinu [16–18]. To vede jednak k vyčerpání β buněk pankreatu, jednak dochází ke zvýšení růstových a stimulačních působků, které se významně podílí na karcinogenezi pankreatu. Existuje skupina osob s geneticky indukovaným diabetes mellitus [9], u nichž se pankreatický karcinom většinou objeví po dlouhodobém trvání diabetu, a skupina, kdy se diabetes mellitus objeví krátce před stanovením diagnózy pankreatického karcinomu, a stává se tak prvním možným příznakem vyvíjející se malignity žlázy [19,20].

Kouření je obecně přijato jako samostatný rizikový faktor nejen karcinomu plic, ale i jako možný rizikový faktor u osob s karcinomem žaludku, pankreatu a tlustého střeva. Kouření dle literárních údajů zvyšuje 2–3krát riziko vzniku pankreatického karcinomu [7,21,22]. V naší prospektivní studii jsme u 83 osob s karcinomem pan-

Tab. 1. Soubor vyšetřených osob s karcinomem pankreatu.

	CAP + DM	CAP + DM + kouření	CAP + kouření
muži	13	25	12
ženy	7	17	9
průměrný věk/roky	67,4	62,5	64,7

kreatu sledovali vztah nemoci k diabetes mellitus a ke kouření.

Statistické hodnocení bylo provedeno pomocí Studentova T-testu.

Materiál a metodika

Bylo vyšetřeno celkem 83 osob z regionů Moravy, u nichž byl histologicky verifikován adenokarcinom pankreatu. Verifikace byla provedena na bioptických vzorcích, získaných buď punkční biopsií pod endosonografickou kontrolou, vyšetřením peroperačních biopsií, nebo resekátu nádorové tkáně.

Sledovaný soubor tvořilo celkem 33 žen průměrného věku 62,8 roku a 50 mužů průměrného věku 67,1 roku. Charakteristiku souboru ukazuje tab. 1. U 20 osob – nekuřáků byl prokázán karcinom slinivky břišní u 1 z vyšetřených, u 21 osob byl karcinom pankreatu spojen s pravidelným kouřením cigaret po dobu minimálně 5 let. Tyto osoby byly rozděleny na kuřáky do 10 cigaret denně a nad 10 cigaret denně. U kuřáků nad 10 cigaret denně byl karcinom pankreatu diagnostikován v 66,5% při průměrné době kouření 14,4 roku ($p < 0,01$).

Ve skupině kuřáků do 10 cigaret denně byl identifikován karcinom pankreatu v 33,3% při době kouření v průměru 7,8 roku ($p < 0,01$) (tab. 2).

Zajímavý výsledek jsme získali při hodnocení intervalu, za který od pr-

vých symptomů nemoci byla stanovena diagnóza karcinomu pankreatu. U osob s karcinomem pankreatu a současně přítomným diabetem byla v 50% případů stanovena diagnóza za 1–3 roky od vzniku symptomů, u osob-kuřáků s karcinomem pankreatu bez diabetu byl u 52,4% případů diagnostikován karcinom již do 1 roku od vzniku symptomů. Ve skupině osob s karcinomem pankreatu, které byly kuřáky a současně diabetiky, byla diagnóza karcinomu stanovena v 35,2% během 1. roku a v 38,1% během intervalu ne delším než 3 roky (tab. 3). Z uvedených výsledků vyplývá, že kouření je samostatným významným rizikovým faktorem karcinomu pankreatu a efekt kouření s přítomným diabetes mellitus se v karcinogenezi pankreatu zřejmě potencují.

Diskuze

Naše nálezy potvrzují skutečnost o kouření jako možném rizikovém faktoru při vzniku pankreatického karcinomu [21,22]. Riziko vzniku karcinomu je dle našich nálezů větší u osob, které pravidelně kouří delší dobu, ve studii 10 let oproti 5 letům a přímo souvisí s množstvím vykouřených cigaret denně. Nehodnotili jsme skupinu tzv. bývalých kuřáků, kdy bylo prokázáno, že u této skupiny není souvislost mezi počtem dříve vykouřených

Tab. 2. Karcinom pankreatu u osob bez diabetes mellitus – vliv kouření (N = 21).

Počet cigaret/den	Průměrná doba kouření (roky)	Karcinom pankreatu	%
≤ 10 cigaret	7,8	7	33,3
> 10 cigaret	14,4	14	66,5
nekuřák N = 20	0,0	3	14,2

Tab. 3. Karcinom pankreatu, diabetes mellitus a kouření – interval stanovení diagnózy (N = 83).

Interval	CAP + DM N = 20	CAP + DM + kouření N = 42	CAP + kouření N = 21
< 1 rok	4 (20 %)	15 (35,7 %)	11 (52,4 %)
1–3 roky	10 (50 %)	16 (38,1 %)	6 (28,5 %)
> 3 roky	6 (30 %)	11 (26,2 %)	4 (19,1 %)

cigaret a vznikem pankreatického karcinomu. Fuchs et al [21] našli, že až 20letá expozice kouření je spojena se vznikem pankreatického karcinomu, dle našich výsledků je však tento interval významně kratší. Dle studie Bonelliho et al [4] je však riziko vzniku pankreatického karcinomu u kuřáků mírně nižší – 20,0%, než je tomu u jiných nádorů, kde je riziko popisováno v rozmezí 15–27% [12,21,22].

Ve shodě s jinými studiemi [12,23] jsme zaznamenali statisticky významný vztah mezi přítomným diabetes mellitus a pankreatickým karcinomem. Protože v naší studii nepřesáhl BMI 30,0, nezdá se, že by obezita mohla být významným faktorem u nemocných našeho souboru. Existuje však řada dalších faktorů, které jsou dávány do souvislosti s indukcí nádorového bujení pankreatické tkáně u diabetiků [24–26].

U osob s karcinomem pankreatu a současně přítomným diabetem byla v 50% případů stanovena diagnóza za 1–3 roky od vzniku symptomů, u osob-kuřáků s karcinomem pankreatu bez diabetu bylo 52,4% případů diagnostikováno již 1 rok od vzniku symptomů. Ve skupině osob s karcinomem pankreatu, kteří byli kuřáky a současně diabetiky, byla diagnóza karcinomu stanovena v 35,2% během 1. roku a v 38,1% během intervalu ne delším než 3 roky (tab. 2). Znamená to, že karcinom pankreatu u diabetiků má dlouhodobě symptomatically nevýrazný průběh.

Představa maligní transformace buněk exokrinního pankreatu při primárním postižení buněk endokrinní části žlázy je založena na představě, že

zvýšená inzulinová rezistence u osob s diabetes mellitus 2. typu je následována zvýšenou produkcí inzulinu β buňkami pankreatu. Toto vede jednak k vyčerpání kapacity buněk Langerhansových ostrůvků, ale i k navýšení lokální koncentrace růstových a stimulačních působků, které společně s inzulinem vedou k malignímu zvratu buněk exokrinního pankreatu.

Je rovněž předpokládána existence 2 podskupin pacientů, u nichž se současně objevil diabetes mellitus a pankreatický karcinom. Prvou skupinu tvoří lidé s diabetes mellitus, který je základním onemocněním, ke kterému se přidávají další rizikové faktory (kouření, nadváha, chronická pankreatitida apod.). Diabetes je zde především terémem, ve kterém dochází k iniciaci karcinogeneze žlázy.

Druhou skupinu tvoří osoby, u nichž se diabetes mellitus 2. typu objevil několik let před objevením se symptomů a stanovení diagnózy pankreatického karcinomu. Lze předpokládat, že u těchto osob, většinou vyššího věku, je objevení se diabetu prvou známkou následně diagnostikovaného pankreatického karcinomu. Ve studii Trny et al [3] byl diabetes mellitus identifikován v 35,2% zemřelých osob s pankreatickým karcinomem. U 28,1% osob sledovaného souboru předcházela diagnóza diabetu 3 roky před stanovením diagnózy karcinomu pankreatu.

Epidemiologická data prokazují prakticky dvojnásobně častý výskyt karcinomu pankreatu u osob s diabetes mellitus. Kromě toho je ovšem nutno uvážit i zvyšující se incidenci diabetes mellitus 2. stupně v naší populaci, což je ve spojení se současným ži-

votním stylem [27] jistě významným faktorem vzniku pankreatického karcinomu [28]. Protože je diagnostika karcinomu pankreatu obecně stále diagnostikou převážně pozdní a protože vlastní pankreatický adenokarcinom se vyznačuje neobyčejnou agresivitou, včetně metastazování, zdá se být jistým řešením identifikace rizikových faktorů, které jejich nositele umožní dispenzarizovat. Zdá se, že není nic snadnějšího než změnou životních a dietetických návyků, abúzem cigaret nebo změnou tělesné hmotnosti předcházet indukcii karcinogeneze pankreatu u těchto osob. Bohužel je stále skutečností, že i přesto, že řadu rizikových faktorů známe, nejsme stále schopni je eliminovat.

Práce je součástí grantového projektu IGA NS 9861–4.

Literatura

1. Bramhall SR, Allu WH, Jones AG et al. Treatment and survival in 13,560 patients with pancreatic cancer and incidence of the disease in the West Midlands: an epidemiological study. *Br J Surg* 1995; 82: 111–115.
2. Fernandez E, La Vecchia C, Porta M et al. Trends in pancreatic cancer mortality in Europe, 1955–1989. *Int J Cancer* 1994; 57: 786–792.
3. Trna J, Dítě P, Hermanová M et al. Výskyt diabetes mellitus u pacientů s karcinomem pankreatu. *Čes Slov Gastroent Hepatol* 2008; 62: 69–73.
4. Bonelli L, Aste H, Bovo P et al. Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking and diabetes mellitus. A case control study in Northern Italy. *Pancreas* 2003; 27: 143–149.
5. Everhart J, Wright D. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis. *JAMA* 1994; 331: 81–84.
6. Gullo L, Pezzilli R, Morselli-Labate AM. Diabetes as a risk of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 1994; 331: 81–84.
7. Boyle P, Maisonneuve P, Bueno de Mesquita B et al. Cigarette smoking and pancreas cancer: a case-control study to the search programme of the IARC. *Int J Cancer* 1996; 67: 63–71.
8. Muscat JE, Stellman SD, Hoffmann D et al. Smoking and pancreatic cancer in men and in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 15–19.
9. Kessler I A genetic relationship between diabetes and cancer. *Lancet* 1970; 1: 218.

10. Silverman DT, Schiffman M, Everhart J et al. Diabetes mellitus, either medical conditions and familial history of cancer as a risk factors for pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1999; 80: 1830–1837.
11. Permert J, Ihse I, Jorfeldt L et al. Pancreatic cancer is associated with impaired glucose metabolism. *Eur J Surg.* 1993; 159: 101–107.
12. Partanen TJ, Vainio HU, Ojajarvi IA et al. Pancreas cancer, tobacco smoking and consumption of alcoholic beverages: a case-control study. *Cancer Lett* 1997; 116: 27–32.
13. Noy A, Bilezikian JP Diabetes and pancreatic cancer: Clues to the early diagnosis of pancreatic malignancy. *J Clin Endocrinol Metabol* 1994; 79: 1223–1231.
14. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG et al. Probability of pancreatic cancer following diabetes. A population-based study. *Gastroenterology* 2005; 129: 504–511.
15. Pannala R, Basu A, Petersen GM et al. New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. *Lancet Oncol* 2009; 10: 88–95.
16. Stolzenberg-Solomon RZ, Graubard BI. Insulin, glucose, insulin resistance and pancreatic cancer in male smokers. *JAMA* 2005; 294: 2872–2878.
17. Pisani P. Hyper-insulinaemia and cancer: metaanalysis of epidemiological studies. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 915–928.
18. Hemkens LC, Grouven U. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study. *Diabetologia* 2009; 52: 1732–1744.
19. Chari ST, Leibson CL, Rabe KB et al. Pancreatic cancer – associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology* 2008; 134: 95–101.
20. Pannala R, Leirness JB, Bamlet WR et al. Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer- associated diabetes mellitus. *Gastroenterology* 2008; 134: 981–987.
21. Fuchs CS, Colditz GA, Stampfer MJ et al. A prospective study of cigarette smoking and the risk of pancreatic cancer. *Arch Intern Med* 1996; 156: 2255–2260.
22. Villeneuve PJ, Johnson KC, Hanley AJG et al and the Canadian Registries Epidemiology Research Group. Alcohol, tobacco, and coffee consumption and the risk of pancreatic cancer: results from the Canadian Enhanced Surveillance System case-control project. *Eur J Cancer Prev* 2000; 9: 49–58.
23. Smith GD, Ether M, Shipley MJ et al. Post-challenge glucose concentration, impaired glucose tolerance, diabetes, and cancer mortality in men. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1110–1114.
24. Hong SG, Jung SJ, Joo MK et al. Prevalence of pancreatic cancer in diabetics and clinical characteristics of diabetes-associated with pancreatic cancer – comparison between diabetes with and without pancreatic cancer. *Korean J Gastroenterol* 2009; 54: 167–173.
25. Ogawa Y, Tanaka M, Inoue K et al. A prospective pancreatographic study of the prevalence of pancreatic carcinoma in patients with diabetes mellitus. *Cancer* 2002; 94: 2344–2349.
26. Inoue M, Iwasaki M. Diabetes mellitus and the risk of cancer: results from a large-scale population based cohort study in Japan. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1871–1877.
27. Law R, Parsi M, Lopez R et al. Cigarette smoking is independently associated with chronic pancreatitis. *Pancreatol* 2010; 10: 54–59.
28. Grote VA, Becker S, Kaaks R. Diabetes mellitus type 2 an independent risk factor for cancer? *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2010; 118: 4–8.

prof. MUDr. Petr Dítě, DrSc.
www.fnbrno.cz
e-mail: pdite@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 15. 10. 2010
Přijato po recenzi: 30. 11. 2010

2.2. Chronická pankreatitida a karcinom pankreatu

2.2.1. Etiopatogeneze, klasifikace a diagnostika chronické pankreatitidy

Chronická pankreatitida (ChP) představuje progredující zánět žlázy, vyúsťující v nevratné morfologické změny a postižení exokrinní a později i endokrinní funkce pankreatu. V rozvinutých zemích je ChP spojena především s nadměrnou dlouhodobou konzumací alkoholu. Zvláštní skupinu pacientů představují ti s geneticky podmíněnou hereditární pankreatitidou, u kterých je extrémně vysoké riziko rozvoje PC.

Souhrn informací o etiopatogenezi, klasifikaci a diagnostice ChP poskytuje níže uvedená přehledová práce. Je popsána mírně narůstající incidence ChP, kdy nejčastější etiologický faktor i nadále představuje alkohol. Narůstají však znalosti o dalších typech ChP – genetická ChP, AIP apod. Jako důležité se jeví též interakce mezi jednotlivými rizikovými faktory rozvoje ChP. Níže uvedená práce dále uvádí možnosti diagnostiky ChP – od anamnézy a fyzikálního vyšetření (bolesti u 85-90 % pacientů, hubnutí, ikterus, steatorhea, diabetes, vzácně ascites a fluidothorax), laboratorní testy (vedle běžných testů především genetické vyšetření a stanovení hladiny IgG4) přes neinvazivní zobrazovací metody (CT, NMR) až po popis role endoskopických metod (ERCP, EUS). Zmíněny jsou i základy léčby ChP – medikamentózní (substituce pankreatickými fermenty + analgetika s paracetamolem jako první volbou), endoskopické drenážní výkony u pacientů s obstruktivní ChP či chirurgické výkony drenážní i resekční. Je zdůrazněna i zásadní role ChP jako rizikového faktoru rozvoje PC. Pacienti s ChP (především hereditární) představují vhodnou skupinu pro dispenzarizaci a screening PC.

Dítě P, Trna J, Novotný I et al. Chronická pankreatitida v roce 2011. Vnitr Lek. 2011;57(11):891-6.

(publikovaná přehledová práce - kvantitativní podíl uchazeče 30 % - koncept, vyhledávání a analýza literatury, část textu publikace)

Chronická pankreatitida v roce 2011

P. Dítě^{1,2}, J. Trna², I. Novotný³, K. Floreanová², H. Nechutová², E. Geryk⁴

¹ Lékařská fakulta Ostravské univerzity Ostrava, děkan doc. MUDr. Arnošt Martínek, CSc.

² Interní gastroenterologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Aleš Hep, CSc.

³ Gastroenterologické oddělení Masarykova onkologického ústavu Brno, vedoucí oddělení MUDr. Milana Šachtová, CSc. et Ph.D.

⁴ Fakultní nemocnice Brno, ředitel MUDr. Roman Kraus, MBA

Souhrn: Chronická pankreatitida patří mezi nemoci s mírně, ale trvale narůstající incidencí. V současné době je nejčastějším rizikovým faktorem alkohol, ale zvláště pozorně jsou sledovány nové formy tzv. nealkoholické chronické pankreatitidy, jako je pankreatitida geneticky indukovaná a autoimunitní forma nemoci. Alkohol je sice stále nejčastější příčinou nemoci, ale faktem je, že alkohol je pouze faktorem rizikovým a teprve v součinnosti s dalšími faktory, např. genetickými, nemoc indukuje. V diagnostice mají zásadní roli metody zobrazovací, neinvazivní magnetická rezonance a CT, již invazivní, ale bezpečná endosonografie a diagnosticky jen výjimečně ERCP, které je právě kvůli své invazivitě dnes metodou především terapeutickou. Kromě toho jsou využívány markery genetické – CFTR mutace, SPINK 1 a PRRS 1 gen, u autoimunitní formy stanovení především imunoglobulinu G4 a event. pankreatická biopsie. Konzervativní terapie léčí symptomy nemoci, tj. pankreatickou malabsorpci (enzymy s vysokým obsahem lipázy) a pankreatickou bolest, kdy je jako první lék volby doporučen paracetamol, později tzv. synaptická analgetika. Alternativou terapie je léčba endoskopická (drenážní výkony) a léčba chirurgická – drenáž a resekce. Chronická pankreatitida hereditární a nehereditární patří mezi významné rizikové faktory indukce pankreatického karcinomu, a proto je dispenzarizace osob s těmito nemocemi nutná.

Klíčová slova: chronická pankreatitida – TIGARO klasifikace – hereditární pankreatitida – autoimunitní pankreatitida – pankreatické enzymy

Chronic pancreatitis in 2011

Summary: The incidence of chronic pancreatitis grows slowly but steadily. At present, alcohol is the most frequent risk factor, although the new forms of so called non-alcoholic chronic pancreatitis, such as genetically induced pancreatitis and its autoimmune variety, are carefully watched. Alcohol consumption continues to be most closely associated with the disease, though it is no more than a risk factor and other aspects, e.g. genetic predisposition, are prerequisite to the disease development. Imaging methods play a fundamental role in diagnosing the disease; non-invasive magnetic resonance and CT, invasive but safe endosonography, and diagnostically rarely used ECRP that, because of its invasive nature, is currently predominantly used for therapeutic purposes. Genetic markers are also exploited, including CFTR mutation, SPINK 1 and PRRS 1 gene, immunoglobulin G4 in the autoimmune form of the disease as well as, alternatively, pancreatic biopsy. Disease symptoms, i.e. pancreatic malabsorption (enzymes with high lipase content) and pancreatic pain are treated conservatively, with paracetamol as the first line therapy for pain followed, if necessary, by so called synaptic analgesics. Alternatively, endoscopic techniques (drainage) or surgery (drainage and resection) are applied. Hereditary and non-hereditary chronic pancreatitis is among the risk factors for pancreatic cancer and thus patients with these diseases should be closely followed up.

Key words: chronic pancreatitis – TIGARO classification – hereditary pancreatitis – autoimmune pancreatitis – pancreatic enzymes

Úvod

Incidence chronické pankreatitidy je rozdílná, např. ve Švýcarsku je udáván počet nových případů na 100 000 obyvatel na 2 za rok, v Polsku na 4 za rok a ve Skandinávii na 8–10 případů za rok. Zcela výjimečný údaj je z Finska – 23 osoby na 100 000 obyvatel za rok [1]. V České republice je incidence chronické pankreatitidy 7,9 [2]. Rozdíly v incidenci nemoci jsou dány řadou faktorů, jako je způsob stravování či denní příjem alkoholu, ale i genetické faktory.

Kromě toho i metodiky získávání epidemiologických dat byly rozdílné, přesto lze konstatovat, že ve střední Evropě je incidence chronické pankreatitidy v rozmezí 6,0–8,0.

Chronická pankreatitida je stále **definována** jako trvale progredující stav, kdy je funkční parenchym žlázy postupně nahrazován vazivem, a v pokročilých stádiích choroby dochází k vzniku exokrinní a terminálně i endokrinní pankreatické nedostatečnosti. V nedávné době nově identifikované formy nemoci (např. autoimunitní

forma pankreatitidy) tuto definici zcela nespĺňují.

V posledních letech jsme svědky pokusů o vytvoření nové klasifikace chronické pankreatitidy. Vedle nejčastěji používané klasifikace dle etiologických faktorů, zveřejněné v roce 2001 a označené jako TIGARO [3], je uváděna klasifikace ANNHEIM. Tato klasifikace je vyjádřením snahy o co nejkompaktnější, ale i nejdetajnější klasifikaci onemocnění, ale právě díky snaze o detailnost se tato klasifikace stala z praktického pohledu až nepoužitelnou.

Klasifikace chronické pankreatitidy dle etiologických faktorů (TIGARO klasifikace)

T – toxickometabolická forma (alkohol, nikotin, hyperlipidemie, uremie, léky, toxiny)

I – idiopatická forma

- idiopatická forma s časným začátkem nemoci
- idiopatická forma s pozdním začátkem nemoci
- tropická forma

G – genetická forma

- hereditární chronická pankreatitida s průkazem geneticky indukované autoaktivity intrapancreatického kationického trypsinogenu na kodómu 29, 122 na trypsin (SPINK 1, PRSS2 mutace)
- autozomálně recesivní forma (CFTR mutace)
- deficit α -1-antitrypsinu

A – autoimunitní forma

R – rekurentní akutní pankreatitida spojená s morfologickými změnami chronické pankreatitidy

- ischemická pankreatitida (cévní změny)
- postiradiační
- postnecrotická (reziduum po těžké akutní pankreatitidě)
- pancreas divisum

O – obstrukční forma

- obstrukce vývodu (kámen, nádor)
- stenóza Vaterovy papily
- cystoid utlačující pankreatický vývod
- vývojová anomálie
- jizva po traumatickém postižení žlázy

Uvedená klasifikace je odrazem našich současných znalostí o rizikových – etiologických faktorech, které indukují vznik chronické pankreatitidy. V naprosté většině platí (výjimkou je forma hereditární, obstrukční a zřejmě i autoimunitní), že zmíněné etiologické faktory samostatně nevedou ke vzniku chronické pankreatitidy, jsou tedy pouze **rizikovými faktory**, které se uplatní až za přítomnosti některého z dalších faktorů. Tím lze i vysvětlit, proč někteří alkoholici mají „jen“ jaterní cirhózu a ne chronickou pankreatitidu a naopak.

Etiopatogeneze chronické pankreatitidy

V etiopatogenezi chronické pankreatitidy je v posledních letech pozornost soustředěna na faktory genetické a autoimunitní formu nemoci.

Alkohol je přesto v průmyslově vyspělých zemích nejčastějším rizikovým faktorem vzniku nemoci [4]. V průmyslových zemích je až 80 % všech případů chronické pankreatitidy ve vztahu k abúzu alkoholu. V české studii bylo 70 % všech chronických pankreatitid ve vazbě na pravidelné a dlouhodobé (delší než 5 let) popíjení alkoholu [2]. V současné době existují 4 hlavní hypotézy, které se pokoušejí vysvětlit etiopatogenezi onemocnění:

1. tuková degenerace pankreatických acinů alkoholem;
2. poškození pankreatických acinů volnými kyslíkovými radikály;
3. destrukce pankreatických acinů v důsledku duktální hypertenze, která je indukována obstrukcí sekundárních, resp. terciálních pankreatických větví proteinovými zátkami;
4. fibrózní změny jako důsledek epizod akutní pankreatitidy.

Volné kyslíkové radikály jsou látky (reaktivní oxidativní substance) poškozující membránu buněk a ovlivňující nitrobuňkový metabolismus a činnost nitrobuňkových komponentů. Oxidativní stres vede k peroxidaci buněčných membrán. Tento stav je příčinou poškození pankreatických acinů. Oxidativní stres aktivuje tzv. stelátové buňky, které indukují proces fibrogenese, který je pak zásadní histomorfologickou matrix vzniku chronické pankreatitidy, včetně trvalé progresse nemoci.

Na tvorbě pankreatických konkrémentů ve vývodech se podílí látka nazvaná **lithostatin**. Lithostatin je významným faktorem precipitace bílkovin a kalcium karbonátu v tzv. saturované pankreatické šťávě.

Dalším významným faktorem v etiopatogenezi chronické pankreatitidy je **výživa**. Dietní návyky spojené s kouřením a příjmem alkoholu jsou jedněmi z velice častých patogenetických faktorů

chronické pankreatitidy, je však třeba zmínit, že kouření je dnes prokázáno jako jednoznačný a samostatný rizikový faktor vzniku chronické pankreatitidy [5].

V současné době mají zásadní roli v etiopatogenezi nemoci, jak bylo zmíněno výše, **genetické aberace** [6].

Cystická fibróza je dostatečně známou chorobou v pediatrii, včetně své abdominální formy. Avšak CFTR mutace byly prokázány nejen u osob s cystickou fibrózou, ale rovněž u nemocných s tzv. idiopatickou formou nemoci. Tito nemocní přitom nikdy klinickou formu cystické fibrózy neprodělali. Přítomnost CFTR mutace u osob s idiopatickou formou chronické pankreatitidy je prokázána až u 25 % všech osob s touto formou nemoci [7,8].

Neobyčejně závažnou genetickou formou chronické pankreatitidy je **hereditární forma chronické pankreatitidy**. Je to vzácnější onemocnění, spojené s genovými mutacemi na chromozomu 7Q35 kódovaným pro kationický trypsinogen [9]. Hereditární pankreatitida je významným rizikovým faktorem pankreatického karcinomu. Změny pankreatické tkáně vznikají v důsledku autoaktivity trypsinogenu na trypsin, kterým je žláza poškozena za přítomnosti mutace označené jako PRSS 1. Důsledkem intrapancreatické autoaktivity trypsinogenu na trypsin dochází k akutním minipankreatidám, které se hojí produkcí vaziva, a dochází k přestavbě žlázy ve smyslu chronické pankreatitidy.

K autoaktivaci intrapancreatického trypsinu (neaktivní forma) na enzymaticky aktivní trypsin dochází buď v důsledku existence genetického faktoru autoaktivity podporujícího, anebo pro nedostatek faktoru, který fyziologické autoaktivaci brání (tzv. SPINK-1 genové mutace). Zatímco k vyvolání chronické pankreatitidy stačí samotná přítomnost genu pro kationický trypsinogen, tj. u hereditární formy, zbylé dva výše uvedené geny jako takové změny pro chronickou pankreatitidu nevyvolávají, avšak za přítomnosti někte-

rého dalšího rizikového faktoru, jako je např. pití alkoholu nebo kouření, mohou onemocnění indukovat [10].

Autoimunitní forma chronické pankreatitidy byla popsána v roce 1995, ale poprvé se popis této formy nemoci v ka- zuistickém sdělení objevil již v roce 1976.

V současné době jsou rozlišovány 2 histomorfologické formy této nemoci.

1. typ je spojen s vysokou sérovou hladinou IgG4 imunoglobulinu, který je rovněž abundančně přítomen v pankreatické tkáni [11]. Pozitivní je řada nespecifických protilátek, např. ANA, ENA, ASMA, protilátky proti laktofe- rinu anebo pankreatickým vývodům. Při použití zobrazovacích metod nacházíme sonograficky, CT vyšetřením nebo endosonograficky zvětšený, klo- báse podobný tvar pankreatu. Pan- kreas je přitom zvětšen a pod jeho pouz- drem bývá při CT vyšetření patrný lem. Pankreatický vývod buď není zobrazi- telný, nebo je nápadně gracilní. V pan- kreatickém parenchymu je, kromě pří- tomnosti IgG4 elementů, nacházena také masivní lymfoplazmatická infil- trace [12]. Tyto parenchymové změny mohou být buď difúzní, anebo seg- mentární. Segmentární změny v ob- lasti hlavy pankreatu jsou často velice obtížně odlišitelné od karcinomu hlavy pankreatu. Tento typ je spojen s řadou dalších IgG4 pozitivních mimopankre- atických postižení, jako je retroperito- neální fibróza, nefropatie, sialoadeni- tida, Mikuliczův syndrom a podobně. Sami jsme v literatuře poprvé popsali autoimunitní formu pankreatitidy a IgG4 pozitivní mastitidy. Hovoříme dnes tak o skupině onemocnění ozna- čených jako IgG4/related diseases.

2. typ autoimunitní pankreatitidy se charakteristicky nevyznačuje pozitiví- tou IgG4 a diagnostika je možná pouze na základě pankreatické biopsie. Tento typ má vazbu pouze na jediné extra- pankreatické onemocnění, kterým je Crohnova choroba.

Přestože ERCP je dnes v pankreato- logii především metodou terapeuti- kou, v diagnostice autoimunitní formy pankreatitidy je přesnější než NMR-CP.

Obstruktivní forma nemoci: jaká- koli obstrukce pankreatického vývodu, včetně postižení Vaterovy papily (jízva, fibrózní změny, intraduktální kámen, nádor), vede ke zvýšení tlaku nejen v hlavním pankreatickém vývodu, ale i ve vývodech sekundárních a terciál- ních. Důsledkem je vznik tkáňové ische- mie a oxidativního stresu s aktivací ste- látových buněk a indukci fibrogenese.

Akutně recidivující forma chronické pankreatitidy je nejčastěji formou spo- jenou s dyskinézou Vaterovy papily anebo s vrozenou anomálií – pancreas divisum.

Klinický obraz chronické pankreatitidy

Nejčastějším příznakem chronické pankreatitidy je **bolest**, kterou udává 85–90 % osob. Pouze malá část ne- mocných má bezbolestnou formu chronické pankreatitidy. Pankreatická bolest je stálá, doba trvání je od něko- lika hodin po několik dnů. Klasická lo- kalizace bolesti je v okolí pupku, odkud se šíří pod oba oblouky žeberní. Bolest se dostavuje záhy po jídle a bývá tak in- tenzivní, že nemocní se z obavy jejího vyvolání bojí jíst. Bezbolestná forma nemoci je charakteristická pro tzv. la- te-onset idiopatickou formu chronické pankreatitidy, kdy je nemoc diagnosti- kována ve věku kolem 50 let a žláza bez významnějších prodromů je nalezena již významně morfologicky změněná.

Poměrně konstantním symptomem je **hubnutí**. U některých osob je hu- nutí tak progresivní, že nemocní ne- jsou schopni hmotnostní úbytek za- stavit sami pouze perorálním příjmem potravy a dochází k příznakům mal- absorpce. V takovém případě nezbytná nutriční podpora (podávání MCT olejů, sipping, enterální výživa).

Dalším příznakem chronické pan- kreatitidy může být **ikterus**, mající obstrukční charakter. Je vyvolán po- ruchou odtoku žluči kvůli obstrukci intrapancreatické části žlučového, nejčastěji fibrózními změnami paren- chymu. Ikterus je také někdy prvním příznakem autoimunitní formy ne-

moci, kdy masivní buněčná infiltrace pankreatického parenchymu doslova utlačuje intrapancreatickou část duc- tus choledochus.

Stolice bývá u těžké exokrinní insu- ficience frekventní, objemná, mastná, s nestrávenými zbytky potravy (jílovi- tého charakteru), ale i formovaná sto- lice se zbytky potravy patří do obrazu nemoci.

Pokročilé formy chronické pankrea- titidy jsou provázeny většinou velmi la- bilním **diabetem**.

Asi u 2–3 % osob s chronickou pan- kreatitidou může být přítomen pan- kreatický **ascites**. V ascitu nacházíme vysoké hodnoty amylázy a bílkovin.

Kromě ascitu lze asi u 10 % osob na- lézt současně i **hydrotorax**, s vysokým obsahem amylázy, event. lipázy v po- hrudniční tekutině.

Odlíšný klinický průběh má auto- imunitní forma pankreatitidy, kdy je průběh klinicky charakterizovatelný spíše jako břišní dyskomfort než ty- pická pankreatická bolest a úvodním příznakem může být pouze obstrukční ikterus (nejedná se ale o malignitu).

Diagnostika

Diagnostika chronické pankreatitidy se opírá o:

1. anamnestické údaje a fyzikální vy- šetření (nejen břicha);
2. stanovení enzymatické aktivity, tj. hladin enzymů produkovaných pankreatem, v krevním séru, moči, event. ve stolici;
3. vyšetření zevní sekrece slinivky břišní;
4. metody morfologického zobrazení pankreatu;
5. punkční biopsii slinivky břišní pod endosonografickým navedením;
6. vyšetření endokrinní pankreatické funkce;
7. genetické vyšetření.

Ad 1. **Anamnestické a fyzikální údaje** jsou velmi důležité ke zhodno- cení údajů z předchorobí. Významné je získání údajů o dietních návycích, o dlouhodobém pití alkoholu, o pro-

dělaných infekčních chorobách, o autoimunitních chorobách, s kterými je pacient právě léčen, o rodinné anamnéze pankreatitidy nebo o rodinném výskytu malignit atd.

Ad 2. Vyšetření **enzymatické aktivity** je vyšetřením orientačním. Amylázemie a lipázemie nejsou dostatečně přesnými markery pro stanovení diagnózy chronické pankreatitidy, jejich specifická mírně stoupá, jestliže je doplníme o stanovení pankreatického izoenzymu P-izoenzymu v séru. Přesnějším vyšetřením je stanovení elastázy ve stolici. Ale obecně nacházíme abnormální hodnoty elastázy 1 ve stolici až u morfolo- gicky pokročilejších stadií [13].

Ad 3. Citlivější je hodnocení **exokrinní kapacity pankreatu** po stimulaci slinivky břišní, např. enterohormony. Tyto látky se podávají intravenózně a nemocnému je dvoucestnou sondou odčerpán duodenální a žaludeční obsah. Tento test je poměrně přesný, avšak ekonomicky velmi náročný a navíc zjištění, že se jedná skutečně o exokrinní pankreatickou nedostatečnost, ještě nic nevyovídá o etiologii. Dnes jsou tyto testy vyhazeny především výzkumnými klasifikace ANNHHEIM má jako jedno z kritérií posouzení exokrinní kapacity slinivky břišní. Mezi novější testy, posuzující pankreatickou funkci, patří testy dechové. I když se jedná o testy poměrně přesné, jsou to testy ekonomicky náročné a nic neříkají o etiologii stavu [14]. Dechové testy jsou neinvazivní, neumožňují stanovit časná stadia onemocnění slinivky břišní, hodí se teoreticky k monitoringu terapie exokrinní nedostatečnosti slinivky břišní, ale v klinické praxi v roce 2011 je již nenajdeme.

Ad 4. Zásadní význam v diagnostice onemocnění slinivky břišní má vyšetření sledující **změny morfologie žlázy** [15]. **UZ vyšetření** je vždy prvotním vyšetřením a informuje o velikosti žlázy, její nehomogenitě, významným nálezem je rozšíření pankreatického vývodu nad 3 mm.

Počítačová tomografie je vyšetřením, které umožňuje výbornou prostorovou orientaci se spolehlivou diagnostikou kalcifikací a dobré zobrazení pankreatického vývodu, včetně patologického obsahu. Dále je metoda efektivní v diagnostice cystoidů a ložiskových procesů od velikosti 1,0 cm. Metoda podává cenné informace i o vztahu žlázy k velkým cévám [16].

Zlatým diagnostickým standardem byla dlouhodobě **endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie (ERCP)**, při níž zobrazujeme pankreatický vývod, event. žlučové cesty retrográdně přes Vaterovu papilu při zavedeném duodenoskopu do sestupného raménka duodena. Jde ale o metodu invazivní s možnými i velmi závažnými komplikacemi a dnes je především metodou endoskopického terapeutického armentaria.

Významnou metodou, která přispívá kvčasně diagnostice chronické pankreatitidy, v diagnostice ložiskových lézí, a zvláště diagnostice neuroendokrinních nádorů, je **endoskopická ultrasonografie**, která může být doplněna o **vyšetření elastografické**. Výhodou metody je možnost cílené a bezpečné pankreatické biopsie, jako jediná z diagnostických metod umožní zobrazit texturu parenchymu, tj. nejen vývodné systémy [17,18].

Z pohledu diagnostiky je prvou metodou volby **nukleárně magnetická rezonance-cholangiopankreatografie (NMR-CP)**, která umožňuje neinvazivní cestou poměrně dobré zobrazení žlučových cest a pankreatického vývodu, pro zvýšení citlivosti s použitím sekretinu i i.v. Oproti ERCP není metoda zatížena žádnými komplikacemi, pramenícími z alergické reakce na podání jodového kontrastu. Po podání sekretinu jsou vypracována i kritéria k orientačnímu hodnocení exokrinní kapacity pankreatu [19,20].

Ad 7. Stanovení CFTR, SPINK-1 a PRSS1 genu patří mezi standardní vyšetření všude tam, kde pomýšlíme na genetickou formu chronické pankreatitidy.

U osob s podezřením na autoimunní formu nemoci jsou stanovovány některé protilátky v krevním séru, jako je např. anti-laktoferrin, anti-karboanhydráza II či protilátky proti pankreatickým vývodům, dále revmatoidní faktor, antinukleární antigen (ANA), protilátky proti hladkým svalům (ASMA), sérové globuliny a imunoglobuliny včetně frakce IgG4, jejíž pozitivita je jedním z nejspolehlivějších ukazatelů toho, že se jedná o autoimunitní pankreatitidu.

Terapie

Formy léčby chronické pankreatitidy jsou i v roce 2011 dělitelné do 3 skupin:

1. konzervativní (medikamentózní) léčba;
2. endoskopická léčba;
3. chirurgická léčba.

Konzervativní léčba obsahuje vždy dietetická opatření. Absolutní zákaz alkoholu je samozřejmou podmínkou pro to, abychom mohli uvažovat o efektivní terapii u nemocného s chronickou pankreatitidou. Z diety vylučujeme živočišné tuky a nahrazujeme je rostlinnými, množství tuků nemá přesáhnout 80 g denně. Tam, kde je nutné množství tuků snížit, je doporučeno podání MCT olejů v množství 80–120 g. Množství cukru se odvíjí od toho, zda nemocný má nebo nemá diabetes, a činí asi 300 g denně. Bílkoviny podáváme zhruba v dávce 80–100 g/den. Pacienti s velice těžkým stavem výživy jsou léčeni enterální formou výživy [21,22].

Léky, které používáme v terapii chronické pankreatitidy, mají za cíl korigovat hlavní příznaky nemoci. V žádném případě nelze říci, že používáme kauzální léčbu. Je to léčba pouze suplementační nebo léčba symptomová.

Nejčastěji používanými preparáty u osob s chronickou pankreatitidou jsou léky obsahující pankreatické enzymy [23,24]. Jednoznačně jsou preferovány kapsle, které se skládají z mikropellet, jejichž velikost je optimálně 1,0–2,0 mm. Tyto pelety jsou na povrchu chráněny acidorezistentním oba-

lem, aby enzymy v nich nebyly inaktivovány kyselinou solnou. Pankreatické enzymy, které jsou obsaženy v kapslích, jsou amyláza, lipáza a proteázy. Tam, kde potřebujeme korigovat především známky steatorey a malabsorpce, použijeme léky s vysokým obsahem lipázy – denně 40 000 j. ke každému jídlu. Chceme-li ovlivnit i pankreatickou bolest, je doporučeno preferovat léky, které mají vysoký obsah proteáz. Obvyklá klasická dávka pankreatických enzymů je 3krát 25 000 j. (3 × 1 kapsle). V současné době je zdůrazněna potřeba podávat kapsli s pankreatinem ke každému jídlu a u významné steatorey podat během hlavních jídel až 50 000 j. lipázy. Pro úspěšnost léčby pankreatickou substitucí je podstatné, aby byla zachována synchronizace, kdy do horní části vstoupí žaludeční chymus a ve stejnou dobu jsou uvolněny pankreatické enzymy. Jen tak je zachováno fyziologické trávení, a jestliže je v duodenu přítomna žluč, pak je zachována i resorpce v tukých rozpustných látkách.

Kromě pankreatické substituce je často nutné pacientovi s chronickou pankreatitidou podávat analgetika. U některých osob vystačíme s podáváním léků se spazmolytickým účinkem, u jiných je třeba podávat tzv. syntetická analgetika, např. tramadol. Dle standardu německé gastroenterologické společnosti je prvním lékem volby paracetamol v analgetické dávce. Protože chronická pankreatitida bývá spojena i se změnami motility tenkého střeva (dysmotilita), řada pacientů udává zlepšení potíží po prokinetikách.

U osob s autoimunitní formou nemoci jsou zásadní léčbou kortikoidy podávané perorální formou, iniciační dávka je 40 mg a dávku snižujeme v intervalu 7 dnů o 5 mg. Dlouhodobá terapie, 10 mg prednisonu, trvá 6 měsíců.

Endoskopická léčba chronické pankreatitidy je indikována u obstruktivní algické formy nemoci [25]. Její podstatou je protěť Vaterovy papily a uvol-

nění toku pankreatického sekretu do duodena nebo odstranění konkrémentu z pankreatického vývodu pomocí košíčku či balónku. Dále je možné přemostění pankreatické stenózy zavedením plastického stentu. V současné době se objevují i první zprávy o možnosti využít tzv. self-expanding odstranitelný drén. Endoskopická léčba je rovněž efektivní v terapii pankreatických cystoidů, které buď komunikují s pankreatickým vývodem, nebo přímo naléhají na žaludeční stěnu [26,27]. Intraduktální pankreatické kameny jsou drceny pomocí rázové vlny (ESWL) a potom odstraněny [28].

Je si však nutné uvědomit, že endoskopická léčba nabízí pouze drenážní výkony [29,30].

Chirurgická léčba chronické pankreatitidy není tématem tohoto sdělení.

Závěr

Chronická pankreatitida, zvláště její hereditární forma, patří mezi významné rizikové stavy vzniku pankreatického karcinomu [31–33]. Jak je obecně známo, kvůli většinou pozdní diagnostice pankreatického karcinomu je karcinom pankreatu v naprosté většině případů infaustní nemocí. Stále platí, že jediná úspěšná terapie je pankreatická resekce, což je však vzhledem k pozdní diagnostice možné v řádu procent. Protože selhaly i dosavadní pokusy o smysluplný screening pankreatického karcinomu, jeví se jako určitá naděje mezinárodní aktivita PACS, založená na vyhledávání rizikem pankreatického karcinomu ohrožených osob, jejich dispenzarizace a v intervalu roku tzv. preventivní diagnostika. Do studie bude zařazena i Česká republika, zahájení studie je proponováno na rok 2012.

Zkratky

CFTR – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene

SPINK-1 gen – gen bránící autoaktivaci trypsinogenu

PSST1 – gen podporující spontánní intrapancreatickou autoaktivaci trypsinogenu

Literatura

1. Spanier BWM, Dijkgraaf MGW, Bruno MJ. Epidemiology, etiology and outcome of acute and chronic pancreatitis: An update. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 45–68.
2. Dite P, Stary K, Novotný I et al. Incidence of chronic pancreatitis in the Czech republic. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 749–750.
3. Etamad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 120: 682–707.
4. Ammann RW, Hertz PU, Klöppel G. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study. *Gastroenterology* 1996; 111: 224–231.
5. Tolstrup JS, Kristiansen L, Becker U. Smoking and risk of acute and chronic pancreatitis among women and men: a population-based cohort study. *Arch Intern Med* 2009; 169: 603–609.
6. Witt H, Apte MV, Keim V et al. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. *Gastroenterology* 2007; 132: 1557–1573.
7. Sharer N, Schwarz M, Malone G et al. Mutation of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 645–652.
8. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG et al. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 653–658.
9. Davila JA, El-Serag HB. GI epidemiology: databases for epidemiological studies. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 169–176.
10. Witt H, Luck W, Hennies HC et al. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet* 2000; 25: 213–216.
11. Kamisawa T, Anjiki H, Takuma K et al. The natural course of autoimmune pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 866–870.
12. Buscarini E, Frulloni L, De Lisi S et al. Autoimmune pancreatitis: a challenging diagnostic puzzle for clinicians. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 92–98.
13. Lankisch PG, Schmidt I, König H et al. Faecal elastase 1: not helpful in diagnosing chronic pancreatitis associated with mild to moderate exocrine pancreatic insufficiency. *Gut* 1998; 42: 551–554.
14. Domínguez-Muñoz JE, Iglesias-García J, Vilarinho-Insua M et al. 13C-mixed triglyceride breath test to assess oral enzyme substitution therapy in patients with chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 484–488.

15. Graziani R, Tapparelli M, Malagò R et al. The various imaging aspects of chronic pancreatitis. *JOP* 2005; 6: 73–88.
16. Shams J, Stein A, Cooperman AM. Computed tomography for pancreatic diseases. *Surg Clin North Am* 2001; 81: 283–236.
17. Wallace MB, Hawes RH. Endoscopic ultrasound in the evaluation and treatment of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2001; 23: 26–35.
18. Catalano MF. Diagnosing early-stage chronic pancreatitis: is endoscopic ultrasound a reliable modality? *J Gastroenterol* 2007; 42 (Suppl 17): 78–84.
19. Sugiyama M, Haradome H, Atomi Y. Magnetic resonance imaging for diagnosing chronic pancreatitis. *J Gastroenterol* 2007; 42 (Suppl 17): 108–112.
20. Czakó L. Diagnosis of early-stage chronic pancreatitis by secretin-enhanced magnetic resonance cholangiopancreatography. *J Gastroenterol* 2007; 42 (Suppl 17): 113–117.
21. Calari S, Benini L, Sembenini C et al. Medium-chain triglyceride absorption in patients with pancreatic insufficiency. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 90–94.
22. Meier R, Ockenga J, Pertkiewicz M et al. ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition). ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: *Pancreas*. *Clin Nutr* 2006; 25: 275–284.
23. Dominguez-Muñoz JE. Pancreatic enzyme therapy for pancreatic exocrine insufficiency. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 116–122.
24. Layer P, Keller J, Lankisch PG. Pancreatic enzyme replacement therapy. *Curr Gastroenterol Rep* 2001; 3: 101–108.
25. Delhaye M, Arvanitakis M, Verset G et al. Long-term clinical outcome after endoscopic pancreatic ductal drainage for patients with painful chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1096–1106.
26. Delhaye M, Arvanitakis M, Bali M et al. Endoscopic therapy for chronic pancreatitis. *Scand J Surg* 2005; 94: 143–153.
27. Devière J, Bell RH Jr, Beger HG et al. Treatment of chronic pancreatitis with endotherapy or surgery: critical review of randomized control trials. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 640–644.
28. Tringali A, Boskoski I, Costamagna G. The role of endoscopy in the therapy of chronic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 145–165.
29. Cahen DL, Gouma DJ, Nio Y et al. Endoscopic versus surgical drainage of the pancreatic duct in chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 2007; 356: 676–684.
30. Dite P, Ruzicka M, Zboril V et al. A prospective, randomized trial comparing endoscopic and surgical therapy for chronic pancreatitis. *Endoscopy* 2003; 35: 553–558.
31. Kamisawa T, Tu Y, Egawa N et al. The incidence of pancreatic and extrapancreatic cancers in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1579–1581.
32. Bansal P, Sonnenberg A. Pancreatitis is a risk factor for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 1995; 109: 247–251.
33. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993; 328: 1433–1437.

prof. MUDr. Petr Dítě, DrSc.
www.fnbrno.cz
e-mail: pdite@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 24. 8. 2011

2.2.2. Léčba a dispenzarizace pacientů s chronickou pankreatitidou

Popis principů léčby ChP včetně zdůraznění nutnosti důsledné dispenzarizace pacientů s ChP z důvodu rizika rozvoje PC podává níže uvedená přehledová práce, která jako cíle léčby definuje základní symptomy ChP - bolest a poruchy exokrinní a endokrinní funkce pankreatu. Možnosti léčby jsou schématicky rozděleny na konzervativní, minimálně intervenční (endoskopie, radiologie) a chirurgické. Z konzervativní (medikamentózní) léčby se nabízí substituce pankreatickými enzymy (řešení exokrinní insuficience, dle některých názorů i ovlivnění bolesti), analgetika (paleta od paracetamolu, NSAID, slabé až po silné opiáty), antidepresiva a gabapentin/pregabalin (ovlivnění remodelace nociceptivních drah, která vede k hyperalgezií), PPI (blokádá sekrece HCl vyrovnává pokles sekrece bikarbonátu a vede tím k udržení stabilního pH), rifaximin (ovlivnění bakteriálního přerůstání) a léčba diabetu (dle úrovně zachovalé endokrinní funkce lze použít PAD i insulin). Invazivní řešení nabízí celou škálu endoskopických a chirurgických výkonů. Endoskopie umožňuje zlepšení drenáže a je tudíž vhodná především u symptomatických pacientů s dominantní strikturou v oblasti dosažitelné endoskopicky – t.j. např. v oblasti hlavy pankreatu. Dle některých studií včasné řešení obstrukce může zlepšit dlouhodobou prognózu pacientů s ChP. Z dlouhodobého hlediska

se však jako účinnější jeví řešení chirurgické, které umožňuje nejen drenáž, ale i resekci. Drenážní výkony jsou technicky jednodušší, ale resekční výkony řeší i pacemaker pankreatické bolesti v hlavě pankreatu a jsou tudíž z dlouhodobého hlediska účinnější v řešení bolesti. Samostatnou kapitolu pak představují operační výkony řešící komplikace ChP – pseudocysty, pseudoaneurysmata, útlak okolních struktur. I v případě chirurgického řešení je vhodné časné odeslání pacienta – malnutriční pacient, závislý na opiátech, již není vhodným kandidátem chirurgického výkonu.

Trna J, Stibůrek O, Shánělová M et al. Principy léčby chronické pankreatitidy. Gastroenterol prax. 2016;15(1):31-35.

(publikovaná přehledová práce - kvantitativní podíl uchazeče 40 % - koncept, vyhledávání a analýza literatury, text publikace)

Principy léčby chronické pankreatitidy

Jan Trna, Oldřich Stibůrek, Marcela Shánělová, Petr Dítě

Chronická pankreatitida se nejčastěji projevuje bolestí, dále pak poruchou exokrinní a endokrinní funkce. Konzervativní možnosti léčby zahrnují vedle režimových opatření především suplementaci pankreatických enzymů a analgetickou terapii. Jako pomocná léčiva se užívají antidepresiva, analoga kyseliny γ -aminomáselné (gabapentin, pregabalin) a inhibitory protonové pumpy. Často přítomné bakteriální přerůstání je ovlivnitelné podáváním antibiotik s preferencí nevstřebatelných (rifaximin). Diabetes mellitus je možno řešit dle úrovně zachované endokrinní funkce perorálními antidiabetiky či insulinem. V komplikovaných případech je nutné invazivní řešení – k dispozici je paleta endoskopických, radiologických a chirurgických výkonů. Indikace chirurgického zákroku obecně představují bolest neřešitelná konzervativně, přítomnost komplikací (pseudocysta, pseudoaneurysma, útlak okolních struktur) a nemožnost vyloučit malignitu.

Klíčová slova: chronická pankreatitida, léčba, pankreatické enzymy, analgetika, endoskopie, chirurgie

Principles of chronic pancreatitis treatment

Abdominal pain, exocrine and endocrine insufficiency are the most common symptoms of chronic pancreatitis. Conservative treatment options involve lifestyle modification, pancreatic enzyme substitution and analgesics. Adjunctive agents such as antidepressants, GABA analogues (gabapentin, pregabalin) and proton-pump inhibitors can alleviate disease symptoms. Small bowel bacterial overgrowth is treatable with antibiotics, preferably poorly absorbed rifaximin. Diabetes mellitus can be treated with oral hypoglycaemics or insulin depending on residual pancreatic endocrine function. Complicated cases require invasive treatment – radiological, endoscopic or surgical. Indications of surgery for chronic pancreatitis are intractable pain, symptomatic complications (pseudocyst, pseudoaneurysm, obstruction of adjacent structures) and doubt of malignancy.

Key words: chronic pancreatitis, treatment, pancreatic enzymes, analgesics, endoscopy, surgery

Gastroenterol. prax 2016; 15 (1): 31-35

1. Úvod

Chronická pankreatitida (ChP) bývá definována jako postupné a nevratné poškození tkáně pankreatu chronickým zánětem, vedoucím k fibróze a náhradě funkční tkáně vazivem.

Nejčastější klinické projevy představují bolest a známky exokrinní (steatorhea, váhový úbytek, hypovitaminózy) a endokrinní (diabetes mellitus) insuficience. V rámci řešení klinicky nejpálčivější problematiky – pankreatické bolesti – je důležité vyloučit přítomnost komplikací či jiných souvisejících stavů, pro které existuje kauzální řešení – pseudocysty, duodenální či biliární obstrukce nebo gastroparéza. Podstatné je též vyloučit karcinom pankreatu.

2. Konzervativní terapie ChP

2.1. Režimová opatření

Zásadním opatřením je abstinence alkoholu a tabáku, protože jejich pokračující konzumace vede k progresi ChP a zvyšuje mortalitu. Naopak ukončení konzumace alkoholu může vést ke zlepšení bolesti⁽³⁾.

V rámci dietních opatření bylo opuštěno dříve doporučované snížení příjmu tuků až na 20 g denně, které vede k nižšímu příjmu vitaminů a mikronutrientů. Doporučuje se jídlo rozdělit na více objemově menších porcí s celkově normálním příjmem tuků a korekce symptomů suplementací enzymů. Vhodné je ale vynechání výrazně tučných jídel (přepalované živočišné tuky) a vyvazování se jídel, která u daného pacienta vedou k bolestem či jiným potížím.

Vhodná je též suplementace vitaminů a stopových prvků, především těch s antioxidačním působením (selen, beta-karoten, vitamin C, vitamin E a methionin) protože několik menších studií prokázalo, že antioxidační směsi mírně snižují míru bolesti u pacientů s ChP⁽²⁾.

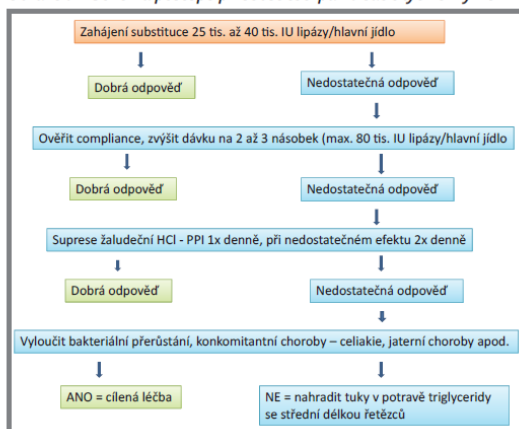
Vhodné je pátrat po osteopenii či osteoporóze podmíněné nedostatečným vstřebáváním vitaminu D a kalcia s jejich případnou suplementací⁽³⁾.

2.2. Suplementace pankreatických enzymů

Suplementace pankreatických enzymů je zásadním opatřením k ovlivnění malabsorbce a dle některých názorů může pozitivně ovlivňovat i pankreatickou bolest. Základní klinický problém představuje porucha trávení tuků. Suplementace pankreatických enzymů je jednoznačně nezbytná u pacientů s váhovým úbytkem a s projevy steatorhey. Nicméně malabsorbce vitaminů a mikronutrientů je na symptomech nezávislá a řadou autorů je tudíž suplementace doporučována i u asymptomatických pacientů a s každým jídlem⁽⁴⁾. Obecně jsou pacienti s ChP spíše poddávkovani a u těžších forem postižení lze doporučit relativně vysoké dávky enzymů (např. 40 tisíc jednotek lipázy k hlavním jídlům a 25 tisíc ke svačinám).

Vzhledem k tomu, že cca 10% úroveň sekrece lipázy stačí k udržení trávení bez projevů steatorhey, mělo by i v případech významné exokrinní insuficience stačit dodání 30 tisíc jednotek lipázy (cca 10 % normálního výdeje lipázy pankreatem) do duodena k zajištění dostatečného trávení. Rada faktorů však snižuje

Obrázek 1. Schéma postupu při substituci pankreatických enzymů



účinnost podané dávky a nutí tudíž k podávání výrazně vyšších dávek – výrazná pH labilita lipázy, porucha žaludeční motility, proteolýza lipázy proteázami. Většinu těchto problémů lze do značné míry překonat použitím enterosolventních mikronizovaných forem enzymů s nízkým obsahem proteáz a případně přidáním suprese HCl.

Vhodný postup při podávání pankreatické substituce (modifikováno dle 5) shrnuje obrázek 1.

Ovlivnění bolesti suplementací pankreatických enzymů je vysvětlováno normalizací narušené zpětnovazebné kontroly sekrece, kdy dodané exogenní pankreatické proteázy vedou ke snížení pankreatické stimulace a nepřímo tak ke snížení pankreatické bolesti⁽⁶⁾. Nicméně pankreatická sekrece je stimulována i neuronálně a sekrece bikarbonátu není řízena přítomností proteáz vůbec. Tudíž po perorálním podání proteáz nelze očekávat kompletní supresi pankreatické sekrece a efekt je tudíž velmi variabilní a má podstatný význam pouze u určité podskupiny pacientů (typicky ženy s postižením malých vývodů). Vzhledem k bezpečnosti pankreatické substituce však lze pokus s pankreatickou substitucí k ovlivnění bolesti doporučit.

2.3. Analgetika

Většina pacientů s ChP vyžaduje intermitentně či trvale určitý stupeň analgetické terapie. Základy léčby se řídí obecně platným třístupňovým schématem léčby bolesti dle WHO.

Za základní léky v léčbě bolesti u ChP jsou považovány paracetamol (dle řady doporučení jako lék první volby) a metamizol⁽⁷⁾. Klasické NSAID a selektivní COX-2 inhibitory (coxiby) působí sice navíc protizánětlivě, vyšší analgetický účinek těchto látek u ChP však nebyl prokázán. Vzhledem k vyššímu riziku nežádoucích účinků (především riziko GIT toxicity) je proto nelze jednoznačně doporučit namísto paracetamolu či metamizolu.

Pokud neopioidní analgetika nedostačují ke kontrole bolesti, lze v dalším kroku použít slabé opiáty typu tramadololu ideálně v kombinaci s paracetamolem⁽⁸⁾. Doporučuje se začít rychle vstřebatelnými lékovými formami s cílem vytitrovat potřebnou dávku a následně přejít na preparáty s postupným uvolňováním účinné látky zajišťující stabilnější hladinu a lepší adhezi k léčbě.

V případech že analgezie není nadále dostatečná, přecházíme na silnější opiáty⁽⁹⁾. Dávku titrujeme postupně, cílem je spíše dosažení snesitelné intenzity bolesti než kompletní úlevy, ke které jsou často zapotřebí vysoké dávky opiátů představující vyšší riziko vzniku závislosti. Za preferované látky jsou považovány fentanyl a buprenorfin, které mj. nepůsobí spasmogenně na Oddiho sfinkter a žlučové cesty. Ideální formu podání představují transdermální náplasti – limitují nežádoucí účinky a zajišťují stabilní hladinu preparátu.

V případě potřeby vysokých dávek opiátů či nedostatečné kontrole bolesti je třeba hledat další možnosti řešení – zvažování invazivního řešení, pokud je u daného pacienta možné, či podávání pomocných léků, jak budou uvedeny dále.

2.4. Antidepresiva

Řada pacientů s ChP trpí depresí – ať již jako nesouvisející diagnóza tak jako následek chronické bolesti, která může vést k remodelaci nociceptivních drah s následnou hyperalgezií a alldynií. Antidepresiva ze skupiny tricyklických či SSRI vedou k potenciaci účinku opiátů a představují vhodné podpůrné preparáty u pacientů s bolestivou ChP⁽⁹⁾. V závislosti na celkovém stavu pacienta lze volit například amitriptylin (mírně sedativní) či clomipramin (mírně stimulační).

2.5. Gabapentin a pregabalin

Podávání těchto léků se s dobrým efektem používá u řady stavů spojených s chronickou bolestí včetně ChP⁽⁹⁾. Mohou pomoci snížit dávku opiátů potřebnou ke kontrole bolesti. Léčbu je třeba začít nízkou dávkou, kterou postupně navyšujeme.

2.6. Inhibitory protonové pumpy (PPI)

PPI zvyšují žaludeční pH, vyrovnávají pokles sekrece bikarbonátu a zachovávají tím rovnováhu v GIT. Fyziologické pH v duodenu zlepšuje efektivitu pankreatické suplementace, umožňuje správnou funkci žluči atd. Snižuje se též riziko rozvoje peptických lézí. Vyšší pH též představuje nižší stimulační tlak na pankreas k produkci bikarbonátu, což ve svém důsledku může vést k nižší bolestivosti⁽¹⁰⁾.

2.7. Bakteriální přerůstání

Přítomnost nestrávených nutrientů v lumen střeva, porucha jeho motility a snížená baktericidní kapacita tráveniny vedou k časté přítomnosti bakteriálního přerůstání u pacientů s ChP. Možné řešení představuje nevstřebatelné ATB rifaximin (Normix). Tento preparát má velmi dobrý bezpečnostní profil s minimem nežádoucích účinků a u řady pacientů s ChP může výrazně zlepšit i nespecifické dyspeptické potíže, které mohou souviset s bakteriálním přerůstáním⁽¹¹⁾.

2.8. Diabetes mellitus

Diabetes u pacientů s ChP bývá z důvodu nedostatku glukagonu labilní, kompenzace může být obtížná s rizikem hypoglykemií. Terapeuticky lze při dostatečné hladině C-peptidu použít i perorální antidiabetika, jejich efekt je však často nedostatečný a insulinoterapie je v tomto případě nutná. Snaha o těsnou kontrolu glykémie u pacientů s ChP často končí hypoglykemií – jednak kvůli poruše sekrece glukagonu a též kvůli špatné compliance⁽¹²⁾. Z těchto důvodů jsme někdy nuceni na těsnou kontrolu glykémie rezignovat.

3. Invazivní terapie

3.1. Endoskopie

Základním cílem endoskopické léčby je zlepšit drenáž pankreatického ductu řešením obstrukce. Ideální kandidáty představují symptomatictí pacienti s dominantní strikturou či konkrementem v hlavě pankreatu a dilatací pankreatického vývodu nad touto překážkou⁽¹³⁾. Ke zhodnocení nálezů na vývodném systému pankreatu je stále častěji používána cholangiopankreatikografie za použití magnetické rezonance (MRCP). Některé studie ukazují, že včasné řešení obstrukce může zlepšit dlouhodobou prognózu pacientů s ChP a oddálit rozvoj exo a endokrinní insuficience. Endoskopie nabízí několik možných výkonů – pankreatická sfinkterotomie, stentáž a extrakce konkrementů. Tyto metody jsou často kombinovány. Z dlouhodobého hlediska se však chirurgické výkony jeví stran kontroly bolesti jako účinnější než endoskopické⁽¹⁴⁾.

3.2. Chirurgie

Chronická pankreatitida není primárně chirurgická diagnóza. Nicméně řada pacientů v průběhu choroby dospěje k nutnosti chirurgického řešení.

Souhrn obecných indikací k chirurgickému řešení u pacientů s ChP uvádí **tabulka 1**⁽¹⁵⁾.

V rámci řešení bolesti jsou k dispozici drenážní či resekční výkony, případně jejich kombinace⁽¹⁶⁾. Drenážní výkony jsou technicky jednodušší, zachovávají více parenchymu, jsou i méně zatěžující pro organizmus pacienta. Obecně je k provedení tohoto typu výkonu potřeba dilatace ductu minimálně na 6-7 mm, což umožňuje bezpečnou identifikaci ductu a našití anastomózy.

Dlouhodobý efekt však z ne zcela jasných důvodů přetrvává pouze v polovině. Je zde tedy tenká hranice mezi výhodami drenážních výkonů a nevýhodou v podobě nedostatečné účinnosti. Oblast hlavy pankreatu se zdá být pacemakerem bolesti a vývoj tudíž směřuje k výkonům kombinujícím resekci tkáně hlavy pankreatu a drenáž zbytku ductu.

Jako ultimatum refugium je někdy zvažována totální pankreatektomie (ideálně s autotransplantací Langerhansových ostrůvků) – např. v případě pacientů s hereditární ChP, u kterých je mnohonásobně zvýšeno riziko rozvoje karcinomu pankreatu⁽¹⁷⁾.

Samostatnou skupinu chirurgických výkonů představují anastomózy v rámci řešení útlaku okolních struktur – žlučových cest, duodena apod.

Odeslat pacienta s ChP ke konzultaci možnosti chirurgického řešení je vhodné spíše časněji v průběhu choroby. Malnutriční pacient bez rezervy, závislý na opiátech, není pro chirurgické řešení vhodný mimo jiné z důvodu vysokých perioperačních rizik. Včasné, vhodné indikované, chirurgické řešení může dle některých prací dokonce zpomalit progresi základní choroby⁽¹⁸⁾.

3.3. Nervové blokády a neurolyza plexus celiacus

Tyto výkony nedosahují výrazné účinnosti v ovlivnění bolesti u ChP⁽¹⁹⁾ a jsou proto v této indikaci používány spíše výjimečně podobně jako thorakoskopické přerušování splanchnických nervů⁽²⁰⁾.

4. Komplikace a možnosti jejich řešení

4.1. Pseudocysty

Pseudocysty se vyskytnou u cca 25 % pacientů s ChP. Nejčastěji se projevují abdominální bolestí, méně často pak hmatnou rezis-

Tabulka 1. Indikace chirurgického řešení ChP (podle 15)

Nezvladatelná bolest
Komplikace zánětu ovlivňující pankreas nebo okolní struktury:
– Stenóza pankreatického ductu
– Biliární obstrukce
– Duodenální obstrukce
– Obstrukce v. portae či v. lienalis
– Obstrukce kolon
Komplikace přítomností pseudocysty:
– Perzistující či progredující pseudocysta především v případě přítomnosti symptomů
– Pankreatický ascites či fluidothorax
– Pankreatická píštěl
Nemožnost vyloučit karcinom pankreatu

tencí, nauzeou a zvracením (jako důsledek útlaku žaludku či duodena), ikterem (důsledek útlaku žlučových cest) nebo krvácením. Řada pacientů je asymptomatických, potíže jsou přítomny u cca 20-40 % případů⁽¹²⁾. Infekce pseudocysty je častou komplikací, která se může projevit až septickým stavem. Terapie zahrnuje širokospektrá ATB a zajištění dostatečné drenáže za pomoci endoskopického, perkutánního či chirurgického výkonu.

Spontánní resorpce pseudocyst asociovaných s ChP je výrazně méně častá než v případě pseudocyst vzniklých v rámci akutní pankreatitidy. Navzdory tomu není invazivní léčba nutná u všech pacientů. Pacienti s vyzrálými pseudocystami menšími než 6 cm, s žádnými či minimálními příznaky a bez zásadních komplikací mohou být ponecháni bez invazivního řešení. I větší asymptomatické pseudocysty mohou být důsledně sledovány⁽²¹⁾.

Léčba pseudocyst může být chirurgická, endoskopická či perkutánní. Perkutánní drenáž není obecně doporučována pro vysoké riziko vzniku pankreatokutánní píštěle, případně rekurence kolekce po odstranění drénu. Endoskopická léčba je možná, pokud kolekce může být dosažena přes Vaterskou papilu, či přes stěnu žaludku či duodena. Na řadě pracovišť se endoskopická drenáž stala první volbou terapie⁽²²⁾. Chirurgické řešení v podobě pseudocystogastro či pseudocystojejunooanastomózy představuje řešení v případě nemožnosti použití či selhání méně invazivních postupů či výrazně symptomatických nálezech^(15,16).

4.2. Pseudoaneurysma

Pseudoaneurysmata vznikají většinou jako následek enzymatického a tlakového poškození stěny arterie (nejčastěji a. lienalis, a. gastroduodenalis a a. pankreatoduodenalis) kontaktem s pseudocystou. Pseudoaneurysma se rupturou může otevřít do pseudocysty, čímž ji přemění vlastně ve větší pseudoaneurysma, nebo do pankreatického ductu, do okolních orgánů či do volné dutiny břišní. V případě krvácení dosahuje mortalita až 40 %. Krvácení však může být i menší intenzity, případně intermitentního charakteru. V takovém případě se může projevit bolestí břicha (na podkladě zvětšení velikosti pseudocysty) či nevyšvětlitelnou anemií. Krvácení, které spontánně ustává, může být předzvěstí masivního krvácení, ke kterému dojde v následujících hodinách či dnech⁽¹²⁾. Krvácení může přechodně ustát tím, že zvýšený tlak v pseudocystě přechodně utlačí krvácející pseudoaneurysma. Nevyšvětlitelná anemizace či krvácení do GIT u pacienta s ChP a známou přítomností pseudocysty by měly vést k vyloučení přítomnosti pseudoaneurysmatu. Nalezené pseudoaneurysma by v těchto případech mělo být řešeno bez ohledu na to, jestli bylo krvácení přímo zachyceno v momentě provedení CT⁽²³⁾. Dle naléhavosti stavu je možným řešením emergentní či plánova-

ná angiografie s embolizací pseudoaneurysmatu. Angiografická embolizace postupně nahrazuje chirurgii v pozici první volby. Chirurgie zůstává možností v případě selhání méně invazivního přístupu⁽²³⁾.

4.3. Obstrukce žlučových cest

Duktus choledochus probíhá v těsném vztahu s hlavou pankreatu. Zánětlivé a fibrotické změny hlavy pankreatu, stejně jako pseudocysty v této oblasti, mohou utlačovat tuto část žlučového a vést k elevaci jaterních testů, ikteru, biliárnímu typu bolesti či cholangitidě. Přechodnou obstrukci někdy detekujeme v době akutní exacerbace s edémem hlavy pankreatu. Tato situace většinou řešení nevyžaduje a odeznívá spontánně. Symptomatická obstrukce žlučových cest se objevuje u cca 10 % pacientů s ChP⁽²²⁾. Absolutní indikací k řešení je přítomnost cholangitidy. Pouhá přítomnost útlaku žlučových cest, bez přítomnosti symptomů či výrazné elevace JT není obecně důvodem k invazivnímu řešení. Definitivní řešení představuje chirurgická spojka ve formě choledochoduodenoanastomózy či choledochojunoanastomózy⁽²⁶⁾. Endoskopická drenáž představuje většinou pouze krátkodobé řešení (typicky v případě cholangitidy), protože vyžaduje většinou opakovanou výměnu drénů a existuje nezanedbatelné riziko migrace či obstrukce drénu s následnou cholangitidou⁽²⁴⁾. Objevení se stenotizace choledochu je též podezřelé z rozvoje pankreatické malignity.

4.4. Obstrukce duodena

Přibližně 5 % pacientů s ChP má symptomy z duodenální obstrukce. Symptomy jako nauzea, zvracení, váhový úbytek a bolesti břicha by měly vést k vyšetření s cílem vyloučení této komplikace. U stejného pacienta se relativně často nachází obstrukce duodena a útlak žlučového. V rámci diagnostiky je vhodné provést i CT s per os kontrastem, případně RTG pasáže, protože endoskopie často funkční závažnost stenotizace podceňuje⁽¹²⁾. V případě rozvoje poruchy pasáže navazující na akutní exacerbaci lze očekávat zlepšení po ústupu akutních zánětlivých změn. V ostatních případech je řešení chirurgické – nejjednodušejí gastrojejunostomóza, pokud je zároveň i indikace k řešení pankreatu, pak kombinace s drenážním či dokonce resekcijním výkonem na pankreatu.

4.5. Obstrukce kolon

Jedná se o vzácnou komplikaci projevující se ileózním stavem či při mírnějším postižení intermitentní poruchou pasáže s odpovídajícími klinickými příznaky⁽²⁵⁾.

4.6. Pankreatické píštěle

Zevní (pankreatikokutánní) píštěle vznikají nejčastěji iatrogeně – jako následek chirurgického či perkutánního výkonu na pankreatu. Cca polovina se zhojí za použití střevního klidu (bowel rest) pomocí plně parenterální výživy. Jistý pozitivní efekt vyka-

zuje oktreotid. V případě píštěle na podkladě disrupce ductu může pomoci překlenutí oblasti endoskopicky zavedeným pankreatickým drénem. Pokud méně invazivní přístupy selžou, pak je nutné chirurgické řešení fistujunoanastomózu⁽²⁶⁾.

Vnitřní píštěle vznikají nejčastěji v případě ruptury pseudocysty. V případě otevření do dutiny břišní se objevuje pankreatický ascites, do pleurální dutiny pak pankreatický fluido-thorax. Klinické potíže odpovídají místu a množství tekutiny – nárůst objemu břicha, bolesti, dušnost. Diagnosticky je typická vysoká hladina amylázy ve vypunktované tekutině. V některých případech může být efektivní konzervativní léčba – bowel rest, plná parenterální výživa, oktreotid, drenáž dutiny břišní či hrudní. Pokud píštěl vychází z hlavy či těla lze oblast překlenout stentem. V případě selhání přichází na řadu chirurgické řešení⁽²⁶⁾.

4.7. Malignita

Všechny formy ChP zvyšují riziko rozvoje karcinomu pankreatu (PC). Obecně je riziko PC u pacientů s ChP bez ohledu na etiologii cca 4%. Nejvyšší riziko PC nesou pacienti s hereditárním ChP, vysoké riziko je též u kuřáků tabáku. Neexistuje jednoduchý způsob diferenciální diagnostiky. Základem je na tuto možnost myslet a pacienty s ChP důsledně dispenzarizovat s pravidelnými analýzami změny klinického stavu a za pomoci zobrazovacích metod. Endoskopická sonografie (EUS) vykazuje zvláště u malých lézí (pod 2 cm) vyšší citlivost než CT⁽²⁷⁾.

Pacienti s ChP mají též nezanedbatelně vyšší riziko extrapancreatických tumorů, související většinou s abusem alkoholu a tabáku – plíce, GIT apod⁽¹²⁾.

4.8. Dysmotilita GIT

U pacientů s ChP se občas vyskytují potíže způsobené gastroparézou a dysmotilitou antroduodenální oblasti⁽²⁸⁾. Gastroparéza může působit symptomy podobné jako vlastní ChP (což vede k diferenciálně diagnostickým rozpakům), navíc může snižovat efektivitu podávaných pankreatických enzymů. Měli bychom na tuto možnost myslet u pacientů s časným pocitem plnosti, nauzeou, zvracením, váhovým úbytkem.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)

Adresa pro korespondence:

MUDr. Jan Trna, Ph.D.
Interní gastroenterologická klinika FN Brno a LF MU Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
e-mail: jan.trna@seznam.cz

MUDr. Marcela Shánělová
Interní gastroenterologická klinika FN Brno a LF MU Brno

MUDr. Jan Trna, Ph.D., MUDr. Oldřich Stibůrek, Ph.D.
Gastroenterologická ambulance Interního oddělení Nemocnice Boskovice

prof. MUDr. Petr Dítě, DrSc.
Oddělení gastroenterologie, metabolismu a výživy Interní kliniky LF Ostravské univerzity a FN Ostrava

Literatura:

1. Strum WB. Abstinence in alcoholic chronic pancreatitis. Effect on pain and outcome. *J Clin Gastroenterol.* 1995;20(1):37-41.
2. Kirk GR, White JS, McKie L et al. Combined antioxidant therapy reduces pain and improves quality of life in chronic pancreatitis. *J Gastrointest Surg.* 2006;10:499-503.

3. Dujsiková H, Dítě P, Tomandl J et al. Occurrence of metabolic osteopathy in patients with chronic pancreatitis. *Pancreatol.* 2008;8:583-6.

4. D'Haese JG, Ceyhan GO, Demir IE et al. Pancreatic enzyme replacement therapy in patients with exocrine pancreatic insufficiency due to chronic pancreatitis: a 1-year disease management study on symptom control and quality of life. *Pancreas.* 2014;43:834-41.

5. Lörr JM. Exocrine pancreatic insufficiency. UNI-MED Verlag AG Bremen 2007. 71 s.
6. Walkowiak J, Witmanowski H, Strzykala K et al. Inhibition of endogenous pancreatic enzyme secretion by oral pancreatic enzyme treatment. *Eur J Clin Invest.* 2003;33:65-9.
7. Bojková M, Klvaňa P, Svoboda P. Bolest u chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu – možnosti léčby. *Vnitř Lék.* 2014;60:205-211.
8. Wilder-Smith CH, Hill L, Osler W, O'Keefe S. Effect of tramadol and morphine on pain and gastrointestinal motor function in patients with chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 1999;44:1107-16.
9. Ceyhan GO, Michalski CW, Demir IE et al. Pancreatic pain. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2008;22(1):31-44.
10. Wang J, Barbuskaite D, Tozzi M et al. Proton Pump Inhibitors Inhibit Pancreatic Secretion: Role of Gastric and Non-Gastric H+/K+-ATPases. *PLoS One* 2015. 18;10(5):e0126432.
11. Singh VV, Toskes PP. Small Bowel Bacterial Overgrowth: Presentation, Diagnosis, and Treatment. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2004;7:19-28.
12. Forsmark CE. Chronic pancreatitis. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/ Diagnosis/Management. Saunders Elsevier 2010. 985-1015.
13. Tringali A, Boskoski I, Costamagna G. The role of endoscopy in the therapy of chronic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2008;22:145-65.
14. Dítě P, Růžička M, Zbořil V, Novotný I. A prospective, randomized trial comparing endoscopic and surgical therapy for chronic pancreatitis. *Endoscopy.* 2003;35:553-8.
15. Špičák J, Kojecký V. Invazivní léčba chronické pankreatitidy je indikována pro bolesti, podezření na malignitu, biliární obstrukci, leak a cystoid. *Gastroent Hepatol.* 2013;67:151-153.
16. Mihaljevic AL, Kleeff J, Friess H et al. Surgical approaches to chronic pancreatitis. See comment in PubMed Commons below *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2008;22:167-81.
17. Wu Q, Zhang M, Qin Y. Systematic review and meta-analysis of islet auto-transplantation after total pancreatectomy in chronic pancreatitis patients. *Endocr J.* 2015;62:227-34.
18. Yang CJ, Bliss LA, Schapira EF et al. Systematic review of early surgery for chronic pancreatitis: impact on pain, pancreatic function, and re-intervention. *J Gastrointest Surg.* 2014;18:1863-9.
19. Michaels AJ, Draganov PV. Endoscopic ultrasonography guided celiac plexus neurolysis and celiac plexus block in the management of pain due to pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2007;13:3575-80.
20. Buscher HC, Schipper EE, Wilder-Smith OH et al. Limited effect of thoracoscopic splanchnicectomy in the treatment of severe chronic pancreatitis pain: a prospective long-term analysis of 75 cases. See comment in PubMed Commons below *Surgery.* 2008;143:715-22.
21. Andrén-Sandberg A, Dervenis C. Pancreatic pseudocysts in the 21st century. Part I: classification, pathophysiology, anatomic considerations and treatment. *JOP.* 2004;5(1):8-24.
22. Kawakami H, Itoi T, Sakamoto N. Endoscopic Ultrasound-Guided Transluminal Drainage for Peripancreatic Fluid Collections: Where Are We Now? *Gut Liver* 2014; 8:341–355.
23. Balachandra S, Siriwardena AK. Systematic appraisal of the management of the major vascular complications of pancreatitis. *Am J Surg.* 2005;190(3):489-95.
24. Draganov P, Hoffman B, Marsh W et al. Long-term outcome in patients with benign biliary strictures treated endoscopically with multiple stents. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 680-686.
25. Gardner A, Gardner G, Feller E. Severe colonic complications of pancreatic disease. *J Clin Gastroenterol.* 2003;37(3):258-62.
26. Morgan KA, Adams DB. Management of internal and external pancreatic fistulas. *Surg Clin North Am.* 2007;87:1503-13.
27. Catanzaro A, Richardson S, Veloso H, et al: Long-term follow-up of patients with clinically indeterminate suspicion of pancreatic cancer and normal EUS. *Gastrointest Endosc* 2003;58:836-40.
28. Chowdhury RS, Forsmark CE, Davis RH et al. Prevalence of gastroparesis in patients with small duct chronic pancreatitis. *Pancreas.* 2003;26:235-8.

2.2.3. Karcinogeneze v terénu chronické pankreatitidy

Vyšší riziko rozvoje nádorového bujení v terénu chronického zánětu je známo již dlouhou dobu a bylo popsáno na řadě neoplázií nejen gastrointestinálního traktu. Podobný vztah lze zaznamenat i v případě ChP a PC, jak mimo řady jiných studií prokázalo sledování kohorty našich pacientů s ChP. V průběhu 14 let dispenzarizace 223 pacientů s ChP byl PC zachycen u 13 pacientů (t.j. 5,8 %). U dalších 4 pacientů byly diagnostikovány extrapancreatické gastrointestinální malignity (3x karcinom žaludku a 1x karcinom jícnu). Většina případů PC (8 ze 13) byla zjištěna po více než 5 letech dispenzarizace pro ChP (průměrně po 6,2 letech). Vzhledem k výše uvedenému riziku rozvoje pankreatických i extrapancreatických malignit je systematická dispenzarizace pacientů s ChP nutná. V 73,1 % souvisela ChP s nadměrnou konzumací alkoholu a většina pacientů s diagnostikovaným PC (10 ze 13) patřila právě do této skupiny. Všichni pacienti, u kterých došlo v průběhu sledování k rozvoji PC, dlouhodobě kouřili více než 10 cigaret denně. Výše uvedené výsledky podporují teorii, že kouření akceleruje progresi ChP a je významným rizikovým faktorem rozvoje PC. Zmíněná data byla v detailech publikována v několika níže uvedených pracích.

Dítě P, Novotný I, Přecechtělová M, Růžička M, Žáková A, Hermanová M, Trna J, Nechutová H. Incidence of pancreatic carcinoma in patients with chronic pancreatitis. Hepatogastroenterology. 2010;57(101):957-60.

IF 0,677. Citováno 6x ve Web of Science.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 10 % - klinické vyšetřování pacientů, sběr a analýza dat)

Dítě P, Hermanová M, Trna J et al. The role of chronic inflammation: chronic pancreatitis as a risk factor of pancreatic cancer. Dig Dis. 2012;30(3):277-83.

IF 2,725. Citováno 18x ve Web of Science.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 20 % - klinické vyšetřování pacientů, vyhledávání a analýza literatury, sběr a analýza dat)

Incidence of Pancreatic Carcinoma in Patients with Chronic Pancreatitis

Petr Dítě¹, Ivo Novotný¹, Marie Přecechtělová¹, Miloš Růžička², Anna Žáková²,
Markéta Hermanová³, Jan Trnka³, Hana Nechutová³

¹Department of Internal Medicine Hepatogastroenterology, Univ. Hospital and Med. Faculty Brno, Czech Republic; ²Department of Surgery, Sheik Kalifa Medical City, Abu Dhabi, UAE,

³Department of Pathology, Univ. St. Anne Hospital, Brno, Czech Republic

Corresponding Author: prof. Petr Dítě, M.D., D.Sc., Department of Internal Medicine Hepatogastroenterology, Univ. Hospital, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic
Tel: +420532233500, Fax: +420532233254, E-mail: pdite@med.muni.cz

ABSTRACT

Background/Aims: Pancreatic carcinoma belongs to the area of conditions with late diagnosis and there is no effective screening method. One possible approach to diagnosing so-called early adenocarcinoma, therefore, lies in the identification and systematic examination of individuals in risk for this condition.

Methodology: Between 1992 and 2005 we systematically observed 223 individuals diagnosed with chronic pancreatitis. In this 14-year period we performed classical biochemical tests, endoscopic ultrasound, CT scans and ERCP, we asked about the number of cigarettes smoked per year and classified individuals consuming regularly more than 80 g of alcohol per day for 5 years for men and 50 g of alcohol per day for 5 years for women as having the alcoholic form of chronic pancreatitis. The remaining patients were classified according to TIGARO classification.

Results: Alcohol-related etiology was detected in 73.1 % of patients, 21.5 % had the chronic obstructive form and only 5.4 % were classified as idiopathic pancreatitis.

Pancreatic carcinoma was detected in 13 patients with chronic pancreatitis (5.8 %), three patients were diagnosed with gastric carcinoma and one with esophageal carcinoma. Pancreatic malignancy developed mainly in patients with the alcoholic form of pancreatitis (4.5 %). In the 14 year period 11 subjects died, out of which eight cases were related to pancreatic carcinoma.

Conclusion: Pancreatic and extra-pancreatic cancer localized in the gastrointestinal tract are among the serious complications of chronic non-hereditary pancreatitis. Systematic observation of patients with chronic pancreatitis must be performed with the aim of early diagnosis of pancreatic, but not only pancreatic malignancies.

KEY WORDS:
Chronic pancreatitis; Pancreatic carcinoma

INTRODUCTION

Pancreatic carcinoma belongs among diseases characterised by unsatisfactory prognosis due to late diagnosis. The only effective therapeutic option is surgical removal of the tumor but at the time of diagnosis the proportion of resectable tumors does not exceed 30 %.

Since there is no effective screening method for pancreatic carcinoma it is important to note that certain originally benign conditions and syndromes represent risk factors on the basis of which pancreatic carcinoma can develop.

A number of studies have shown that such conditions include not only hereditary pancreatitis (7,13) but also non-hereditary chronic pancreatitis (1,2,5,6). The incidence of chronic pancreatitis in the Czech Republic is 7.9 newly diagnosed cases per 100 000 inhabitants per calendar year. Most common etiology is alcohol-related and patients are mostly male (3).

During the period 1992-2003, we systematically followed individuals diagnosed with chronic pancreatitis using clinical and laboratory assessment and

evaluated the incidence of pancreatic carcinoma in such individuals.

METHODOLOGY

A total of 223 patients with chronic pancreatitis have been followed for 14 years. In all these patients the diagnosis was made based on changed morphology of the gland as per diagnostic criteria as detected by computer tomography, endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, endoscopic ultrasound and based on histomorphology from bioptic material or by examination of a resected tissue sample.

From all patients enrolled in the study we collected data about smoking; patients were categorized as smokers if they smoked more than 10 cigarettes per day for at least 5 years. The group of chronic alcoholic form of chronic hepatitis included regular alcohol drinkers consuming a daily amount of 80 g for men and 50 g for women for at least 5 years. Patients were categorized based on etiology according to TIGARO classification (4), and during the study we recorded any surgical treatment incurred and in case of death the autopsy findings and cause of death.

TABLE 1 Characteristics of the Patients' Sample with Chronic Pancreatitis

	No	CAP	COP	CIP
Patient	223	163 (73.1%)	48 (21.5%)	12 (5.4%)
Sex male	148 (66.4%)	113	28	7
female	75 (33.6%)	50	20	5
Age at the time of diagnosis		51.8 ± 9.4	64.2 ± 6.1	52.3 ± 5.8
Follow-up time		7.8 ± 4.9	6.4 ± 5.3	5.8 ± 1.6
Smokers		104 (63.8%)	31 (64.5%)	5 (41.6 %)
Surgical treatment		81 (49.6%)	39 (81.2 %)	1 (8.3%)
Complications:				
calcifications		8 (53.9%)	4(8.3%)	0 (0.0%)
diabetes		81 (49.6%)	27 (52.1%)	4 (33.3%)
pain		158 (96.9%)	41 (85.4%)	6 (50.0%)
portal hypertension		23 (14.1%)	7 (14.6%)	1 (8.3%)
pancreatic malignancy		10 (6.1%)	2 (4.2%)	1 (8.3%)
all malignancies		13 (7.9%)	3 (6.2%)	1 (8.3%)

TABLE 2 Age at the Time of Pancreatic Cancer Diagnosis

	CAP	COP	CIP
AGE	53.6 ± 4.7	52.9 ± 4.2	45.0
No	10 pts	2 pts	1 pts

All patients with pancreatic cancer were smokers.

TABLE 3 Interval between the Diagnosis of Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer

	INTERVAL CH. P. - P. CANCER			
	<2 years	2-5 years	5-10 years	>10 years
No Pts	1	4	5	3

RESULTS

The characteristics of the study sample are shown in **Table 1**. The sample was dominated by patients with pancreatitis with alcoholic etiology (73.1%). Among patients with chronic alcoholic pancreatitis (CAP), the prevalence of regular and long-term smokers was 63.8 % with an average consumption of 14 cigarettes per day. In the majority of cases the subjects had the painful form of the disease with a range of complications. The most common complications in the CAP group were pancreatic calcification (53.9 %) and diabetes (49.6 %), in the chronic obstructive form (COP) group it was mostly diabetes (52.1 %). Patients with the idiopathic form (CIP) were mostly diagnosed with a late stage of disease which had been long asymptomatic, in particular as regards abdominal pain. There was no significant age difference between the individual subgroups of chronic pancreatitis.

Over the 14 years of observation of the population under study we diagnosed pancreatic carcinoma in a terrain of chronic pancreatitis in 13 individuals (5.8 %). The diagnosis of pancreatic carcinoma was made based on computer tomography, endoscopic ultrasound with targeted biopsy or by histological examination of resected tissue. Gastrointestinal or pancreatic malignancy was found in 17 individuals (7.6 %) from the study sample.

Patients with the idiopathic form of pancreatitis were negative for CFTR mutations and genetic markers of hereditary pancreatitis. One patient was diagnosed with the autoimmune form of chronic pancreatitis. In these patients EUS pancreatic biopsy was negative, therapy with steroids normalized biochemical parameters, dyspeptic symptoms disappeared. 9 months after the diagnosis of autoimmune pancreatitis the patients returned with abdominal pain, and in the region off pancreatic focal lesion was found. In pancreatic histology pancreatic cancer was verified.

Probably in the time of diagnosis of the autoimmune pancreatitis the pancreatic cancer was presented.

All diagnosis of pancreatic cancer were done by histology (EUS biopsy pancreatic specimens during surgical resection or autopsy).

The interval between diagnosis of chronic pancreatitis and diagnosis of pancreatic carcinoma was 2-11 years. Of the 13 individuals with pancreatic carcinoma, all were smokers with average consumption of more than 10 cigarettes per day.

The diagnosis of pancreatic cancer in patients with chronic pancreatitis was done with an interval between the diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer most frequently longer than 5 years (**Table 2**).

The mean age of most patients with the diagnosis of pancreatic cancer were over 50 years in the set of alcoholic and idiopathic pancreatitis as well. Patients with pancreatic cancer and the diagnosis of autoimmune pancreatitis were younger - 40 years old (**Table 3**).

Table 4 lists all tumors detected in the sample of individuals with chronic pancreatitis. Pancreatic carcinoma was diagnosed and histologically confirmed in 10 individuals with the alcoholic form of chronic pancreatitis (4.5%), in two patients with the obstructive form of pancreatitis and in one subject with the autoimmune form of the disease. As regards extra-pancreatic malignancies, over the observation period, we detected gastric malignancy in three individuals and esophageal cancer in one

TABLE 4 Pancreatic Carcinoma in a Terrain of Chronic Pancreatitis

DG	Total number	CAP		COP		CIP	
		MALE	FEMALE	MALE	FEMALE	MALE	FEMALE
Pancreatic carcinoma	13 (5.8%)	7	3	1	1	1	0
Gastric carcinoma	3 (1.3%)	2	0	1	0	0	0
Esophageal carcinoma	1 (0.4%)	1	0	0	0	0	0

individual. A total 11 persons (4.9 %) died of a malignancy (Table 5).

Out of 13 diagnosed cases of pancreatic carcinoma over the 14-year observation period, 8 individuals died (3.6 %). Out of these 8 subjects, 6 underwent surgical treatment and the mean survival period was 4.2 years (1.6-6.9). The incidence of extra-pancreatic cancer localized in the gastrointestinal tract in patients with chronic pancreatitis was significantly lower in our sample than in studies by Japanese authors (8.2 %), but it was comparable with findings of European authors.

DISCUSSION

Chronic pancreatitis is among the risk factors of pancreatic carcinoma (5,8,9,11). Probably the largest available study by Lowenfels from 1993 (12) showed a cumulative risk of pancreatic carcinoma in a terrain of chronic pancreatitis over a 10-year observation period to be 1.8 %. The incidence of pancreatic carcinoma in 170 subjects with chronic pancreatitis in a study by Kamisawa et al. (10) published in 2007 was 2.9 %, which agrees with older studies by Ammann et al. (19) and Lowenfels et al. (14). In our study we detected pancreatic carcinoma in 13 subjects (5.8 %) out of a sample of 223 individuals observed with diagnosed chronic pancreatitis. Out of these 13 individuals, 10 had pancreatitis of alcohol-related origin and the majority of them were men (7:3). The interval between diagnosis of chronic pancreatitis and diagnosis of pancreatic carcinoma ranged from 2-11 years with a mean of 6.2 years. All subjects with pancreatic carcinoma were smokers with a daily average of 10 cigarettes or more.

The frequency of pancreatic carcinoma in subjects with chronic pancreatitis found in our study was comparable with other studies performed with populations in Western Europe (11,15,16). Apart from pancreatic carcinoma, chronic pancreatitis is also accompanied by extra-pancreatic tumors. In the previously mentioned study by Lowenfels (14), extra-pancreatic cancer was detected in 7.9 % of subjects with chronic pancreatitis out of a sample of 2015. Studies published between 1987 and 2003, which address this problem area, report a wide spread of extra-pancreatic cancer frequency in subjects with chronic pancreatitis, from 5.2 to 12.2 % (17,18,19). If we only assess the frequency of gastrointestinal cancer in patients with chronic pancreatitis, the prevalence in European countries is 1.3 % (14,18) as opposed to a significant higher 8.2 % in Japan (10). In our study we detected extra-

TABLE 5 Causes of Death in Patients with Chronic Pancreatitis

Diagnosis	Mean age	Number of subjects
Pancreatic carcinoma	56.3 ± 5.1	8
Esophageal carcinoma	64	1
Gastric carcinoma	54.8 ± 6.2	2

pancreatic carcinoma in four patients with chronic pancreatitis (1.8%), out of which three patients had gastric carcinoma and one had esophageal carcinoma.

A total of 11 patients from our sample died over the observation period (4.9 %), eight died of pancreatic carcinoma, one of esophageal cancer and two of gastric carcinoma.

These findings imply that the frequency of pancreatic and extra-pancreatic carcinoma rises significantly in individuals with non-hereditary chronic pancreatitis.

The incidence of extra-pancreatic carcinomas is significantly higher in Japan than in Europe, which could be explained e.g. by genetic variation between European and Asian populations, external or diet factors. However, this does not change the requirement of observing patients with chronic pancreatitis especially with regard to the possibility of early diagnosis of both pancreatic and extra-pancreatic tumors of the gastrointestinal tract.

SUMMARY

Pancreatic carcinoma belongs to the area of conditions with late diagnosis and there is no effective screening method. One possible approach to diagnosing so-called early adenocarcinoma, therefore, lies in the identification and systematic examination of individuals in risk for this condition.

Between 1992 and 2005 we systematically observed 223 individuals diagnosed with chronic pancreatitis. In this 14-year period we performed classical biochemical tests, endoscopic ultrasound, CT scans and ERCP, we asked about the number of cigarettes smoked per year and classified individuals consuming regularly more than 80 g of alcohol per day for 5 years for men and 50 g of alcohol per day for 5 years for women as having the alcoholic form of chronic pancreatitis. The remaining patients were classified according to TIGARO classification.

Alcohol-related etiology was detected in 73.1 % of patients, 21.5 % had the chronic obstructive form and only 5.4 % were classified as idiopathic pancreatitis.

Pancreatic carcinoma was detected in 13 patients with chronic pancreatitis (5.8 %), three patients were diagnosed with gastric carcinoma and one with esophageal carcinoma. Pancreatic malignancy developed mainly in patients with the alcoholic form of pancreatitis (4.5 %). In the 14 year period 11 subjects died, out of which eight cases were related to pancreatic carcinoma.

Pancreatic and extra-pancreatic cancer localized in the gastrointestinal tract are among the serious

complications of chronic non-hereditary pancreatitis. Systematic observation of patients with chronic pancreatitis must be performed with the aim of early diagnosis of pancreatic, but not only pancreatic malignancies.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the grant NR/9255-03 from IGA MZ ČR.

REFERENCES

1. **Andrea-Sandberg A, Al Sharaf K, Halfstrom A:** Chronic pancreatitis as a precancerous disease. In: V. G. Dervenis: *Advances in pancreatic disease*. G. Tyjeme Verlag, 1996.
2. **Deixonne B, Pingnodel C, Chazelet C, et al:** Small carcinomas of the pancreas with associated chronic pancreatitis. s two case reports. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1989, 15, 3:265-270.
3. **Dítě, p., Starý K., Novotný J, et al:** The incidence of chronic pancreatitis in Czech Republic. *Europ. J. Gastroent. Hepatol.*, 2001, 13:749-750.
4. **Etamad B, Whitcomb DC:** Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 120:682-707.
5. **Ekbom A, Mc Laughlin JK, Karlsson BM, et al:** Pancreatitis and pancreatic cancer.: A population-based study. *J. Natl. Cancer Res. Ind.*, 1994, 86:625-627.
6. **Evans JD, Morton DG, Neoptolemos JP:** Chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Postgrad. Med. J.*, 1997, 73:543-548.
7. **Finch MD, Howes N, Ellis I, et al:** Hereditary pancreatitis and familial pancreatic cancer. *Digestion*, 1997, 58, 6:564-569.
8. **Gold EB, Cameron JL:** Chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.*, 1993, 828:1485-1486.
9. **Kalopathaki V, Tzonou A, Hsieh CS, et al:** Tobacco, ethanol, coffee, pancreatitis, diabetes mellitus and cholelithiasis as risk factor for pancreatic carcinoma. *Cancer Cause Kontrol*, 1993, 4:375-382.
10. **Kamisawa T, Tu Y, Egawa T, et al:** The incidence of pancreatic and extrapancreatic cancers in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Hepato-gastroenterology* 2007; 54:1579-1581.
11. **Karlson BM, Elholm A, Josefsson S, et al:** The risk of pancreatic cancer. Following pancreatitis: an association due to confounding? *Gastroenterology*, 1997, 113:587-592.
12. **Löwenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al:** Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. *International Pancreatitis study Group. N. Engl. J. Med.*, 1993, 828, 20:1433-1437.
13. **Löwenfels AB, Maisonneuve P, Di Magno EP, et al:** Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. *J. Nat. Cancer Ind.*, 1997, 89:442-446.
14. **Löwenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al:** Prognosis of chronic pancreatitis:an international multicenter study. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1467-1471.
15. **Malka D, Hammel P, Maire F, Rufat P, Madeira I, Penssione F, Lévy P, Ruszniewski P:** Risk of pancreatic adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *GUT* 2002, 51:849-852.
16. **Thuluvath PJ, Imperio D, Nair S, Cameron JL:** Chronic pancreatitis. Long-term pain relief with or without surgery, cancer risk, and mortality. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36:159-165.
17. **Rocca G, Gaia E, Iuliano R, et al:** Increased incidence of cancer in chronic pankreatitis, *J Clin Gastroenterol* 1987; 9:175-179.
18. **Hansen TH, Larsen M, Christensen E, et al:** Chronic pancreatitis and extrapancreatic cancer. A retrospective study among 181 patients with chronic pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1995; 18:235-239.
19. **Ammann RW, Knoblauch M, Mohr P, et al:** High incidence of extrapancreatic carcinoma in chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15:393-399.

The Role of Chronic Inflammation: Chronic Pancreatitis as a Risk Factor of Pancreatic Cancer

Petr Dítě^a Markéta Hermanová^b Jan Trna^c Ivo Novotný^d Miloš Růžička^f
Martin Liberda^e Alice Bártková^e

^aFaculty of Medicine, University of Ostrava, Ostrava, ^bDepartment of Pathology, St. Anne's University Hospital, ^cDepartment of Hepatogastroenterology, University Hospital Brno, and ^dInstitute of Oncology, Brno, ^eDepartment of Endoscopy, Hospital Valašské Meziříčí, Valašské Meziříčí, Czech Republic; ^fDepartment of Surgery, Sheik Kalifa Medical City, Abu Dhabi, United Arab Emirates

Key Words

Chronic pancreatitis · Pancreatic carcinoma · Chronic inflammation

Abstract

Pancreatic carcinoma is a condition with late diagnosis and one for which there is no effective screening method. One possible diagnostic approach of so-called early adenocarcinoma is the identification and systematic examination of individuals at risk for this condition. Between 1992 and 2005 we systematically observed 223 individuals diagnosed with chronic pancreatitis. In this 14-year period we performed classical biochemical tests, endoscopic ultrasound, CT scans and ERCP. We also asked about the number of cigarettes smoked per year and classified individuals consuming regularly more than 80 g of alcohol per day for 5 years for men and 50 g of alcohol per day for 5 years for women as having the alcoholic form of chronic pancreatitis. The remaining patients were classified according to the TIGARO classification. Alcohol-related etiology was detected in 73.1% of patients, 21.5% had the chronic obstructive form and only 5.4% were classified as idiopathic pancreatitis. Pancreatic carcinoma

was detected in 13 patients with chronic pancreatitis (5.8%), 3 patients were diagnosed with gastric carcinoma and 1 with esophageal carcinoma. Pancreatic malignancy developed mainly in patients with the alcoholic form of pancreatitis (4.5%). In the 14-year period 11 subjects died, out of which 8 cases were related to pancreatic carcinoma. Pancreatic and extrapancreatic cancer localized in the gastrointestinal tract are serious complications of chronic nonhereditary pancreatitis. Systematic observation of patients with chronic pancreatitis must be performed with the aim of early diagnosis of pancreatic malignancies (but also including other types).

Copyright © 2012 S. Karger AG, Basel

Introduction

Pancreatic carcinoma is a disease characterized by unsatisfactory prognosis due to late diagnosis. The only effective therapeutic option is surgical removal of the tumor; however, at the time of diagnosis the proportion of resectable tumors does not exceed 30%. Since there is no effective screening method for pancreatic carcinoma, it is important to note that certain originally benign condi-

KARGER

Fax +41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2012 S. Karger AG, Basel
0257-2753/12/0303-0277\$38.00/0

Accessible online at:
www.karger.com/ddi

Prof. Petr Dítě, MD, DSc
University Hospital Ostrava
17. Listopadu 1790
CZ-70852 Ostrava (Czech Republic)
Tel. +420 597 371 111, E-Mail pdite@gmail.cz

tions and syndromes represent risk factors on the basis of which pancreatic carcinoma can develop. The incidence of chronic pancreatitis in the Czech Republic is 7.9 newly diagnosed cases per 100,000 inhabitants per calendar year. The most common etiology is alcohol-related and patients are mostly male [1]. From 1992 to 2003 we systematically followed individuals diagnosed with chronic pancreatitis using clinical and laboratory assessment and evaluated the incidence of pancreatic carcinoma in such individuals.

A number of studies have shown that such conditions include not only hereditary pancreatitis [2, 3], but also nonhereditary chronic pancreatitis [4, 5]. Recent epidemiological studies have revealed an increased risk of pancreatic cancer in patients with chronic pancreatitis. Patients with sporadic chronic pancreatitis are 10–20 times more likely to develop pancreatic cancer compared to age-matched controls. The lifetime risk of developing pancreatic cancer in patients with sporadic chronic pancreatitis is estimated to be 1.8% after 10 years and 4% after 20 years [3, 4, 6].

Hereditary pancreatitis represents a rare disease, which accounts for less than 1% of all cases of chronic pancreatitis, and is caused by the mutation of the cationic trypsinogen (*PRSS 1*) gene. Hereditary pancreatitis is defined as an autosomal dominant disease with a penetrance of approximately 80%. This genetically based disorder is characterized by multiple episodes of acute pancreatitis and a high incidence of pancreatic cancer. Patients suffering from hereditary pancreatitis have an estimated 50- to 70-fold increased relative risk of pancreatic cancer [7]. Recent genetic studies revealed an association between chronic pancreatitis and the serine protease inhibitor Kazal type 1 (*SPINK1*, also called pancreatic secretory trypsin inhibitor; *PSTI*) gene, and the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene. Smoking increases the risk of pancreatic cancer in patients with both sporadic and hereditary chronic pancreatitis [8]. Smokers have a 2- to 3-fold risk of pancreatic cancer if compared to nonsmokers and the risk remains elevated up to two decades after cessation of smoking. Cigarette smoking is an independent risk factor in alcohol-associated and idiopathic pancreatitis, and was reported to accelerate the development and progression of chronic pancreatitis. Tobacco smoking induces chronic inflammation and accelerates the development and progression of chronic pancreatitis independent of etiology. Cigarette smoking is likely to contribute to pancreatic carcinogenesis via the activation of inflammatory response [9].

Characterizations and understanding of the molecular alterations that lead to the development of pancreatic cancer is therefore necessary and could impact on the outcome for patients at risk of pancreatic cancer or already suffering from this disease.

Pancreatic intraepithelial neoplasias (PanINs) are thought to be the most common morphologically distinct precursor lesions of ductal adenocarcinoma of the pancreas [10–12]. PanIN lesions were defined as neoplastic noninvasive epithelial proliferations in the small caliber pancreatic ducts, and were divided into three grades based on the degree of architectural and cytonuclear atypia revealed. Normal epithelium progresses into the PanIN-1A lesion, previously described as flat ductal hyperplasia (characterized as a flat lesion composed of tall columnar cells with basally located nuclei and supranuclear vacuole of mucin). PanIN-1B lesions, previously described as ductal papillary hyperplasia, are characterized by a papillary, micropapillary or basally pseudostratified architecture. Cytologically, the morphology is identical to PanIN-1A. The architecture of PanIN-2 is mostly papillary, rarely flat. The lesion shows mild-to-moderate cytonuclear atypia (formerly termed ductal papillary hyperplasia with atypia) and progresses to PanIN-3, previously severe ductal dysplasia, atypical hyperplasia or carcinoma in situ.

PanIN-3 lesions are thought to be at the highest risk of progressing to invasive carcinoma. The current accepted model of pancreatic cancer progression from normal cuboidal and low columnar ductal epithelium to pancreatic cancer includes the series of these PanIN lesions [13, 14]. Recent studies have repeatedly demonstrated this process of progression from normal epithelium to cancer through the series of PanINs as a result of a sequence of genetic aberrations. Increasing histologic grades of PanINs are associated with the accumulation of genetic alterations in cancer-related genes [15]. Activation of oncogenes and inactivation of the tumor suppressor genes play a key role in carcinogenesis of pancreatic cancer. Activating point mutations in codon 12 of the *K-ras* oncogene have been reported in 70–100% of pancreatic carcinomas studied [16, 17] and have also been demonstrated in PanIN lesions associated with invasive adenocarcinoma, suggesting true neoplastic origin of these lesions [18, 19]. Inactivation of tumor suppressor gene *p53* was reported in 50–75% of pancreatic adenocarcinomas. Loss of the function of the *CDKN2A* tumor suppressor gene, which encodes p16^{INK4a}, occurs in up to 95% of pancreatic adenocarcinoma [20, 21], and alterations of p16^{INK4a} were demonstrated in noninvasive precursor lesions [22].

Both chronic pancreatitis and pancreatic cancer are accompanied by fibrogenesis. Progressive replacement of pancreatic tissue with connective tissue results in an exocrine and endocrine insufficiency of the gland. In chronic pancreatitis, the dense fibrotic stroma contains inflammatory cells, proliferating myofibroblasts and cytokines.

The macrophages and other inflammatory cells are the main effectors of chronic inflammation and they initiate the process of fibrogenesis in chronic pancreatitis. These cells and mediators such as transforming growth factor- β 1, fibroblast growth factor- β , platelet-derived growth factor, tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-1 and IL-6 were shown to be responsible for the transformation of pancreatic stellate cells into the proliferating myofibroblasts [23, 24], which produce the proteins of extracellular matrix such as collagen type I, collagen type III and fibronectin. Also, expression of epidermal growth factor receptor was higher in tumor cells than in the pancreatic cancer stroma, suggesting a relationship between tumor stroma and adjacent structures of carcinoma.

Nuclear factor-kappa B (NF- κ B) represents an evolutionally conserved family of ubiquitously expressed transcription factors. Expression of NF- κ B is activated by various stimuli such as reactive oxygen intermediates, hypoxia, cytokines, bacterial or viral products, UV radiation, and many others. Some stimulators of NF- κ B activations, such as IL-1 and TNF- α , are upregulated by NF- κ B activation, suggesting an autoregulatory loop that can potentiate the inflammatory response.

Upregulation and constitutive activation of NF- κ B has been described in several human malignancies including malignancies of the gastrointestinal tract such as colorectal carcinoma and hepatocellular carcinoma [25]. Upregulation and constitutive activation of NF- κ B has been revealed in a number of different human pancreatic cancer cell lines (e.g. BxPC-3, PANC-1, MiaPaCa2) [26, 27]. NF- κ B was repeatedly shown to promote pancreatic cell growth via inhibition of apoptosis [26]. NF- κ B is activated in more than two thirds of human pancreatic cancers. Suppression of NF- κ B activity is followed by restoration of pancreatic cell kinetics, mainly by normalization of the suppressed apoptosis in pancreatic cancer [28].

NF- κ B is able to induce the expression of the mitogenic cyclin D1, a regulatory protein of cell cycle. Cyclin D1 overexpression occurs in up to 68% of pancreatic cancers, where it is associated with poor clinical outcome [29], and has also been described in premalignant ductal lesions. NF- κ B and IL-8 have been shown to be impli-

cated in increasing angiogenic potential of pancreatic cancer cells via upregulation of the proangiogenic vascular endothelial growth factor (VEGF) [30, 31]. Xiong et al. [31] showed that NF- κ B activity blockade significantly inhibited the *in vitro* and *in vivo* expressions of the major proangiogenic molecules VEGF and IL-8 as well as decreased tumor vascular formation, showing that the suppressed tumorigenicity by NF- κ B blockade is due to impaired angiogenic potential of the tumor cells.

Prostaglandin H₂ synthase – cyclooxygenase (COX) – is an enzyme which is involved in the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. Two COX isoforms, COX-1 and COX-2, have been identified to date. COX-1 is constitutively expressed in many tissues and is involved in prostaglandin synthesis under physiological conditions. COX-2 is not constitutively expressed under physiological conditions, but its expression is induced by various stimuli. Growth factors, cytokines (e.g. IL-1, TNF- α) and other mediators of inflammation are known inducers of COX-2 expression. Several reports have demonstrated a key role of COX-2 in pathological processes, such as inflammation and carcinogenesis. Increased expression of COX-2 has been observed in variety of tumors: in carcinomas of colon, lung, breast, esophagus, bladder and prostate [32]. Recent studies have repeatedly described an increased expression of COX-2 in pancreatic carcinomas. COX-2 has been demonstrated to inhibit apoptosis, promote cell proliferation and induce the expression of VEGF [33, 34].

The studies by of Albazaz et al. [35] and Maitra et al. [36] evaluated COX-2 expression in premalignant PanIN lesions of pancreatic resection specimens. Expression of COX-2 in PanIN lesions in chronic pancreatitis was not studied separately within these studies. They demonstrated the increased expression of COX-2 in PanINs if compared to expressions in normal ducts, and showed the significant correlation between the level of COX-2 expression and the severity of the PanIN lesion. A significant increase of COX-2 expression was shown between normal ducts and PanINs, as well as between low-grade (1A and 1B) and high-grade (2 and 3) PanINs. They supported the possible role of COX-2 in carcinogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma. It has been suggested that PanINs represent the possible link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer and that COX-2 may represent a possible therapeutic target for potential chemoprevention in patients with chronic pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma using selective COX-2 inhibitors [35–37].

The family of lipoxygenases (LOX) comprises four enzymes, 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX and 15-LOX, the nomenclature of which is dependent on their ability to insert oxygen at carbon 5, 8, 12 and 15, respectively, of the arachidonic acid molecules. It has been suggested that the 5-LOX pathway plays an important role in pancreatic carcinogenesis. 5-LOX overexpression was reported in a significant number of human pancreatic adenocarcinomas with intense immunostaining in cancer cells, and in ductal and islet cells in pancreatic tissues adjacent to the structures of adenocarcinomas. Strong immunostaining was also observed in a significant proportion of ductal cells of chronic pancreatitis specimens, but not in ducts of normal tissue obtained from multiorgan donors [38]. 5-LOX was found to be expressed in all grades of human pancreatic intraepithelial neoplastic lesions.

Nitric oxide (NO) is a free radical and an important mediator of inflammation and carcinogenesis [39, 40]. The NO synthases (NOS) are a group of enzymes responsible for the conversion of L-arginine and molecular oxygen to NO and L-citrulline. There are three isoforms of NOS. Neuronal NOS (nNOS or NOS1) and endothelial NOS (eNOS or NOS3) are expressed constitutively, and produce low amounts of NO involved in the regulation of some vascular functions and neurotransmission. Inducible NO synthase (iNOS or NOS2) uses oxidative stress of NO (a free radical) to be used by macrophages in immune defense [41]. However, iNOS is also expressed in certain

types of cancer cells. Its role in carcinogenesis is not fully understood, but sustained induction of iNOS in chronic inflammation may be mutagenic, through NO-mediated DNA damage or hindering DNA repair [42].

Patients and Methods

We included a set of 223 patients with chronic pancreatitis. These patients were followed for 14 years. We collected data about smoking from all patients enrolled in the study: patients were categorized as smokers if they smoked more than 10 cigarettes per day for at least 5 years. The group of chronic alcoholic form of chronic hepatitis included regular alcohol drinkers consuming a daily amount of 80 g for men and 50 g for women for at least 5 years. The patients were categorized based on etiology according to the TIGARO classification [43]. During the study we recorded any surgical treatment and in case of death the autopsy findings and cause of death.

Results

The characteristics of the study sample are shown in table 1. The sample was dominated by patients with pancreatitis with alcoholic etiology (73.1%). Among patients with chronic alcoholic pancreatitis the prevalence of regular and long-term smokers was 63.8%, with an average consumption of 14 cigarettes per day. In the majority of cases the subjects had the painful form of the disease with

Table 1. Characteristics of the chronic pancreatitis patient sample

	CAP	COP	CIP
Number of patients (total = 223)	163 (73.1%)	48 (21.5%)	12 (5.4%)
Sex			
Male (total = 148; 66.4%)	113	28	7
Female (total = 75; 33.6%)	50	20	5
Age at diagnosis	51.8 ± 9.4	64.2 ± 6.1	52.3 ± 5.8
Follow-up time	7.8 ± 4.9	6.4 ± 5.3	5.8 ± 1.6
Smokers	104 (63.8%)	31 (64.5%)	5 (41.6%)
Surgical treatment	81 (49.6%)	39 (81.2%)	1 (8.3%)
Complications			
Calcifications	8 (53.9%)	4 (8.3%)	0 (0.0%)
Diabetes	81 (49.6%)	27 (52.1%)	4 (33.3%)
Pain	158 (96.9%)	41 (85.4%)	6 (50.0%)
Portal hypertension	23 (14.1%)	7 (14.6%)	1 (8.3%)
Pancreatic malignancy	10 (6.1%)	2 (4.2%)	1 (8.3%)
All malignancies	13 (7.9%)	3 (6.2%)	1 (8.3%)

CAP = Chronic alcoholic pancreatitis; COP = chronic obstructive pancreatitis; CIP = chronic idiopathic pancreatitis.

a range of complications. The most common complications in the chronic alcoholic pancreatitis group were pancreatic calcification (53.9%) and diabetes (49.6%), in the chronic obstructive form group it was mostly diabetes (52.1%). Patients with the idiopathic form were mostly diagnosed with a late stage which had long been asymptomatic, particularly regarding abdominal pain. There was no significant age difference between the individual subgroups of chronic pancreatitis.

Over the 14 years of observation of the study population we diagnosed pancreatic carcinoma in a terrain of chronic pancreatitis in 13 individuals (5.8%). The diagnosis of pancreatic carcinoma was made based on CT, endoscopic ultrasound with targeted biopsy or by histological examination of resected tissue. Gastrointestinal or pancreatic malignancy was found in 17 individuals (7.6%) from the study sample.

Patients with the idiopathic form of pancreatitis were negative for CFTR mutations and genetic markers of he-

reditary pancreatitis. One patient was diagnosed with the autoimmune form of chronic pancreatitis. In this patient EUS pancreatic biopsy was negative, therapy with steroids normalized biochemical parameters and dyspeptic symptoms disappeared. Nine months after the diagnosis of autoimmune pancreatitis the patient returned with abdominal pain, and focal lesions were found in the pancreatic region. In pancreatic histology, pancreatic cancer was verified. The pancreatic cancer was probably present at the time autoimmune pancreatitis was diagnosed.

All diagnoses of pancreatic cancer were done by histology (EUS biopsy, pancreatic specimens during surgical resection or autopsy). The interval between diagnosis of chronic pancreatitis and diagnosis of pancreatic carcinoma was 2–11 years. Of the 13 individuals with pancreatic carcinoma, all were smokers with an average consumption of more than 10 cigarettes per day.

The diagnosis of pancreatic cancer in patients with chronic pancreatitis was made in patients with the most frequent interval between the diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer being longer than 5 years (table 2). The mean age of most patients with the diagnosis of pancreatic cancer was lower (in their 50's) in the set of alcoholic and idiopathic pancreatitis as well. The patient with pancreatic cancer and the diagnosis of autoimmune pancreatitis was younger (45 years; table 3).

Table 4 lists all of the tumors detected in the sample of individuals with chronic pancreatitis. Pancreatic carcinoma was diagnosed and histologically confirmed in 10 individuals with the alcoholic form of chronic pancreatitis (4.5%), in 2 patients with the obstructive form of pancreatitis and 1 subject with the autoimmune form of the disease. Regarding extrapancreatic malignancies, during the observation period we detected gastric malignancy in 3 individuals and esophageal cancer in 1 individual. A total 11 persons (4.9%) died of a malignancy (table 5).

Out of 13 diagnosed cases of pancreatic carcinoma over the 14-year observation period, 8 individuals died (3.6%). Of these 8 subjects, 6 underwent surgical treat-

Table 2. Interval between the diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer

	<2 years	2–5 years	5–10 years	>10 years
n	1	4	5	3

Table 3. Mean age at diagnosis of pancreatic cancer

	CAP	COP	CIP
Age	53.6 ± 4.7	52.9 ± 4.2	45.0
n	10	2	1

All patients with pancreatic cancer were smokers. CAP = Chronic alcoholic pancreatitis; COP = chronic obstructive pancreatitis; CIP = chronic idiopathic pancreatitis.

Table 4. Pancreatic carcinoma in a terrain of chronic pancreatitis

	Total number	CAP		COP		CIP	
		male	female	male	female	male	female
Pancreatic carcinoma	13 (5.8%)	7	3	1	1	1	0
Gastric carcinoma	3 (1.3%)	2	0	1	0	0	0
Esophageal carcinoma	1 (0.4%)	1	0	0	0	0	0

Table 5. Causes of death in patients with chronic pancreatitis

Diagnosis	n	Mean age
Pancreatic carcinoma	8	56.3 ± 5.1
Esophageal carcinoma	1	64
Gastric carcinoma	2	54.8 ± 6.2

ment and the mean survival was 4.2 years (1.6–6.9). The incidence of extrapancreatic cancer localized in the gastrointestinal tract in patients with chronic pancreatitis was significantly lower than in studies by Japanese authors (8.2%), but was comparable with findings by European authors.

Discussion

Chronic pancreatitis is among the risk factors of pancreatic carcinoma [44, 45]. The study by Löwenfels et al. [6] from 1993, which is probably the largest available, showed a cumulative risk of pancreatic carcinoma in a terrain of chronic pancreatitis over a 10-year observation period to be 1.8%. The incidence of pancreatic carcinoma in 170 subjects with chronic pancreatitis in a study by Kamisawa et al. [9] published in 2007 was 2.9%, which agrees with older studies by Ammann et al. [46] and Löwenfels et al. [10]. In our study we detected pancreatic carcinoma in 13 subjects (5.8%) out of a sample of 223 individuals observed with diagnosed chronic pancreatitis. Of these 13 individuals, 10 had pancreatitis of alcohol-related origin and the majority of them were men (7:3). The interval between diagnosis of chronic pancreatitis and diagnosis of pancreatic carcinoma ranged from 2–11 years with a mean of 6.2 years. All subjects with pancreatic carcinoma

were smokers with a daily average of 10 cigarettes or more.

The frequency of pancreatic carcinoma in subjects with chronic pancreatitis found in our study was comparable with other studies performed with populations in Western Europe [45, 47]. Apart from pancreatic carcinoma, chronic pancreatitis is also accompanied by extrapancreatic tumors. In the previously mentioned study by Löwenfels, extrapancreatic cancer was detected in 7.9% of subjects with chronic pancreatitis out of a sample of 2,015 [14]. Studies published between 1987 and 2003, which address this problem area, report widespread extra-pancreatic cancer frequency in subjects with chronic pancreatitis, from 5.2 to 12.2% [46, 48, 49]. If we only assess the frequency of gastrointestinal cancer in patients with chronic pancreatitis, the prevalence in European countries is 1.3% [10, 49] as opposed to a significantly higher 8.2% in Japan [9]. In our study we detected extrapancreatic carcinoma in 4 patients with chronic pancreatitis (1.8%): 3 had gastric carcinoma and 1 had esophageal carcinoma. A total of 11 patients from our sample died during the observation period (4.9%): 8 died of pancreatic carcinoma, 1 of esophageal cancer and 2 of gastric carcinoma. These findings imply that the frequency of pancreatic and extrapancreatic carcinoma rises significantly in individuals with nonhereditary chronic pancreatitis.

The incidence of extrapancreatic carcinomas is significantly higher in Japan than in Europe, which could be explained by, for example, genetic variation between European and Asian populations, and/or external or diet factors. However, this does not change the requirement of observing patients with chronic pancreatitis, especially with regard to the possibility of early diagnosis of both pancreatic and extrapancreatic tumors of the gastrointestinal tract.

References

- Ditě P, Starý K, Novotný J, et al: The incidence of chronic pancreatitis in Czech Republic. *Europ J Gastroent Hepatol* 2001;13:749–750.
- Finch MD, Howes N, Ellis I, et al: Hereditary pancreatitis and familial pancreatic cancer. *Digestion* 1997;58:564–569.
- Löwenfels AB, Maisonneuve P, Di Magno EP, et al: Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *J Nat Cancer Inst* 1997;89:442–446.
- Evans JD, Morton DG, Neoptolemos JP: Chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Postgrad Med J* 1997;73:543–548.
- Ekhom A, Mc Laughlin JK, Karlsson BM, et al: Pancreatitis and pancreatic cancer: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:625–627.
- Löwenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al: Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993;328:1433–1437.
- Gold EB, Cameron JL: Chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *N Engl J Med* 1993;328:1485–1486.
- Kalopothaki V, Tzonou A, Hsieh CC, et al: Tobacco, ethanol, coffee, pancreatitis, diabetes mellitus and cholelithiasis as risk factors for pancreatic carcinoma. *Cancer Causes Control* 1993;4:375–382.
- Kamisawa T, Tu Y, Egawa T, et al: The incidence of pancreatic and extrapancreatic cancers in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2007;54:1579–1581.

- 10 Löwenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al: Prognosis of chronic pancreatitis: an international multicenter study. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1467-1471.
- 11 Maitra A, Fukushima N, Takaori K, Hruban RH: Precursors to invasive pancreatic cancer. *Adv Anat Pathol* 2005;12:81-91.
- 12 Biankin AV, Kench JG, Dijkman FP, Biankin SA, Henshall SM: Molecular pathogenesis of precursor lesions of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pathology* 2003;35:14-24.
- 13 Hruban RH, Wilentz RE, Kern SE: Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am J Pathol* 2000;156:1821-1825.
- 14 Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, Kern SE, Klimstra DS, Kloppel G, Longnecker DS, Luttges J, Offerhaus GJ: Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol* 2001;25:579-586.
- 15 Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, et al: The genetic basis of human cancer; in Vogelstein B, Kinzler KW (eds): *Pancreatic Cancer*. New York, McGraw-Hill, 1996, pp 603-613.
- 16 Hruban RH, van Mansfeld AD, Offerhaus GJ, van Weering DH, Allison DC, Goodman SN, Kensler TW, Bose KK, Cameron JL, Bos JL: K-ras oncogene activation in adenocarcinomas of the human pancreas: a study of 82 carcinomas using a combination of mutant-enriched polymerase chain reaction analysis and allele-specific oligonucleotide hybridization. *Am J Pathol* 1993;143:545-554.
- 17 Tada M, Omata M, Ohto M: Clinical application of ras gene mutation for diagnosis of pancreatic adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1991;100:233-238.
- 18 Lemoine NR, Jain S, Hughes CM, Staddon SL, Mailet B, Hall PA, Kloppel G: Ki-ras oncogene activation in preinvasive pancreatic cancer. *Gastroenterology* 1992;102:230-236.
- 19 Luttges J, Diederichs A, Menke MA, Vogel I, Kremer B, Kloppel G: Ductal lesions in patients with chronic pancreatitis show K-ras mutations in a frequency similar to that in the normal pancreas and lack nuclear immunoreactivity for p53. *Cancer* 2000;88:2495-2504.
- 20 Moskaluk CA, Hruban RH, Kern SE: p16 and K-ras gene mutations in the intraductal precursors of human pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 1997;57:2140-2143.
- 21 Schutte M, Hruban RH, Geradts J, Maynard R, Hilgers W, Rabindran SK, Moskaluk CA, Hahn SA, Schwarte-Waldhoff I, Schmiegel W, Boylin SB, Kern SE, Herman JG: Abrogation of the Rb/p16 tumor suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas. *Cancer Res* 1997;57:3126-3130.
- 22 Hustinx SR, Leoni LM, Yeo CJ, Brown PN, Goggins M, Kern SE, Hruban RH, Maitra A: Concordant loss of MTAP and p16/CDKN2A expression in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence of homozygous deletions in a noninvasive precursor lesion. *Mod Pathol* 2005;18:959-963.
- 23 Detlefsen S, Sapos B, Feyerabend B, Kloppel G: Fibrogenesis in alcoholic chronic pancreatitis: the role of tissue necrosis, macrophages, myofibroblasts and cytokines. *Mod Pathol* 2006;19:1019-1026.
- 24 Jaster R: Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Mol Cancer* 2004;3:26.
- 25 Rayet B, Gelinas C: Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 1999;18:6938-6947.
- 26 Liptay C, Weber CK, Ludwig L, Wagner M, Adler G, Schmidt RM: Mitogenic and anti-apoptotic role of constitutive NF-kappaB/Rel activity in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2003;105:735-746.
- 27 Wang W, Abbruzzese JL, Evans DB, Larry L, Cleary KR, Chiao PJ: The nuclear factor-kappa B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1999;5:119-127.
- 28 Zhang Z, Rigas B: NF-kappaB, inflammation and pancreatic carcinogenesis: NF-kappaB as a chemoprevention target. *Int J Oncol* 2006;29:185-192.
- 29 Gansauge S, Gansauge F, Ramadan M, Stobbe H, Rau B, Harada N, Beger HG: Overexpression of cyclin D1 in human pancreatic carcinoma is associated with poor prognosis. *Cancer Res* 1997;57:1634-1637.
- 30 Xie K: Interleukin-8 and human cancer biology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001;12:375-391.
- 31 Xiong Q, Abbruzzese JL, Lin E, Wang L, Zheng L, Xie K: NF-kB activity blockade impairs the angiogenic potential of human pancreatic cancer cells. *Int J Cancer* 2004;108:181-188.
- 32 Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, Weksler BB, Subbaramaiah K: Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol* 2001;2:544-551.
- 33 Chu J, Lloyd FL, Trifan OC, Knapp B, Rizzo MT: Potential involvement of cyclooxygenase-2 pathway in the regulation of tumor associated angiogenesis and growth in pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2003;2:1-7.
- 34 Kong G, Kim EK, Kim WS, Lee KT, Lee YW, Lee JK, Paik SW, Rhee JC: Role of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:914-921.
- 35 Albazaz R, Verbeke CS, Rahman SH, McMahon MJ: Cyclooxygenase-2 expression associated with severity of PanIN lesions: a possible link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology* 2005;5:361-369.
- 36 Maitra A, Ashfaq R, Gunn CR, Rahman A, Yeo CJ, Sohn TA, Cameron JL, Hruban RH, Wilentz RE: Cyclooxygenase 2 expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2002;118:194-201.
- 37 Hermanova M, Trna J, Nenutil R, Dite P, Kala Z: Expression of COX-2 is associated with accumulation of p53 in pancreatic cancer: analysis of COX-2 and p53 expression in premalignant and malignant ductal pancreatic lesions. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008;20:732-739.
- 38 Hennig R, Ding XZ, Tong WG, Schneider MB, Standop J, Friess H, Buchler MW, Pour PM, Adrian TE: 5-Lipoxygenase and leukotriene B(4) receptor are expressed in human pancreatic cancer but not in pancreatic ducts in normal tissue. *Am J Pathol* 2002;161:421-428.
- 39 Jaiswal M, LaRusso NF, Shapiro RA, Billiar TR, Gores GJ: Nitric oxide-mediated inhibition of DNA repair potentiates oxidative DNA damage in cholangiocytes. *Gastroenterology* 2001;120:190-199.
- 40 Jenkins DC, Charles IG, Thomsen LL, Moss DW, Holmes LS, Baylis SA, Rhodes P, Westmore K, Epton PC, Moncada S: Roles of nitric oxide in tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4392-4396.
- 41 Wu K: Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase. *Adv Pharmacol* 1995;33:179-207.
- 42 Lala PK, Chakraborty C: Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol* 2001;2:149-156.
- 43 Etemad B, Whitcomb DC: Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001;120:682-707.
- 44 Karlson BM, Elbolm A, Josefsson S, et al: The risk of pancreatic cancer. Following pancreatitis: an association due to confounding? *Gastroenterology* 1997;113:587-592.
- 45 Malka D, Hammel P, Maire F, Rufat P, Madeira I, Pensione F, Lévy P, Ruzsniowski P: Risk of pancreatic adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut* 2002;51:849-852.
- 46 Ammann RW, Knoblauch M, Mohr P, et al: High incidence of extrapancreatic carcinoma in chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980;15:393-399.
- 47 Thuluvath PJ, Imperio D, Nair S, Cameron JL: Chronic pancreatitis. Long-term pain relief with or without surgery, cancer risk, and mortality. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:159-165.
- 48 Rocca G, Gaia E, Iuliano R, et al: Increased incidence of cancer in chronic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 1987;9:175-179.
- 49 Hansen TH, Larsen M, Christensen E, et al: Chronic pancreatitis and extrapancreatic cancer. A retrospective study among 181 patients with chronic pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1995;18:235-239.

2.2.4. Význam oxidativního stresu u chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu

Dle současných epidemiologických studií mají pacienti s ChP signifikantně zvýšené riziko rozvoje PC ve srovnání s obecnou populací (39). V případě pacientů se sporadickou formou ChP je toto riziko zvýšené 10 až 20 krát v porovnání s osobami odpovídajícího věku bez ChP. Riziko rozvoje tumoru pankreatu v průběhu života pacienta se sporadickou formou ChP je 1,8 % po 10 letech a 4 % po 20 letech trvání choroby (40,41).

Hereditární pankreatitida představuje vzácnou chorobu tvořící méně než 1 % všech případů ChP. Je způsobena mutací v genu pro kationický trypsinogen (PRSS 1). Hereditární pankreatitida je definována jako autosomálně dominantní choroba s penetrancí přibližně 80 %. Tato geneticky podmíněná choroba je charakterizovaná opakovanými epizodami akutní pankreatitidy a vysokou incidencí tumoru pankreatu. Pacienti trpící hereditární pankreatitidou mají přibližně 50 až 80 krát zvýšené relativní riziko rozvoje karcinomu pankreatu (42).

Recentní genetické studie odhalily také souvislost mezi ChP a genem kódujícím inhibitor serinových proteáz Kazal typ 1 (SPINK1, též zvaný pancreatic secretory trypsin inhibitor PST1) a genem pro cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). Vzhledem k tomu, že asociace v těchto případech není tak jednoznačná jako v případě mutace v PRSS 1, jsou pacienti s mutací v SPINK1 či CFTR genech dosud řazeni do skupiny idiopatických ChP a nebylo jednoznačně prokázáno vyšší riziko rozvoje PC než u sporadické ChP (43).

Kouření zvyšuje riziko rozvoje karcinomu pankreatu u pacientů jak se sporadickou, tak hereditární formou ChP 2 až 3 krát v porovnání s nekuřáky a riziko zůstává zvýšené po dobu 20 let nekuřáctví (44). Kouření cigaret představuje nezávislý rizikový faktor též pro rozvoj alkoholické i idiopatické formy ChP a předpokládá se, že akceleruje progresi této choroby indukci chronického zánětu. Kouření cigaret se pravděpodobně podílí na karcinogenezi aktivací zánětlivé odpovědi (45).

Přítomnost chronického zánětu je spojena s produkcí volných kyslíkových radikálů, tvorbou cytokinů a zvýšenou tvorbou prozánětlivých transkripčních faktorů. Podobné mediátory signálních drah zánětlivé odpovědi byly opakovaně prokázány ve tkáních ChP a PC.

Nuklear factor kappa B (NF- κ B), cyklooxygenáza 2 (COX-2), 5-lipooxygenáza (5-LOX), interleukin-8 (IL-8) a další faktory se podílejí na genetickém poškození, podporují buněčnou proliferaci, inhibují apoptózu buněk pankreatu a představují pojítka mezi chronickým zánětem a nádorovým bujením (40).

Zvýšení hladiny markerů oxidativního stresu v séru pacientů sledovaných s ChP bylo prokázáno i naší níže uvedenou studií. Analyzována byla séra 105 pacientů s ChP a 27 zdravých kontrol s cílem stanovit hladiny degradačních produktů peroxidace lipidů (považovány za markery oxidativního stresu), nitritů (finální produkty metabolismu oxidu dusnatého – významného volného radikálu) a celkové antioxidační kapacity séra. U pacientů s ChP jsme ve shodě s dalšími pracemi prokázali signifikantně vyšší hladiny degradačních produktů peroxidace lipidů a nitritů než u zdravých kontrol. Potvrdili jsme tak významně vyšší zatížení oxidativním stresem u pacientů s ChP, který se může podílet na iniciaci a progresi zánětlivých změn ve tkáni pankreatu vedoucích ve svém důsledku až ke vzniku nádorového bujení. Z ne zcela jasných důvodů jsme na rozdíl od jiných prací neprokázali signifikantní rozdíl v celkové antioxidační kapacitě mezi nemocnými a zdravými kontrolami. Celkově lze však na základě výše uvedeného doporučit používání antioxidačních směsí u pacientů s ChP, které mohou i dle některých klinických studií zpomalit progresi onemocnění a pozitivně ovlivnit potíže pacientů.

Podborská M, Ševčíková A, Trna J et al. Increased markers of oxidative stress in plasma of patients with chronic pancreatitis. Neuro Endocrinol Lett. 2009;30 Suppl 1:116-20.

IF 1,047. Citováno 10x ve Web of Science.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 20 % - koncept, klinické vyšetřování pacientů, sběr a analýza dat)

Increased markers of oxidative stress in plasma of patients with chronic pancreatitis

Martina PODBORSKA¹, Arona SEVCIKOVA², Jan TRNA², Petr DITE², Antonin LOJEK¹, Lukas KUBALA¹

¹ Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic.

² Department of Internal Medicine and Hepatogastroenterology, University Hospital and Masaryk University Brno, Czech Republic.

Correspondence to: Lukas Kubala PhD, Institute of Biophysics of the AS CR, Kralovopolska 135, 612 65 Brno, Czech Republic, PHONE: + 420-541 517 117, FAX: + 420- 541 211 293, E-MAIL: kublal@ibp.cz

Submitted: 2009-07-15 Accepted: 2009-08-24 Published online: 2009-11-10

Key words: chronic pancreatitis; lipid peroxidation; nitrites; total antioxidant capacity.

Neuroendocrinol Lett 2009; 30(Suppl1): 116-120 PMID:20027156 NEL300709A19 ©2009NeuroendocrinologyLetters•www.nel.edu

Abstract

OBJECTIVES: Chronic pancreatitis (CP) is a heterogeneous disease defined as chronic inflammatory changes of the pancreatic tissue caused by variety of aetiologies. Oxidative stress accompanying the inflammatory processes has been suggested as an important factor contributing to CP development. The aim of this study was to determine levels of lipid peroxidation products malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxynonenal (4-HNE), together with nitrites and the total antioxidant capacity in the plasma of patients with CP and control subjects.

DESIGN: One hundred and five patients with chronic pancreatitis and twenty seven healthy controls were included into this study. Levels of MDA and 4-HNE were analyzed using high-performance liquid chromatography. The total antioxidant capacity of plasma against peroxyl radicals was evaluated using chemiluminescent determination. Nitrites were determined using Griess reaction. Biochemical and haematological parameters were measured by standard methods.

RESULTS: The plasma levels of both MDA and 4-HNE, together with the plasma levels of nitrites, were significantly higher in CP patients, compared to healthy controls. The total antioxidant capacity did not differ significantly. Biochemical parameters were in the normal range. The MDA and 4-HNE levels correlated positively with the levels of high-density lipoprotein cholesterol. Nitrite levels correlated positively with C-reactive protein, total white blood cells, and triglycerides.

CONCLUSION: The significantly increased plasma levels of MDA, 4-HNE, and nitrites indicate that oxidative stress is present in patients with CP and that it may play a role in initiation and maintenance of inflammation within the pancreatic tissue in CP patients.

INTRODUCTION

Chronic pancreatitis (CP) is a heterogeneous disease defined as a chronic inflammatory disorder of the pancreas with varied aetiologies. CP leads to morphologic changes characterized by progressive, irreversible destruction of pancreatic tissue with fibrous replacement of the parenchyma

resulting in progressive exocrine and endocrine pancreatic insufficiency (Dite *et al.* 2008; Schoenberg *et al.* 1995). Although most cases of CP have been attributed to alcohol abuse or a genetic predisposition, other hypotheses concerning the disease's origin and especially its progression origin have been proposed, including the contribution of reactive oxygen species (ROS). ROS are generated

Abbreviations & units

CP	- chronic pancreatitis
DNPH	- 2,4-dinitrophenylhydrazine
HDL	- high-density lipoprotein
4-HNE	- 4-hydroxynonenal
HPLC-DAD	- high-performance liquid chromatography with Diode-array detector
LDL	- low-density lipoprotein
MDA	- malondialdehyde
PBS	- phosphate buffer solution
S.E.M.	- standard error of the mean
SPE	- solid phase extraction
TRAP	- total peroxy radical-trapping antioxidant parameter

during endogenous oxidative stress or chemical stress caused by environmental or lifestyle-related xenobiotics (Bhardwaj *et al.* 2009; Schoenberg *et al.* 1995; Verlaan *et al.* 2006). ROS are believed to be capable of inducing the damage of pancreatic acinar cells by initiating auto-digestion.

The inflammatory process is associated with increased production of oxidants, mostly leading to concomitant local or generalized oxidative stress (Schoenberg *et al.* 1995). All types of molecules in the organism, including lipids, are under attack from oxidants. Thus, one of the main characteristic features of inflammation is the induction of lipid peroxidation and the concomitant formation of lipid oxidation products. A wide range of evidence suggests the importance of lipid peroxidation in the pathology of various inflammatory diseases (Kubala *et al.* 2002; Lojek *et al.* 1997). The most commonly detected products of lipid peroxidation in plasma are malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxynonenal (4-HNE), which are widely used as markers of a systemic degree of lipid peroxidation and systemic oxidative stress overall. Both MDA, a three-carbon low molecular weight aldehyde, and 4-HNE, an α,β -unsaturated hydroxyalkenal, are known to significantly contribute to the pathology of oxidative stress through their reactions with other biomolecules.

One of the key free radical molecules overproduced during oxidative stress associated with inflammation is NO. NO is a short-lived radical playing a key role in vascular signalling; however, at the same time, significantly contributing to the oxidative damage of biomolecules under inflammatory conditions. Because NO is a free radical gas, it reacts rapidly with O₂ and superoxide anion radical, yielding highly reactive NO₂, peroxy-nitrite (ONOO⁻), or nitrites and nitrates (Papezikova *et al.* 2008; Pekarova *et al.* 2009). Due to a short half-life, it is not possible to detect NO directly in plasma; and nitrites, as one of the final products of NO metabolism, are routinely determined to measure systemic NO production.

Thus, the main aim of this study was to determine plasma levels of lipid peroxidation products MDA and 4-HNE, together with the plasma levels of nitrites, the total antioxidant capacity, as well as selected commonly used biochemical and haematological parameters in

patients with CP. The results obtained from the study group were compared with levels measured in plasma of healthy controls.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals. Water G CHROMASOLV[®] (for gradient elution), methanol G CHROMASOLV[®] (for gradient elution, ACS), and acetonitrile CHROMASOLV[®] (for HPLC, gradient grade) were purchased from Sigma-Aldrich Ltd. (USA). Solid Phase Extraction (SPE; DSC-C18; Discovery[®], 1 ml Tube, 50 mg) tubes were obtained from Supelco (Sigma-Aldrich Ltd., USA). Trichloroacetic acid (TCA) was from Fluka - Biochemika (Sigma-Aldrich Ltd., USA). 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) and potassium dihydrogen-phosphate (KH₂PO₄) were purchased from Lachema (Czech Republic) and 35% hydrochloric acid (HCl) from Penta (Czech Republic). All reagents and chemicals were of analytical grade of the highest purity. All organic solvents were HPLC grade. Phosphate buffer solution (PBS), 6-hydroxy-2-,5,7,8-tetramethyl-chrome-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2-azobis(2-aminopropane)-hydrochloride (ABAP), 3-aminophtalhydrazide (Luminol) and Griess reagent were purchased from Sigma-Aldrich Ltd. (USA).

Patient characteristics. The study included 105 subjects recruited from the patients attending The Department of Internal Medicine and Hepatogastroenterology and 27 healthy individuals. The patient group consisted of 36 females and 69 males with average age of 47.6 ± 14.7 years. The aetiology of chronic pancreatitis was idiopathic (85 cases), hereditary (1 case) or alcoholic (19 cases). Endosonography was performed in all patients and the grading degree of chronic pancreatitis was assessed as mild (68 cases) or severe (37 cases). The control group consisted of 12 females and 15 males with average age of 42.3 ± 9.7 years. The study was approved by the Institutional Ethical Boards at Faculty Hospital, Brno, Czech Republic and informed consent was obtained from all participants.

Plasma collection. Blood samples were collected into ethylenediaminetetraacetic acid tubes (Sarstedt, Germany) by venipuncture of cubital vein. Blood samples were immediately centrifuged (5 000 g, room temperature, 10 min) and plasma was removed and aliquotted into storage vials. The vials were snap frozen in liquid nitrogen and then stored at -80 °C until further analyzed.

HPLC analyses. For derivatization, 100 µl or 200 µl of DNPH reagent (5 mM solution in 2 M HCl) was added to 600 µl of supernatant for MDA-DNPH products or to 1 000 µl of supernatant for 4-HNE-DNPH products. This reaction mixture was incubated for 60 min at room temperature, and protected from light. 4-HNE-DNPH adducts were extracted with SPE tubes - DSC-C18 that were conditioned with 1 ml of methanol, then with 1 ml 25 mM KH₂PO₄ for adjustment acidic pH 3 of the sample matrix. Concentrated 4-HNE-DNPH

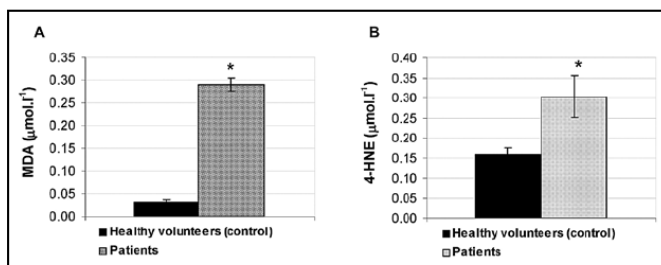


Figure 1. Plasma levels of selected markers of oxidative stress and inflammation in patients with chronic pancreatitis: MDA (panel A) and 4-HNE (panel B). Values represent the mean \pm S.E.M. Symbol * shows significant difference compared to the control.

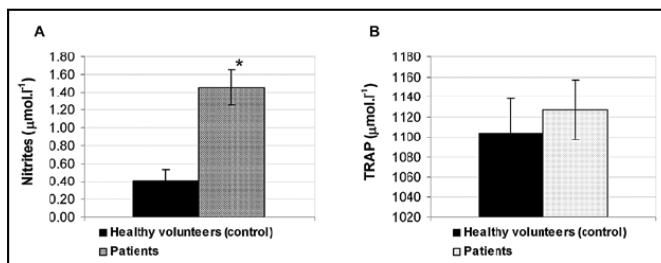


Figure 2. Plasma levels of selected markers of oxidative stress and inflammation in patients with chronic pancreatitis: nitrites (panel A) and TRAP (panel B). Values represent the mean \pm S.E.M. Symbol * shows significant difference compared to the control.

adducts were eluted with 300 μ l of acetonitrile. The adducts of 4-HNE-DNPH and MDA-DNPH after reaction with DNPH were directly injected into Cogent™ Bidentate C18 column (4.2 μ m, 4.6 x 150 mm I.D.) with pre-column MetaGuard Polaris-C18 (5 μ m, 4.6 mm). Chromatography was performed using the Agilent 1100 series, and DNPH derivatives of aldehydes (MDA-DNPH and 4-HNE-DNPH) were detected with an Agilent 1100 photo-diode detector at 310 nm (MDA) or 350 nm (4-HNE) at flow-rate 1 ml.min⁻¹ with an isocratic elution acetonitrile-water-acetic acid (40:60:0.2 v/v/v) for MDA-DNPH detection and with linear gradient of acetonitrile-water-acetic acid (50:50:0.2 v/v/v) to acetonitrile-water-acetic acid (80:20:0.2 v/v/v) in 20 min (for 4-HNE-DNPH determination). The amounts of MDA and 4-HNE were quantified by performing peak area analysis using an external calibration curve. The plasma concentrations of MDA and 4-HNE were expressed as μ mol.l⁻¹.

Total antioxidant capacity of plasma. The antioxidant capacity of plasma was measured as a total peroxy radical-trapping antioxidant parameter (TRAP), as described previously (Lojek *et al.* 2008; Papezikova *et al.* 2008). The reaction mixture contained 160 μ l of 106 mM PBS, 16.7 μ l of 10 mM luminol in 100 mM borate buffer (pH 9.0) and 6.7 μ l of plasma. The microplate was incubated at 37°C in a temperature-controlled luminometer (Orion Microplate Luminometer; Berthold

Detection Systems GmbH; Germany) for 10 min. Then, 16.7 μ l of 400 mM ABAP (prepared in PBS) was added to start peroxy radical generation. The TRAP value is determined from the duration of the period of time during which the plasma sample diminishes the peroxy radical-dependent chemiluminescent signal. A known quantity of Trolox (0.4 mM), a water-soluble analogue of tocopherol, was used as a reference inhibitor instead of plasma.

Determination of nitrites in plasma. Nitrites were determined by spectrophotometric Griess reaction at 546 nm using a Spectra Rainbow UV/Vis microplate reader (SLT Tecan, Germany), as described previously (Papezikova *et al.* 2008; Pekarova *et al.* 2009). The concentration values of each plasma sample are expressed as μ mol.l⁻¹.

Biochemical and haematological parameters. Biochemical and haematological parameters were evaluated by standard clinical methods in accredited laboratories of the Faculty Hospital Brno (Faculty of Medicine of MU Brno).

Statistical analysis. Data are reported as mean \pm S.E.M. The data were statistically analyzed by Student's *t*-test. Non-parametric Spearman correlation coefficient was calculated. A *p* value of less than 0.05 was considered to be significant.

RESULTS

Levels of both determined lipid peroxidation products MDA and 4-HNE were significantly higher in the plasma of CP patients, in comparison with healthy controls (Fig. 1A, B). Concentration of nitrites, a marker of systemic NO production, were significantly increased in patient plasma, in comparison with healthy controls (Fig. 2A). In contrast, TRAP of patient plasma was only slightly elevated, in comparison with healthy controls (Fig. 2B). Biochemical parameters (triglycerides, C-reactive protein, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, pancreatic amylase, amylase and cytokine binding protein) and the total number of leukocytes of CP patients were in normal reference ranges, similar to the control group (data not shown). However, the total number of leukocytes, triglycerides, C-reactive protein, and cholesterol reached the upper limit of the reference range in CP patients.

To reveal the connection between oxidative stress and haematological and biochemical characterization of CP patients, associations among determined parameters were evaluated. Significant positive correlations were found among the plasma levels of nitrites and the plasma levels of triglycerides (0.735; $p < 0.01$), plasma levels of CRP (0.216; $p < 0.05$), and the total number of white blood cells (0.247; $p < 0.05$). The plasma levels of nitrites correlated negatively with the plasma levels of HDL-cholesterol (-0.404; $p < 0.01$).

DISCUSSION

In the presented study, we demonstrated that CP is accompanied with an increased concentration of secondary products of lipid peroxidation MDA and 4-HNE in a patient's plasma, together with increased plasma levels of nitrites. The level of the total antioxidant capacity of plasma against peroxy radical did not differ between CP patients and healthy controls. These results indicate a persistent chronic oxidative stress under these pathophysiological conditions.

Increased levels of lipid peroxidation products in the plasma of CP patients were also observed by other authors who described that CP patients had increased plasma and serum levels of lipid peroxidation products, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (Bhardwaj *et al.* 2009; Matsumoto *et al.* 1981; Verlaan *et al.* 2006), red blood cell levels of MDA (Durgaprasad *et al.* 2005), levels of 4-HNE, MDA and conjugated dienes in pancreatic tissue (Casini *et al.* 2000; Schoenberg *et al.* 1995), lipid hydroperoxides and conjugated dienes in duodenal or pancreatic juice (Ganesh Pai *et al.* 1999; Guyan *et al.* 1990; Santini *et al.* 2003). In contrast, compared to controls, no significant difference in the serum levels of conjugated dienes and lipid hydroperoxides of CP patients were observed by Santini, *et al.* (Santini *et al.* 2003). Thus these authors suggested that chronically

inflamed pancreas was the main source of lipid peroxidation products (Santini *et al.* 2003).

Insufficiency in antioxidant defence is suggested as one of the main reasons for increased lipid peroxidation in CP patients. However, in this study, the antioxidant capacity of plasma against peroxy radicals was not decreased in CP patients, compared to healthy controls. It could suggest that the increased peroxidation damage of lipids was not due to a decrease of absolute plasma antioxidant capacity. However, some reports showed ferric reducing ability of plasma, a marker of antioxidant capacity, to be significantly lower in CP patients, compared to controls (Bhardwaj *et al.* 2009; Verlaan *et al.* 2006). Further, various authors have found decreased plasma or serum levels of particular antioxidants such as lipid soluble vitamins E and A (Bhardwaj *et al.* 2009; Kalvaria *et al.* 1986; Mathew *et al.* 1996; Matsumoto *et al.* 1981; Morris-Stiff *et al.* 1999), beta-carotene, beta-cryptoxanthine, lycopene (Morris-Stiff *et al.* 1999), selenium (Mathew *et al.* 1996; Morris-Stiff *et al.* 1999), and glutathione peroxidase (Mathew *et al.* 1996) in patients with CP, compared with control subjects. A discrepancy between our results could be caused by the specific sensitivity of the peroxy radical scavenging capacity of plasma to molecules with an ability to scavenge peroxy radical, particularly water soluble antioxidants including uric acid, bilirubin, albumin and other molecules that were not found to be deficient in CP patients by other authors (Bhardwaj *et al.* 2009, Sajewicz *et al.* 2006). Interestingly, the importance of a particular antioxidant deficiency in CP patients was documented in clinical studies showing that oral supplementation by antioxidant curcumin and complex antioxidant supplementation reversed lipid peroxidation in CP patients (Durgaprasad *et al.* 2005; Bhardwaj *et al.* 2009). Further, treatment with antioxidants improved the quality of life and reduced the pain of patients suffering from CP (Bhardwaj *et al.* 2009; Kirk *et al.* 2006).

Increased local or systemic production of NO in CP patients was documented by higher plasma levels of nitrites in these patients, compared to healthy controls. A higher systemic formation of NO in CP patients was also reported by other authors (Drozdov *et al.* 2008; Morselli-Labate *et al.* 2007). These authors suggested that increased NO production in CP could be associated with deregulated pancreatic blood flow and histological changes in the pancreatic vasculature. For the first time, a relation between NO production and undergoing inflammatory processes was documented by a correlation of nitrite levels with CRP and total white blood cell counts. Interestingly, a positive correlation was also found between the plasma levels of nitrites and triglycerides. In contrast, the plasma levels of nitrites correlated negatively with the plasma levels of HDL-cholesterol. These correlations underline connection among NO overproduction and alternations in lipid metabolism during the course of chronic pancreatitis. Previously, increased levels of triglycerides which

correlated negatively with decreased levels of HDL-cholesterol in patients with chronic pancreatitis were described (Diakowska *et al.* 2005). To define an active participation of NO in alternation of lipid metabolism or just consider the increased levels of nitrites as a general marker of severity of inflammatory processes accountable for pancreatitis requires further evaluation.

It can be summarized that this study brings new information about a significantly increased plasma levels of MDA, 4-HNE and nitrites that indicates the presence of chronic oxidative stress in patients with CP. These data support the introduction of therapeutic approaches based on antioxidant supplementation in CP patients.

Acknowledgements

This study was conducted under the research plans AVOZ50040507 and AVOZ50040702 and supported by grants NR 9295-3 (Internal Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic), COST B35 Action and OC08058 (MEYS of the Czech Republic).

REFERENCES

- 1 Bhardwaj P, Garg PK, Maulik SK, Saraya A, Tandon RK, Acharya SK (2009). A randomized controlled trial of antioxidant supplementation for pain relief in patients with chronic pancreatitis. *Gastroenterology*. **136**: 149–159 e2.
- 2 Casini A, Galli A, Pignalosa P, Frulloni L, Grappone C, Milani S, *et al.* (2000). Collagen type I synthesized by pancreatic periacinar stellate cells (PSC) co-localizes with lipid peroxidation-derived aldehydes in chronic alcoholic pancreatitis. *J Pathol*. **192**: 81–89.
- 3 Diakowska D, Knast W, Diakowski W, Grabowski K, Szelachowski P, Pelczar P (2005). Abnormal metabolism of triglycerides fractions in chronic pancreatitis and results after the operation treatment. *Pol Merkur Lekarski*. **108**: 629–33.
- 4 Dite P, Novotny I, Trna J, Sevcikova A (2008). Autoimmune pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. **22**: 131–143.
- 5 Drozdov VN, Berezina OI, Vinokurova LV, Nilova TV (2008). Change of nitric oxide metabolites in patients with chronic pancreatitis. *Eksp Klin Gastroenterol*. **7**: 33–37.
- 6 Durgaprasad S, Pai CG, Vasanthkumar, Alvres JF, Namitha S (2005). A pilot study of the antioxidant effect of curcumin in tropical pancreatitis. *Indian J Med Res*. **122**: 315–318.
- 7 Ganesh Pai C, Sreejayan, Rao MN (1999). Evidence for oxidant stress in chronic pancreatitis. *Indian J Gastroenterol*. **18**: 156–157.
- 8 Guyan PM, Uden S, Braganza JM (1990). Heightened free radical activity in pancreatitis. *Free Radic Biol Med*. **8**: 347–354.
- 9 Kalvaria I, Labadarios D, Shephard GS, Visser L, Marks IN (1986). Biochemical vitamin E deficiency in chronic pancreatitis. *Int J Pancreatol*. **1**:119–128.
- 10 Kirk GR, White JS, McKie L, Stevenson M, Young I, Clements WD, *et al.* (2006). Combined antioxidant therapy reduces pain and improves quality of life in chronic pancreatitis. *J Gastrointest Surg*. **10**: 499–503.
- 11 Kubala L, Ciz M, Vondracek J, Cerny J, Nemecek P, Studenik P, *et al.* (2002). Perioperative and postoperative course of cytokines and the metabolic activity of neutrophils in human cardiac operations and heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. **124**: 1122–1129.
- 12 Lojek A, Ciz M, Slavikova H, Duskova M, Vondracek J, Kubala L, *et al.* (1997). Leukocyte mobilization, chemiluminescence response, and antioxidative capacity of the blood in intestinal ischemia and reperfusion. *Free Radic Res*. **27**: 359–367.
- 13 Lojek A, Pecivova J, Macickova T, Nosal R, Papezikova I, Ciz M (2008). Effect of carvedilol on the production of reactive oxygen species by HL-60 cells. *Neuroendocrinol Lett*. **29**: 779–783.
- 14 Mathew P, Wyllie R, Van Lente F, Steffen RM, Kay MH (1996). Antioxidants in hereditary pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. **91**: 1558–1562.
- 15 Matsumoto M, Wakasugi H, Ibayashi H (1981). Serum vitamin E, lipid peroxide and glutathione peroxidase in patients with chronic pancreatitis. *Clin Chim Acta*. **110**: 121–125.
- 16 Morris-Stiff GJ, Bowrey DJ, Oleesky D, Davies M, Clark GW, Puntis MC (1999). The antioxidant profiles of patients with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. **94**: 2135–2140.
- 17 Morselli-Labate AM, Fantini L, Pezzilli R (2007). Hydrogen sulfide, nitric oxide and a molecular mass 66 u substance in the exhaled breath of chronic pancreatitis patients. *Pancreatol*. **7**: 497–504.
- 18 Papezikova I, Pekarova M, Chatzopoulou M, Nicolaou I, Demopoulos V, Kubala L, *et al.* (2008). The effect of aldose reductase inhibition by JMC-2004 on hyperglycemia-induced endothelial dysfunction. *Neuroendocrinol Lett*. **29**: 775–778.
- 19 Pekarova M, Kralova J, Kubala L, Ciz M, Lojek A, Gregor C, *et al.* (2009). Continuous electrochemical monitoring of nitric oxide production in murine macrophage cell line RAW 264.7. *Anal Bioanal Chem*. **394**: 1497–1504.
- 20 Sajewicz W, Milnerowicz S, Nabzdyk S (2006). Blood plasma antioxidant defense in patients with pancreatitis. *Pancreas*. **32**:139–44.
- 21 Santini SA, Spada C, Bononi F, Foschia F, Mutignani M, Perri V, *et al.* (2003). Liver, pancreas and biliary tract enhanced lipoperoxidation products in pure pancreatic juice: evidence for organ-specific oxidative stress in chronic pancreatitis. *Dig Liver Dis*. **35**: 888–892.
- 22 Schoenberg MH, Birk D, Beger HG (1995). Oxidative stress in acute and chronic pancreatitis. *Am J Clin Nutr*. **62**: 1306S–1314S.
- 23 Verlaan M, Roelofs HM, van-Schaik A, Wanten GJ, Jansen JB, Peters WH, *et al.* (2006). Assessment of oxidative stress in chronic pancreatitis patients. *World J Gastroenterol*. **12**: 5705–5710.

2.2.5. Model karcinogeneze přes spektrum PanIN (pankreatické intraepiteliální neoplázie) lézí

Onkogeneze PC je mnohastupňový proces charakterizovaný progresí normálního epitelu duktů přes spektrum pankreatických intraepiteliálních neoplazií (PanIN - pancreatic intraepithelial neoplasia) až do invazivního PC (46). Předpokládá se, že PanIN léze představují pravděpodobnou spojnicí mezi ChP a PC. Pankreatická chronická inflamace se zdá být časným krokem v rozvoji malignity s genetickými alteracemi objevujícími se jako následek prolongovaných zánětlivých procesů (41). V jednotlivých PanIN lézích je prokazatelná řada postupně se objevujících genetických alterací. Progrese od normálního duktálního epitelu přes mírnou a těžkou dysplázii je charakterizovaná sekvencí získaných či zděděných genetických alterací zahrnujících aktivaci K-ras, nadměrnou expresi HER-2/neu, inaktivaci p16, p53, Smad4/DPC4 a BRCA2 tumor supresorových genů (47). PanIN léze jsou častější u pacientů s ChP než v obecné populaci (48). Významné jsou též změny v prozánětlivě působících drahách, jejichž stimulace se též podílí na karcinogenezi (NF- κ B - nuclear factor kappa B, cyklooxygenázy, lipooxygenázy, syntetázy oxidu dusnatého apod).

Mezi detailněji zkoumané dráhy patří systém cyklooxygenázy (COX), jakožto enzymu účastnícího se konverze kyseliny arachidonové na prostaglandiny. Jsou popsány 2 základní izoformy tohoto enzymu COX-1 a COX-2. Izoforma COX-1 je konstantně exprimována v řadě tkání a je zodpovědná za produkci prostaglandinů za fyziologických podmínek. Druhá izoforma COX-2 je inducibilní enzym, který není za fyziologických podmínek (až na výjimky – jako např. buňky endokrinního pankreatu) stabilně exprimován, ale jehož exprese je stimulována řadou podnětů. Některé práce demonstrují klíčovou roli COX-2 v patologických procesech jako inflamace a karcinogeneze - zvýšená exprese COX-2 byla pozorována v řadě tumorů: karcinomech kolon, plic, prsu, jícnu, močového měchýře a prostaty (49). Stejně tak byla popsána zvýšená exprese COX-2 v PC (50).

Mechanismus, kterým COX-2 potencuje růst nádorových buněk PC, není přesně objasněn. Některé studie předpokládají účast signální dráhy COX-2 v regulaci angiogeneze a růstového cyklu buněk. COX-2 se též podílí na inhibici apoptózy, stimulaci buněčné proliferace a indukci exprese VEGF (51).

Zvýšená exprese COX-2 v duktálních epiteliích byla prokázána též ve vzorcích pankreatu pacientů s ChP a v PanIN lézích (52,53). Exprese COX-2 je zvýšená v PanIN lézích v porovnání s expresí v normálních duktech a stupeň exprese COX-2 signifikantně koreluje se závažností PanIN léze. Toto podporuje pravděpodobnou roli COX-2 v karcinogenezi PC. Uvedená data též podporují roli PanIN lézí jako pojítka mezi ChP a PC. COX-2 by navíc mohla představovat potenciální terapeutický cíl pro terapii a chemoprevenci u pacientů s ChP a PC za použití selektivních COX-2 inhibitorů (54).

V současnosti je imunohistochemické hodnocení exprese COX-2 použitelné při hodnocení závažnosti léze například v miniinvazivně odebraných vzorcích (EUS-FNAB). Rozdíly v expresi COX-2 a změny v expresi p53 mezi jednotlivými premaligními lézemi a PC byly hodnoceny naší níže uvedenou studií. Porovnána byla exprese COX-2 a p53 ve vzorcích získaných z 95 resekátů pacientů s PC – jednalo se o 95 vzorků adenokarcinomu, 155 vzorků PanIN různého stupně a 70 vzorků zdravých duktů. Byl prokázán statisticky významný rozdíl v expresi COX-2 již mezi normálními dukty a low-grade PanIN a dále narůstající exprese směrem k PC a též bylo prokázáno, že exprese COX-2 narůstá dále směrem od normálních duktů přes low grade a high grade PanIN léze až po struktury invazivního karcinomu. Signifikantní rozdíly v expresi se již dále neprojevíly mezi PC s rozdílným gradem. Též exprese p53 narůstala s narůstající závažností léze. I námi získaná data tudíž podporují v současnosti akceptovaný model karcinogeneze a poukazují na možnost potenciálního využití COX-2 inhibitorů pro terapii a případně chemoprevenci.

Hermanová M, Trna J, Nenutil R, Dítě P, Kala Z. Expression of COX-2 is associated with accumulation of p53 in pancreatic cancer: analysis of COX-2 and p53 expression in premalignant and malignant ductal pancreatic lesions. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2008;20(8):732-9. – rovnocenné prvoautorství

IF 2,08. Citováno 24x dle Web of Science.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 30 % - koncept, klinické vyšetřování pacientů, analýza literatury, sběr a analýza dat, část textu)

Expression of COX-2 is associated with accumulation of p53 in pancreatic cancer: analysis of COX-2 and p53 expression in premalignant and malignant ductal pancreatic lesions

Marketa Hermanova^a, Jan Trna^b, Rudolf Nenutil^d, Petr Dite^b and Zdenek Kala^c

Objectives Cyclooxygenase-2 (COX-2) and tumor suppressor p53 are molecules that are linked to the oncogenesis of pancreatic cancer. COX-2 represents a key modulatory molecule in inflammation and carcinogenesis, and is known to be implicated in the positive regulation of growth and tumorigenesis. Abnormal expression of p53 is common in many human neoplasms including pancreatic cancer. Recent studies demonstrated functional interactions between p53 and COX-2. The p53-dependent upregulation of COX-2 was proposed to be another mechanism by which p53 could abate its own growth-inhibitory and apoptotic effects.

Methods In this study, we immunohistochemically analyzed the expression of COX-2 and p53 in 95 pancreatic resection specimens [adenocarcinomas, 95 lesions; pancreatic intraepithelial neoplasias (PanINs), 155; normal ducts, 70].

Results The expression of COX-2 increased progressively with the grade of ductal lesions ($P < 0.00001$). A statistically significant difference of COX-2 expression between normal ducts and low-grade PanINs was revealed ($P = 0.0042$). COX-2 overexpression was demonstrated in 82 PanINs (52.9%), and in 76 adenocarcinomas (80%). No significant correlation between the grade of adenocarcinoma and COX-2 expression was revealed ($P = 0.2$). The expression of p53 again increased progressively with the grade of

lesions ($P < 0.00001$) with a significant increase in high-grade PanINs. A correlation between COX-2 and p53 expression levels in carcinomas was revealed ($P = 0.0002$), and an accumulation of p53 was associated with COX-2 overexpression in premalignant and malignant ductal lesions.

Conclusion These findings confirmed the generally accepted pancreatic cancer progression model, and supported the concept of the interactive role of COX-2 and p53 in pancreatic cancer carcinogenesis, which offers opportunities for targeted therapy and chemoprevention of pancreatic cancer using COX-2 inhibitors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 20:732–739 © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2008, 20:732–739

Keywords: cyclooxygenase-2, pancreatic cancer, pancreatic intraepithelial neoplasia, p53

Departments of ^aPathology, ^bGastroenterology, ^cSurgery, Masaryk University and University Hospital Brno and ^dDepartment of Pathology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

Correspondence to Dr Marketa Hermanova, MD, PhD, Department of Pathology, University Hospital Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Czech Republic
Tel: +42 06 0378 0239; fax: +42 05 3223 2005; e-mail: marherman@post.cz

Received 7 August 2007 Accepted 26 September 2007

Introduction

Pancreatic cancer represents the fourth or fifth leading cause of cancer-related death in both men and women in Western countries, second only to colon cancer among the malignancies of the digestive tract. Despite improved diagnostic and therapeutic modalities, the prognosis of pancreatic cancer remains dismal. The lethality of pancreatic cancer almost equals its incidence, and it has one of the lowest overall 5-year survival rates (less than 5%) among the epithelial cancers [1–3]. Pancreatic cancer is usually advanced at the time of presentation, and the detection of premalignant pancreatic lesions and earlier detection of malignancy in high-risk patients may improve the clinical outcome of the disease using current treatment modalities. Defining the molecular pathology of premalignant early neoplastic lesions could provide

important information for the development of early detection and diagnostic strategies.

The oncogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma is, as a multistep process, characterized by the progression from normal ductal epithelium through a spectrum of noninvasive intraductal lesions, known as pancreatic intraepithelial neoplasias (PanINs), to invasive ductal adenocarcinoma. PanIN lesions harbor a number of well-defined genetic alterations [4,5]. Increasing histologic grades of PanINs are associated with the accumulation of alterations in cancer-related genes. The progression from normal ductal epithelium through mild-to-severe dysplasia is characterized by the sequence of genetic changes including activating *K-ras* point mutations, the overexpression of *HER-2/Neu*, and the inactivation

of *p16*, *p53*, *Smad4/DPC4*, and *BRCA2* tumor suppressor genes [6–8].

Although PanINs are well established as the most common and morphologically distinct precursor lesions of invasive pancreatic cancer, the etiology of this cancer remains poorly understood. Besides age and genetic factors, several lifestyle and environmental factors, such as smoking, obesity, high-fat diet, and low physical activity, have been reported to increase the risk of pancreatic cancer. Although chronic alcohol consumption does not seem to increase the risk of pancreatic cancer, it may induce chronic pancreatitis and diabetes mellitus, which are known to increase the risk of the development of pancreatic cancer [9]. Both hereditary and sporadic forms of chronic pancreatitis represent inflammatory disorders with the increased risk [10–12]. Pancreatic inflammation is associated with the production of reactive oxygen species, cytokine release, and upregulation of proinflammatory transcription factors. Mediators of the inflammatory pathways have been shown to induce genetic damage, cell proliferation, and inhibition of apoptosis in pancreas, and seem to play an important role in carcinogenesis of pancreatic cancer [13–15].

Prostaglandin H₂ synthase – cyclooxygenase (COX) – is an enzyme, which is involved in the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. Two COX isoforms, COX-1 and COX-2, have been identified to date. COX-1 is constitutively expressed in many tissues, and is involved in prostaglandin synthesis under physiological conditions. The second isoform, COX-2, is not constitutively expressed under physiological conditions, but its expression is induced by physiological and stress signals. Growth factors, cytokines, mediators of inflammation, oxidizing agents, or DNA-damaging agents are known inducers of COX-2 expression. Several reports demonstrated the key role of COX-2 in pathological processes, such as inflammation and carcinogenesis. Increased expression of COX-2 was observed in a variety of tumors: in carcinomas of colon, lung, breast, oesophagus, bladder, and prostate [16]. Recent studies repeatedly described an increased expression of COX-2 in pancreatic carcinomas. Increased expression of COX-2 was demonstrated in 56–90% of pancreatic adenocarcinomas among the studies [17]. The mechanism by which COX-2 promotes pancreatic tumor cell growth is not completely clear. Several studies suggested potential involvement of COX-2 pathways in the regulation of tumor-associated angiogenesis and cell growth in pancreatic cancer. COX-2 was demonstrated to inhibit apoptosis, promote cell proliferation, and induce the expression of vascular endothelial growth factor [18–21]. These findings supported the possible role of COX-2 in the carcinogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma and suggested COX-2 as the possible therapeutic target for potential chemoprevention

of pancreatic ductal adenocarcinoma using selective COX-2 inhibitors.

The *p53* tumor suppressor gene encodes a nuclear protein that plays a crucial role in cell cycle regulation [22,23]. *p53* has been implicated both in G₁ cell cycle arrest and in programmed cell death. Stabilization and activation of *p53* protein occurs not only after genotoxic insult, but after a diverse range of other cellular stresses [24]. Abnormalities of the *p53* gene that inactivate the *p53* pathway are common in many human neoplasms, and result in a disruption of the ability of *p53* to function at the DNA damage checkpoint [25]. In pancreatic cancer, 50–75% of cases were reported to carry mutations in the *p53* gene, and alterations of *p53* were also reported in PanIN lesions [26,27].

Thus, COX-2 and *p53* are molecules intimately linked to the oncogenesis of pancreatic cancer. COX-2 is known to be implicated in the positive regulation of growth and tumorigenesis, whereas active *p53* is a negative regulator of this process. Many signals that induce COX-2 expression are also able to activate *p53* [28]. Several studies have reported that tumor suppressor *p53* plays a role in the regulation of COX-2 expression and suggested the interactions between *p53* and COX-2 [29–32]. Subbaramaiah *et al.* [31] showed negative regulation of COX-2 by *p53*; levels of COX-2 protein and mRNA were demonstrated to be suppressed by wild-type *p53* but less significantly by mutant *p53*. Recent studies have reported a *p53*-dependent increase in COX-2 expression in response to DNA damage. It was demonstrated that tumor suppressor *p53* upregulates COX-2 expression, and that COX-2 can in turn inhibit *p53*-dependent transcription. A COX-2 selective inhibitor potentiates *p53*-induced apoptosis, which also supports the notion that COX-2 activity appears to interfere with *p53* function. The *p53*-dependent upregulation of COX-2 could be another novel mechanism by which *p53* could abate its own growth inhibitory and apoptotic effect [29,30]. Effects of mutant *p53* on COX-2 expression were also studied. Mutant *p53* may form complexes with endogenous wild-type *p53* and, depending on the type of mutant, these complexes may retain a degree of COX-2-activating capacity [32].

Therefore, we set out to investigate the expression of COX-2 and *p53* in invasive pancreatic cancer, PanINs, and normal ducts, using immunohistochemical analysis of these proteins.

Methods

Tissue specimens

The studied population consisted of resection specimens from patients with histologically confirmed pancreatic invasive ductal adenocarcinoma, who had undergone

pancreaticoduodenectomy at the Faculty Hospital Brno and Masaryk Memorial Cancer Institute between 2000 and 2006. In total, surgically resected pancreatic tissues from the 95 patients of pancreatic invasive ductal adenocarcinoma were obtained and examined [45 males and 50 females; median age 64 years (range 39–85 years)]. The pancreatic adenocarcinoma was well differentiated in six (6.3%), moderately differentiated in 62 (65.3%), and poorly differentiated in 27 (28.4%) of 95 cases.

Resection specimens were fixed in 10% neutral-buffered formalin for 24 h. Hematoxylin–eosin staining and immunohistochemistry (IH) were performed on 4 µm thick sections of formalin-fixed paraffin-embedded tissue. Hematoxylin–eosin sections were examined to identify the samples containing normal ducts and/or PanIN lesions and/or invasive adenocarcinoma, and these were selected for the immunohistochemical study. PanIN lesions were graded according to standardized criteria [4]. PanIN lesions ranging from PanIN-1A to PanIN-3 were identified in 51 of 95 pancreatic cancer resection specimens. In total, 39 foci of PanIN-1A, 73 foci of PanIN-1B, 30 foci of PanIN-2, and 13 foci of PanIN-3 were identified and examined. Immunohistochemical analysis of p53 and COX-2 expression was also performed on 70 normal ducts.

Immunohistochemistry

For immunohistochemical analysis of p53 and COX-2 expressions, sections were deparaffinized in xylene and rehydrated through a series of alcohol. The mouse monoclonal antibody directed against p53 (clone DO-1, against both wild and mutant p53, dilution 1:2000; Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK) and the rabbit polyclonal antibody against COX-2 (dilution 1:50; Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, California, USA) were used. Owing to the use of a very sensitive visualization system, the dilution of primary antibody, in which the immunostaining in the cells of cytotrophoblast and exocervical epithelium is negative, was used for p53 IH (see explanation in the Discussion). Antigen retrieval was performed in a microwave (Milestone, Sorisole, Italy) by heating in citrate buffer at pH 6.0 for 4 min at 120°C for p53 IH, and by heating in the same buffer for 20 min at 98°C for COX-2 IH. The slides were incubated with both the polyclonal anti-COX-2 antibody and monoclonal anti-p53 antibody overnight at 4°C. A streptavidin–biotin peroxidase detection system was used in accordance with the manufacturer's instructions (mouse IgG Vectastain Elite kit for p53 IH and rabbit IgG Vectastain Elite kit for COX-2 IH; Vector Laboratories, Burlingame, California, USA) and then visualized using 3,3'-diaminobenzidine as a substrate (Fluca, Buchs, Switzerland). The slides were counterstained with Gill's hematoxylin.

Tissue sections of pancreatic cancer with a known p53 status (p53 stabilized by a mutation with a strong

accumulation of p53 in nuclei; immunoscore 3 – see explanation below) were used as positive controls for p53 IH in each run. Sections from COX-2 strongly positive colon carcinoma (immunoscore 2 – see explanation below), were used as positive controls for COX-2 IH in each run. Additionally, COX-2 immunoreactivity in islets of endocrine pancreas served as an efficient internal positive control [33]. Negative controls for both p53 and COX-2 IH were performed by incubating samples without the primary antibody.

Evaluation of immunostaining

In carcinomas, at least three different representative high-power (×400) fields of tumor infiltration were examined. In rare cases of tumor clonal heterogeneity in DO-1 immunostaining, the clone more positive for p53 was scored. For each selected PanIN lesion and the normal ducts, either the entire lesion or structure was analyzed or the minimum of 200 cells was evaluated.

For p53 IH, the percentage of positive cells was assessed, and the immunostaining intensity was classified into four categories: numeric score 0, no staining; nuclei blue; numeric score 1, weak staining; nuclei blue-brown; numeric score 2, nuclei brown; and numeric score 3, nuclei deep brown or black. The final immunoscore was obtained by multiplying the percentages of positive cells with the numeric score reflecting the staining intensity. Immunoscores were categorized into four levels: 0 (immunoscore < 10); 1 (immunoscore 10–49); 2 (immunoscore 50–149); and 3 (immunoscore 150–300).

For COX-2 IH, the percentage of positive cells was also counted, and the immunostaining intensity was divided into three categories: numeric score 0, no staining; numeric score 1, weak staining; and numeric score 2, moderate and strong staining. The final immunoscore was obtained as described in p53 IH, and immunoscores were categorized into three levels: 0 (immunoscore < 20); 1 (immunoscore 20–49); and 2 (immunoscore 50–200). In cases with heterogeneous expression of COX-2, the average score was counted.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the Kruskal–Wallis one-way analysis of variance for the differences and trends in continuous variables among the categories. Mann–Whitney *U*-test was used to compare differences in continuous variables between two types of lesions. The Pearson's χ^2 test was used for analysis of contingency tables. Spearman *R* coefficient was used to evaluate correlations between continuous variables in the categories. The SYSTAT statistical package was used (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), and *P* < 0.05 was considered to be statistically significant.

Results

Expression of cyclooxygenase-2 in normal ducts, pancreatic intraepithelial neoplasia lesions, and carcinomas

The immunohistochemical analysis of COX-2 expression showed considerable heterogeneity of immunostaining both between and within the lesions. A statistically significant correlation was revealed between COX-2 expression and the severity of a ductal lesion ($P < 0.00001$), (Table 1, Fig. 1). After stratification of the ductal lesion into categories, a statistically significant increase of COX-2 expression between normal ducts and low-grade PanIN lesions ($P = 0.0042$ for normal ducts vs. PanIN-1A; $P < 0.0001$ for normal ducts vs. PanIN-1B), and between low-grade and high-grade PanIN lesions ($P < 0.0001$ for low-grade PanINs vs. both PanIN-2 and PanIN-3 lesions) was revealed (Table 2). The significant COX-2 expression was detected in 82 PanINs (52.9%) and in 76 carcinomas (80%), (Table 1, Fig. 2a-c). No statistically significant increase of COX-2 expression was revealed between high-grade PanIN

lesions and carcinomas. In high-grade PanIN lesions of two pancreatic resection specimens, the expression of COX-2 was higher than in the associated adenocarcinoma.

When the carcinomas were stratified by their histologic grade, the correlation between the grade of the adenocarcinoma and the COX-2 expression did not reach statistical significance ($P = 0.2$), (Table 3).

Expression of p53 in normal ducts, pancreatic intraepithelial neoplasia lesions and carcinomas

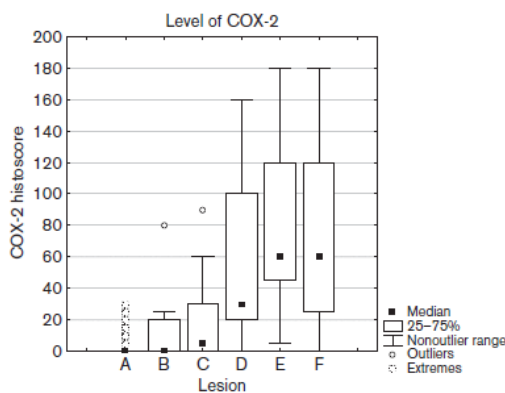
The results of p53 immunostaining confirmed the conclusions of our previous study [34], (Table 4, Fig. 3). The proportion of p53 expression in normal ducts, PanIN-1A, 1B, 2, and 3 lesions and carcinomas increased again progressively and significantly ($P < 0.00001$) with the grade of the lesion, and no immunostaining in normal ducts and immunostaining in low-grade PanIN lesions not exceeding level 1 were revealed. After stratification into categories (Table 5), a statistically significant increase of p53 expression was revealed between low-grade and high-grade PanIN lesions ($P < 0.0001$), between PanIN-2 and PanIN-3 lesions ($P = 0.022$), and between PanIN-2 lesions and carcinomas ($P = 0.0008$).

Table 1 Expression of COX-2 in PanIN lesions and pancreatic ductal adenocarcinoma (number of lesions with COX-2 expression on different levels: 0, 1, 2)

	Ducts	PanIN-1A	PanIN-1B	PanIN-2	PanIN-3	Ca
COX-2 0	66	29	40	3	1	19
COX-2 1	4	9	29	15	3	23
COX-2 2	0	1	4	12	9	53
Total	70	39	73	30	13	95

Ca, carcinoma; COX-2, cyclooxygenase-2; PanIN, pancreatic intraepithelial neoplasia.
 $P < 0.00001$ (Pearson's χ^2).

Fig. 1



Box-and-whiskers plot showing COX-2 immunoscores in normal ducts (column A), PanIN-1A (B), 1B (C), 2 (D), 3 (E) lesions, and carcinomas (F), (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$). COX-2, cyclooxygenase-2; PanIN, pancreatic intraepithelial neoplasia.

Relationship between the expression of cyclooxygenase-2 and p53

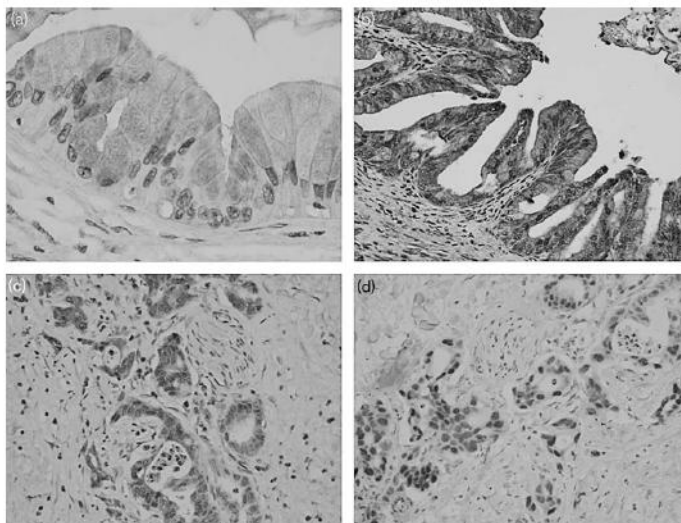
A statistically significant correlation was found between levels of COX-2 and p53 expressions in pancreatic cancer ($P = 0.0002$), (Table 6), and also between p53 and COX-2 immunoscores in carcinomas ($P = 0.000012$). High expression of p53 (level 3) was associated with overexpression of COX-2 in all cases (Fig. 2c and d). The only one case with p53 immunostaining on level 2 was not associated with COX-2 overexpression, but the tumor displayed a significantly heterogeneous expression of COX-2 among the evaluated parts of the tumor. Some parts of the carcinoma displayed the expression of COX-2 on level 1, the others showed level 0 expression of COX-2, and the average score resulted in level 0 expression in this particular case.

Similarly, there was a significant correlation between COX-2 and p53 expression in high-grade PanINs, and all lesions with nuclear p53 accumulation displayed COX-2 overexpression on level 1 or level 2. In low-grade PanIN lesions, the levels of COX-2 expression were significantly lower when compared with high-grade PanINs and carcinomas. Nuclear accumulation of p53 did not exceed level 1, and was also associated with COX-2 overexpression in the particular lesions with positive p53 immunostaining.

Table 2 Descriptive statistics of COX-2 immunoscores among categories

	COX-2 immunoscore, descriptive statistics within categories			Matrix of Mann-Whitney U-test probabilities for differences among categories				
	Count	Mean \pm SE	Median	PanIN-1A	PanIN-1B	PanIN-2	PanIN-3	Ca
Ducts	70	3.2 \pm 0.8	0	0.0042	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
PanIN-1A	39	8.7 \pm 2.4	0		NS 0.076	<0.0001	<0.0001	<0.0001
PanIN-1B	73	15.5 \pm 2.2	5			<0.0001	<0.0001	<0.0001
PanIN-2	30	53.7 \pm 8.4	30				0.043	NS 0.18
PanIN-3	13	89.2 \pm 16.5	60					NS 0.23
Carcinoma	95	68.2 \pm 5.5	60					

Ca, carcinoma; COX-2, cyclooxygenase-2; PanIN, pancreatic intraepithelial neoplasia.

Fig. 2

(a) Cyclooxygenase-2 (COX-2) overexpression in low-grade pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN-1B); (immunohistochemistry, COX-2 antibody, original magnification \times 400). (b) COX-2 overexpression in high-grade PanIN-2 lesion; (immunohistochemistry, COX-2 antibody, original magnification \times 400). (c) COX-2 overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma with perineural spreading; (immunohistochemistry, COX-2 antibody, original magnification \times 200). (d) Nuclear accumulation of p53 in pancreatic ductal adenocarcinoma with perineural spreading; tissue section parallel to the section in (c) (immunohistochemistry, p53 antibody, original magnification \times 200).

Table 3 Expression of COX-2 in well (WD), moderately (MD) and poorly differentiated (PD) pancreatic adenocarcinomas (number of carcinomas with COX-2 expression on different levels: 0, 1, 2)

	WD	MD	PD	Total
COX-2 0	3	13	3	19
COX-2 1	2	14	7	23
COX-2 2	1	35	17	53
Total	6	62	27	95

COX-2, cyclooxygenase-2.
 $P=0.2$ (Pearson's χ^2).**Table 4** Expression of p53 in PanIN lesions and pancreatic ductal adenocarcinoma (number of lesions with p53 expression on different levels: 0, 1, 2, 3)

	Ducts	PanIN-1A	PanIN-1B	PanIN-2	PanIN-3	Ca
p53 0	70	39	71	20	5	35
p53 1	0	0	2	6	2	29
p53 2	0	0	0	4	4	20
p53 3	0	0	0	0	2	11
Total	70	39	73	30	13	95

Ca, carcinoma; PanIN, pancreatic intraepithelial neoplasia.
 $P<0.00001$ (Pearson's χ^2).

Discussion

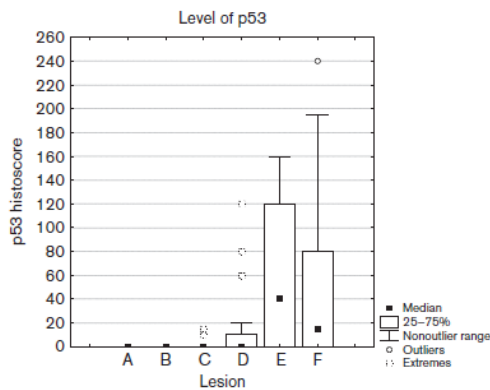
Only two studies have evaluated extensively the expression of COX-2 in premalignant PanIN lesions of pancreatic resection specimens [33,35]. Maitra *et al.*

[33] examined the expression of COX-2 in structures of adenocarcinomas, PanIN lesions, and normal ducts. This study showed the significant differences in COX-2 expression in adenocarcinomas versus normal ducts, and

also in PanIN lesions versus normal ducts. Statistically significant differences were demonstrated in high-grade PanINs (PanIN-2 and PanIN-3 lesions) versus low-grade PanINs (PanIN-1A and PanIN-1B lesions). Albazaz *et al.* [35] reported the higher COX-2 expression in PanIN lesions, most significantly in high-grade PanIN lesions as compared with normal epithelium. Furthermore, a gradual increase in COX-2 expression was demonstrated with an increased severity of intraepithelial neoplastic lesions. Thus, the association between COX-2 expression and severity of PanIN lesions was defined. Both studies suggested that COX-2 in a significant subset of noninvasive precursor PanIN lesions could represent a potential therapeutic target for the chemoprevention of pancreatic cancer at a noninvasive stage of pancreatic oncogenesis. Our study supported their findings and showed significantly higher expression of COX-2 in adenocarcinomas and PanIN lesions compared with normal ducts. In general, the progressively increasing COX-2 expression from normal ducts through PanIN lesions to invasive carcinomas was shown. Significant

expression of COX-2 was revealed in 82 PanINs (52.9%) and in 76 adenocarcinomas (80%). There were some individual PanIN lesions that displayed a higher expression of COX-2 when compared with the associated adenocarcinoma. Similar findings were reported in previously mentioned studies [33,35]. Albazaz *et al.* [35] also did not demonstrate a statistically significant increase of COX-2 expression between high-grade PanIN lesions and carcinomas, and showed higher COX-2 expression in some high-grade PanINs if compared with the associated carcinoma. Maitra *et al.* [33] revealed the higher COX-2 expression in some PanINs in the pancreatic parenchyma away from the pancreatic cancer in 40% of cases, supporting the established notion that PanIN could sometimes represent independent intraepithelial neoplastic clones with divergent molecular events occurring in individual PanIN lesions and adenocarcinomas of the same pancreas [5]. Results obtained from immunohistochemical analysis of p53 expression, which showed no significant difference between high-grade PanINs and carcinomas, also supported this notion. Additionally, the results revealed the trend to a higher COX-2 expression in less-differentiated adenocarcinomas, but the correlation between the grade of the adenocarcinoma and the level of COX-2 expression did not reach statistical significance.

Fig. 3



Box-and-whiskers plot showing p53 immunoscores in normal ducts (column A), PanIN-1A (B), 1B (C), 2 (D), 3 (E) lesions, and carcinomas (F), (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$). PanIN, pancreatic intraepithelial neoplasia.

Further attention was focused on the correlation between the expression of COX-2 and nuclear accumulation of p53 in neoplastic cells. Wild-type p53 is stabilized in the cells by many physiological stimuli, such as hypoxia, oncogenic, or genotoxic stresses and others, leading to an accumulation of p53 in nuclei and positive immunostaining in the absence of mutation. In human neoplasms, the most common point mutations alter the conformation of p53, leading indirectly to a more stable protein that also accumulates in tumor nuclei [36]. Less frequently, loss of the p53 function is due to the loss of both alleles, or to non-sense mutations that result in the expression of truncated, nonactive, and unstable proteins. p53 action can be also changed through alterations in upstream or downstream genes, such as amplification of *MDM2*.

Low levels of p53 could be detected by sensitive IH under normal conditions in both embryonal and adult

Table 5 Descriptive statistics of p53 immunoscores within categories

p53 immunoscore, descriptive statistics within categories	Matrix of Mann-Whitney U-test probabilities for differences between categories							
	Count	Mean ± SE	Median	PanIN-1A	PanIN-1B	PanIN-2	PanIN-3	Ca
Ducts	70	0.0 ± 0.0	0	NS 1.0	NS 0.165	<0.0001	<0.0001	<0.0001
PanIN-1A	39	0.0 ± 0.0	0		NS 0.299	<0.0001	<0.0001	<0.0001
PanIN-1B	73	0.3 ± 0.2	0			<0.0001	<0.0001	<0.0001
PanIN-2	30	23.9 ± 5.2	0				0.022	0.0008
PanIN-3	13	56.9 ± 17.3	40					NS 0.71
Carcinoma	95	44.8 ± 6.1	15					

Ca, carcinoma; PanIN, pancreatic intraepithelial neoplasia.

Table 6 Correlation of COX-2 and p53 expressions in pancreatic adenocarcinomas (number of carcinomas with COX-2 and p53 expressions on different levels)

	p53 0	p53 1	p53 2	p53 3	Total
COX-2 0	15	3	1	0	19
COX-2 1	8	8	7	0	23
COX-2 2	12	18	12	11	53
Total	35	29	20	11	95

COX-2, cyclooxygenase-2.
 $P=0.0002$ (Pearson's χ^2).

tissues. To distinguish the higher levels of p53 stabilized by a mutation or cellular stress from the normal expression of wild-type p53 in rapidly proliferating tissues under normal conditions, we used the dilution of a primary antibody in which the cells of control tissues (proliferating exocervical epithelium and cytotrophoblast) were completely negative. In the majority of cases, this system allows the distinction between normal p53 expression, which is not detectable with this IH methodology, and the abnormal expression of p53 (as a result of a stabilization by a variety of cellular stresses or by a mutation) resulting in nuclear p53 accumulation [37].

Recent studies provided evidence about the interactive role of COX-2 and p53 in carcinogenesis of different neoplastic disorders, and the functional relationship that was revealed provided support for a potential chemopreventive and therapeutic role of COX-2 inhibitors in some tumor types [38–40]. Among malignancies of the gastrointestinal tract, COX-2 expression significantly correlated with nuclear p53 accumulation in gastric cancer [41]. The data showed that COX-2 significantly increases with nuclear p53 accumulation. Further analysis revealed that COX-2 correlates with p53 in subsets of advanced, cardiac, and *Helicobacter pylori* (–) gastric carcinomas, and no correlation was found in the early, diffuse, noncardiac, and *H. pylori* (+) gastric carcinomas. Although several studies demonstrated the role of *H. pylori* in the induction of COX-2 expression, on the other hand, the above-cited data suggested the possible role of p53 in a modulation of COX-2 expression in gastric cancer without *H. pylori* infection.

The correlation between p53 status and COX-2 expression was found in Barrett's oesophagus and in oesophageal adenocarcinoma, and it was suggested that in precursor cancer lesions, p53-dependent expression of COX-2 provides a mechanism for escape from apoptosis and progression toward neoplasia in a highly inflammatory context [32].

In colon cancer, the role of both p53 and COX-2 in colon cancer development and progression was confirmed [42]. It was shown that tumor angiogenesis is significantly

influenced by p53 overexpression and COX-2 expression in patients with colon cancer [43], and COX-2 inhibition appeared to protect the p53 tumor suppressor function [44].

In gallbladder neoplastic lesions, the significant differences in COX-2 expression among normal epithelium, low-grade dysplasia, and high-grade dysplasia suggested that overexpression of COX-2 may represent an early event in gallbladder carcinogenesis. Furthermore, expression of COX-2 was associated with p53 accumulation in premalignant and malignant gallbladder neoplastic lesions. In the spectrum of 68 tissue samples, only one COX-2 negative case among 18 p53 positive cases was found. Overexpression of COX-2 was suggested to be, at least in part, related to p53 dysfunction [45].

Xu *et al.* [46] studied correlations between the expression of p53 and COX-2 in pancreatic tissue microarrays. The pancreatic cancer tissue, adjacent noncancer tissue, and normal pancreatic tissue were examined, and a significantly increased expression of both p53 and COX-2 was found in tumorous tissues when compared with non-tumorous tissues. Moreover, a significant relationship was observed between COX-2 and p53, and COX-2 negative expression tissues were found to be more significant in p53-negative than in p53-positive tissues. Based on the results of logistic regression analysis, p53 and COX-2 were suggested to be dependent predictors of pancreatic carcinogenesis. This study included tissues not only from pancreatic ductal adenocarcinomas, but also from mucinous and serous cystic tumors, samples from pancreatic endocrine tumors and from chronic pancreatitis, and the character of ductal structures in adjacent nontumorous tissue was not specified. Our study evaluated COX-2 and p53 expression in morphologically defined ductal structures (normal ducts and premalignant PanIN lesions) and structures of ductal adenocarcinoma, to enable study of the relationship of p53 and COX-2 to the carcinogenesis of the most common pancreatic cancer – ductal adenocarcinoma. Accumulation of p53 was accompanied by the increased expression of COX-2 in premalignant and malignant ductal lesions and significant correlation between COX-2 and p53 expression was revealed, supporting the concept of COX-2 and p53 interactive roles in pancreatic cancer carcinogenesis, which offers opportunities for targeted therapy and chemoprevention of pancreatic cancer using selective COX-2 inhibitors, especially in lesions with functional p53.

Acknowledgement

This work was supported by a grant from the Ministry of Health (IGA), Czech republic No. NR 9295-3.

Conflict of interest: none declared.

References

- 1 Bramhall SR, Allum WH, Jones AG, Allwood A, Cummins C, Neoptolemos JP. Treatment and survival in 13 560 patients with pancreatic cancer, and incidence of the disease in the West Midlands: an epidemiological study. *Br J Surg* 1995; **82**:111–115.
- 2 Fernandez E, La Vecchia C, Porta M, Negri E, Lucchini F, Levi F. Trends in pancreatic cancer mortality in Europe, 1955–1989. *Int J Cancer* 1994; **57**:786–792.
- 3 Hruban RH, Yeo CJ, Kern SE. The genetic basis of human cancer. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *Pancreatic cancer*. New York: McGraw-Hill; 1996. pp. 603–613.
- 4 Hruban RH, Adsay NV, Alboreo-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol* 2001; **25**:579–586.
- 5 Hruban RH, Wilentz RE, Kern SE. Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am J Pathol* 2000; **156**:1821–1825.
- 6 Hruban RH, van Mansfeld AD, Offerhaus GJ, van Woering DH, Allison DC, Goodman SN, et al. Kras oncogene activation in adenocarcinoma of the human pancreas. *Am J Pathol* 1993; **143**:545–554.
- 7 Rozenblum E, Schutte M, Goggins M, Hahn SA, Panzer S, Zahurak M, et al. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res* 1997; **57**:1731–1734.
- 8 Kloppel G, Luttges J. The pathology of ductal type pancreatic carcinomas and pancreatic intraepithelial neoplasia: insights for clinicians. *Curr Gastroenterol Rep* 2004; **6**:111–118.
- 9 Welsch T, Kleeff J, Seitz HK, Buchler P, Friess H, Buchler MW. Update on pancreatic cancer and alcohol-associated risk. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; **21**:69–75.
- 10 Malka D, Hammel P, Maire F, Rufat P, Madeira L, Pessione F, et al. Risk of pancreatic adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut* 2002; **51**:849–852.
- 11 Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 1993; **328**:1433–1437.
- 12 Howes N, Neoptolemos JP. Risk of pancreatic ductal adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut* 2002; **51**:765–766.
- 13 Farrow B, Sugiyama Y, Chen A, Uffort E, Nealon W, Evers BM. Inflammatory mechanisms contributing to pancreatic cancer development. *Ann Surg* 2004; **239**:763–771.
- 14 Garcea G, Denison AR, Steward WP, Berry DP. Role of the inflammation in pancreatic carcinogenesis and the implications for future therapy. *Pancreatology* 2005; **5**:514–529.
- 15 Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. *Surg Oncol* 2002; **10**:153–169.
- 16 Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, Weksler BB, et al. Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol* 2001; **2**:544–551.
- 17 Kokawa A, Kondo H, Gotoda T, Ono H, Saito D, Nakadaira S, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in human pancreatic neoplasms and potential chemoprevention by cyclooxygenase inhibitors. *Cancer* 2001; **91**:333–338.
- 18 Chu J, Lloyd FL, Trifan OC, Knapp B, Rizzo MT. Potential involvement of cyclooxygenase-2 pathway in the regulation of tumor associated angiogenesis and growth in pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2003; **2**:1–7.
- 19 Kong G, Kim EK, Kim WS, Lee KT, Lee YW, Lee JK, et al. Role of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; **17**:914–921.
- 20 Ding XZ, Tong WG, Adrian TE. Blockade of cyclooxygenase-2 inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Anticancer Res* 2000; **20**:2625–2631.
- 21 Eibl G, Bruemmer D, Okada Y, Duffy JP, Law RE, Reber HA, et al. PGE (2) is generated by specific COX-2 activity and increases VEGF production in COX-2 expressing human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **306**:887–897.
- 22 Hofseth LJ, Hussain SP, Harris CC. p53: 25 years after its discovery. *Trends Pharmacol Sci* 2004; **25**:177–181.
- 23 Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *J Pathol* 1999; **187**:112–126.
- 24 Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; **88**:323–331.
- 25 Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; **253**:49–53.
- 26 Barton CM, Staddon SL, Hughes CM, Hall PA, O'Sullivan C, Kloppel G, et al. Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1991; **64**:1076–1082.
- 27 Biankin AV, Kench JG, Morey AL, Lee CS, Biankin SA, Head DR, et al. Overexpression of p21^{WAF1/CIP1} is an early event in the development of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Res* 2001; **61**:8830–8837.
- 28 Sengupta S, Harris CC. p53: traffic cop at the crossroads of DNA repair and recombination. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; **6**:44–45.
- 29 Corcoran CA, He Q, Huang Y, Sheikh MS. Cyclooxygenase-2 interacts with p53 and interferes with p53-dependent transcription and apoptosis. *Oncogene* 2005; **24**:1634–1640.
- 30 Han JA, Kim JI, Ongusaha PP, Hwang DH, Ballou LR, Mahale A, et al. P53-mediated induction of Cox-2 counteracts p53- or genotoxic stress-induced apoptosis. *EMBO J* 2002; **21**:5635–5644.
- 31 Subbaramaiah K, Altorki N, Chung WJ, Mestre JR, Sampat A, Dannenberg AJ. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53. *J Biol Chem* 1999; **274**:10911–10915.
- 32 Benoit V, de Moraes E, Dar NA, Taranchon E, Bours V, Hautefeuille A, et al. Transcriptional activation of cyclooxygenase-2 by tumor suppressor p53 requires nuclear factor-kappa B. *Oncogene* 2006; **25**:5708–5718.
- 33 Maitra A, Ashfaq R, Gurn CR, Rahman A, Yeo CJ, Sohn TA, et al. Cyclooxygenase 2 expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2002; **118**:194–201.
- 34 Hermanova M, Lukas Z, Kroupová I, Kleibl Z, Novotny J, Nenutil R, et al. Relationship between K-ras mutation and the expression of p21^{WAF1/CIP1} and p53 in chronic pancreatitis and pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasma* 2003; **50**:319–325.
- 35 Albazaz R, Verbeke CS, Rahman SH, McMahon MJ. Cyclooxygenase-2 expression associated with severity of PanIN lesions: a possible link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology* 2005; **5**:361–369.
- 36 Bartek J, Bartkova J, Lukas J, Staskova Z, Vojtesek B, Lane DP. Immunohistochemical analysis of the p53 oncoprotein on paraffin sections using a series of novel monoclonal antibodies. *J Pathol* 1993; **169**:27–34.
- 37 Nenutil R, Smardova J, Pavlova S, Hanzelkova Z, Muller P, Fabian P, et al. Discriminating functional and non-functional p53 in human tumours by p53 and MDM-2 immunohistochemistry. *J Pathol* 2005; **273**:1930–1947.
- 38 Lee JS, Choi YD, Lee JH, Nam JH, Choi C, Lee MC, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in epithelial ovarian tumours and its relation to vascular endothelial growth factor and p53 expression. *Int J Gynecol Cancer* 2006; **16**:247–253.
- 39 Chow LW, Loo WT, Wai CC, Lui EL, Zhu L, Toi M. Study of COX-2, Ki67, and p53 expression predict effectiveness of 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide with celecoxib treatment in breast cancer patients. *Biomed Pharmacother* 2005; **59**:298–301.
- 40 Tsubochi H, Sato N, Hiyama M, Kaimori M, Endo S, Sohara Y, et al. Combined analysis of cyclooxygenase-2 expression with p53 and Ki-67 in nonsmall cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2006; **82**:1198–1204.
- 41 Shun CT, Wu MS, Huang SP, Wang HP, Chuang SM, Lin JT. Cyclooxygenase-2 expression correlates with nuclear p53 accumulation in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; **50**:988–992.
- 42 Chen WC, Lin MS, Zhang BF, Fang J, Zhou Q, Hu Y, et al. Survey of molecular profiling during human colon cancer development and progression by immunohistochemical staining on tissue microarray. *World J Gastroenterol* 2007; **13**:699–708.
- 43 Liang JT, Huang KC, Jeng YM, Lee PH, Lai HS, Hsu HC. Microvessel density, cyclo-oxygenase 2 expression, K-ras mutation, and p53 overexpression in colonic cancer. *Br J Surg* 2004; **91**:355–361.
- 44 Swamy MV, Herzog CR, Rao CV. Inhibition of COX-2 in colon cancer cell lines by celecoxib increases the nuclear localization of active p53. *Cancer Res* 2003; **63**:5239–5242.
- 45 Legan M, Luzar B, Ferlan-Marolt V, Cor A. Expression of cyclooxygenase-2 is associated with p53 accumulation in premalignant and malignant gallbladder lesions. *World J Gastroenterol* 2006; **12**:3425–3429.
- 46 Xu L, U YM, Yu CH, Li L, Liu YS, Zhang BF, et al. Expression of p53, p16 and COX-2 in pancreatic cancer with tissue microarrays. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; **5**:138–142.

2.2.6. Autoimunitní pankreatitida

Popis této nosologické jednotky včetně rizika záměny za PC podává níže uvedená přehledová práce naší výzkumné skupiny. Jak AIP, tak PC se mohou projevit jako ložiskové postižení pankreatu s ikterem (případně i bezbolestným). Podobné mohou být i další klinické příznaky – bolesti břicha, váhový úbytek apod. Rozlišení těchto chorob je vzhledem ke zcela zásadním rozdílům v léčebné strategii nezbytné, nicméně ne vždy jednoduché. Na možnost AIP může poukazovat přítomnost dalších autoimunitních chorob, elevace imunoglobulinů (především IgG4) a případně dalších autoprotilátok. Na zobrazovacích metodách je v případech difuzního postižení patrná difuzně zvětšená žláza tzv. „klobásovitého“ tvaru, případně se subkapsulárním projasněním – tzv. „rim“. Tyto případy však většinou nepředstavují diferenciálně diagnostický problém. Komplikovanější je situace ložiskového postižení. I v tomto případě mohou některé známky favorizovat AIP nebo PC. V případě AIP nebývá pankreatický vývod významně dilatován, přítomno bývá spíše nepravidelné zúžení jeho kalibru, někdy i charakteru vícenásobných naznačených stenóz. Naopak v případě PC bývá patrná jedna významná stenóza (často až úplný uzávěr) s jasným rozšířením ductu nad touto stenózou. V případě ne zcela jednoznačných výsledků přípouští HISORT klasifikace AIP terapeutický test s kortikoidy. Při reobjektivizaci za 2-4 týdny dochází v případě AIP ke zlepšení nálezu, zatímco stacionární obraz či progresse svědčí spíše pro PC.

Dítě P, Novotný I, Trna J, Ševčíková A. Autoimmune pancreatitis. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2008;22(1):131-143.

IF 3,128. Citováno 12x ve Web of Science

(publikovaná přehledová práce - kvantitativní podíl uchazeče 15 % - vyhledávání a analýza literatury, příprava částí textu publikace)



10

Autoimmune pancreatitis

Petr Dite* MD, DSc

Professor of Medicine

Ivo Novotny MD, PhD

Head of Digestive Endoscopy

Jan Trna MD

Research Fellow

Arona Sevcikova MD

Research Fellow

Department of Hepatogastroenterology, University Hospital, Jihlavska 20, 625 00 Brno, Czech Republic

Autoimmune pancreatitis is a form of chronic pancreatitis of presumed autoimmune aetiology. The disease is characterised with clinical, serological, histomorphological and imaging features. Autoimmune pancreatitis is recognised as a T-cell-mediated specific disease with lymphoplasmatic infiltration of pancreatic tissue and pancreatic parenchyma fibrosis. Serum immunoglobulin IgG or IgG4 and antibodies (rheumatoid factor, lactoferrin antibodies, carbonic anhydrase II, etc) are usually increased. But the lack of specific biochemical markers is a major drawback in the diagnosis of autoimmune pancreatitis. The Japan Pancreas Society proposed diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis as the presence antibodies, pancreas enlargement and pancreatic duct narrowing, lymphoplasmatic infiltration, response to corticosteroid therapy, and association with other autoimmune diseases such as autoimmune hepatitis, sclerosing cholangitis, primary biliary cirrhosis, sialoadenitis, inflammatory bowel disease and Sjögren syndrome. New criteria (HISORt Criteria) incorporate imaging changes, organ involvement, specific elevation of IgG4 subclass and histopathological markers. Autoimmune pancreatitis could be associated with diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction. Clinically, autoimmune pancreatitis is a disease with mild symptoms; severe attacks of abdominal pain are not typical. Typically, pancreatic calcifications and pseudocyst are absent; on the other hand jaundice and/or pancreatic mass are frequent signs, and both make differential diagnosis with pancreatic cancer difficult. From a practical point of view, in an elderly male presenting with obstructive

* Corresponding author. Tel.: +420 532 232 290; Fax: +420 532 233 254.
E-mail address: pdite@med.muni.cz (P. Dite).

jaundice and pancreatic mass, autoimmune pancreatitis is one of the differential diagnoses to avoid unnecessary surgical therapy.

Key words: chronic pancreatitis; autoimmunity; antibodies; immunoglobulins; ultrasonography; pancreatic biopsy; steroids.

Chronic pancreatitis is an inflammatory process that leads to the progressive and irreversible destruction of exocrine and endocrine glandular pancreatic tissue and its substitution with fibrotic tissue. As a result, a series of morphological and functional alterations can be detected which are responsible for the characteristic symptoms of this disease.

The literature on the incidence and prevalence of chronic pancreatitis is not voluminous. A study in the Copenhagen area in the 1970s states an incidence of 6.9–10.0 new cases per 100,000 inhabitants per year.¹ In the Cantabria region of Spain between 1981 and 1991, de las Heras found an incidence of 14/100,000, of which 80% were alcohol-induced, constituting one of the highest incidences worldwide.² More recent studies have observed clear geographic differences, ranging from 1.6 new cases per 100,000 per year in Switzerland, through 7.9/100,000 per year in the Czech republic (very similar to Denmark and Germany), to 23/100,000 per year in Finland.^{3,4} Some studies have found an important increase in the number of patients with chronic pancreatitis being admitted to hospitals. In the UK, this increase came to 100% during the period 1989/90 to 1999/2000. Japan also registered an increase, from 32,000 in 1994 to 42,000 in 1999, figures which represent an increase in prevalence from 28.5 to 32.9/100,000 and in incidence from 5.4 to 5.7/100,000.⁵ This increase may have happened for two reasons: (a) the development of new diagnostic methods and improvement of existing techniques, and (b) an increase in alcohol consumption.

The aetiology of chronic pancreatitis was divided into three categories: alcohol consumption, idiopathic, and 'other'. Excessive alcohol consumption was thought to be the most common cause, accounting for 70–80% of all cases in the Western world. About 10–20% of cases were considered idiopathic pancreatitis, and 10% were categorised as 'other' and included cases associated with hyperparathyroidism, hypertriglyceridaemia, duct obstruction, trauma, morphological anomalies (pancreas divisum), autoimmune pancreatitis, and hereditary pancreatitis.^{6,7}

CHRONIC PANCREATITIS CLASSIFICATION: TIGAR-O

In 2001, the TIGAR-O classification system was published.⁸ This system is based on the mechanism of injury of pancreatic tissue, and addresses the risk, aetiology, and complexity of this disease. Chronic pancreatitis is a complex disorder that may involve the interaction of two or more environmental or genetic factors. The TIGAR-O model addresses this potential synergistic role of multiple risk factors in a single individual with chronic pancreatitis, and allows one to organise and assess the level of contribution of each of the interacting risk factors. Although critical information about different forms of chronic pancreatitis is not fully available, the TIGAR-O system lays the foundation for further advancement in the field. The major categories include toxic-metabolic (T), idiopathic (I), genetic (G), autoimmune (A), recurrent severe acute pancreatitis (R), and obstructive (O) mechanisms. The TIGAR-O classification also organises the aetiologies, in general, by prevalence.

Toxic and metabolic factors

Alcohol

An association between alcohol and chronic pancreatitis was first described by Comfort and colleagues more than 50 years ago.⁹ The logarithmic relationship between the risk of chronic pancreatitis and the amount of alcohol consumed was described. However, there is no apparent threshold value below which the disease does not occur. This makes it difficult to distinguish between low-threshold alcohol-induced pancreatitis and idiopathic chronic pancreatitis. The duration of alcohol consumption is also important. In general, prolonged alcohol intake is required for the development of chronic pancreatitis. In most patients, the onset of alcoholic chronic pancreatitis occurs after alcohol intake that exceeds 150 g/day for at least 10–15 years, or according to other authors more than 80 g/day for at least 10 years.¹⁰

It is observed that only a minority (~5%) of heavy drinkers develop chronic pancreatitis. Alcohol consumption is not an independent risk factor for chronic pancreatitis, it appears to be a cofactor associated with pancreatitis only in conjunction with a specific trigger, or other additional predisposing genetic or environmental factors. Based on epidemiological studies, there is evidence of a genetic basis in alcoholic pancreatitis. However, studies of mutations in the major alcohol-metabolising genes (e.g. aldehyde dehydrogenase), cationic trypsinogen gene, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene, or human leucocyte antigen (HLA) failed to identify an alcoholic pancreatitis-associated mutation.

The relationship between acute and chronic alcoholic pancreatitis has been debated. It was believed, on the basis of studies of natural history, that at the time of the initial attack of acute alcoholic pancreatitis there was already histological evidence of chronic disease. However, the studies of Ammann and associates, as well as the observations in families with hereditary pancreatitis, provide strong evidence that recurrent attacks of acute alcoholic pancreatitis precede chronic disease.¹⁰

Tobacco smoking

The independent causative effect of tobacco smoking on chronic pancreatitis has been confirmed in research studies, with odds ratios in the range 7.8–17.3.¹¹ The exact mechanism is unknown, although tobacco smoking inhibits pancreatic bicarbonate secretion in humans and hypothetically induces tissue ischaemia. The effects of tobacco smoking may also be potentiated by polymorphisms in the gene for uridine 5'-diphosphate (EDP) glucuronosyltransferase UGT1A7.¹² The risk of pancreatitis in patients with this gene was reported to be associated with alcohol drinking, but since the majority of these subjects smoked, it was not possible to determine which of these environmental factors was responsible. However, this family of enzymes is responsible for detoxifying complex products of tobacco smoke, so an association with tobacco smoking is more likely.

Idiopathic chronic pancreatitis

Idiopathic chronic pancreatitis is reported to account for 10–30% of all cases of chronic pancreatitis. The category of idiopathic chronic pancreatitis includes a number of well-described symptoms and also cases where an associated factor cannot be identified. As new genetic, environmental, and metabolic factors are discovered, the number of patients in this category is expected to diminish. Non-alcoholic chronic

pancreatitis has pathological characteristics distinct from those of alcoholic chronic pancreatitis, including T-lymphocytic infiltrates resulting in ductal obstruction and destruction and acinar atrophy and fibrosis.

Idiopathic chronic pancreatitis shows a bimodal pattern regarding age of onset. Early-onset idiopathic pancreatitis has a mean age of onset of around 20 years.¹³ Pain is the predominant feature of this disease, occurring in 90% of patients, whereas pancreatic calcifications, exocrine insufficiency, or endocrine insufficiency are extremely rare at presentation (<10%). Late-onset idiopathic pancreatitis has a mean age of onset of 56 years. It tends to follow a comparatively painless course associated with the frequent development of pancreatic calcifications and exocrine and endocrine insufficiency. Some authors found mutations in the gene for the serine protease inhibitor Kazal type I (SPINK1) in about 25% of patients with idiopathic chronic pancreatitis, mainly related to early-onset disease.^{14,15}

Minimal-change chronic pancreatitis refers to the syndrome of severe abdominal pain, which is presumed to be pancreatic in origin with minimal changes on imaging studies. Minimal-change chronic pancreatitis is most often seen in middle-aged women.

Tropical pancreatitis is considered to be a type of idiopathic chronic pancreatitis occurring in tropical areas. It is the most common form of chronic pancreatitis in certain areas of India, and is generally a disease of youth and early adulthood.¹⁶ The exact aetiology of tropical pancreatitis remains unknown.

Genetic predisposition

Genetic disorders can occur through mutations in different disease-associated gene classes. Disease-causing genes refer to dominant mutations in a single allele that cause the disease (gain-of-function mutations, e.g. R122H mutation in hereditary pancreatitis) or to recessive mutations in both alleles of a single gene (Δ F508 deletion in typical cystic fibrosis). Susceptibility genes are genes with mutations that alone are not disease-causing, but increase the risk of disease and confer unique phenotypic features (SPINK1 mutations in chronic pancreatitis).^{17,18} Finally, the modifier-of-response genes refer to mutations that alone are not disease-causing but which alter the course of an established disease by determining the severity and complications.^{19,20} Some modifier gene mutations may represent relatively common polymorphisms that under special conditions contribute to the overall phenotypic features of pancreatitis.^{21,22}

Recurrent and severe acute pancreatitis

The association between recurrent acute and chronic pancreatitis is well established. Acute pancreatitis can lead to chronic pancreatitis. The aetiologies of recurrent acute pancreatitis and chronic pancreatitis are impressively similar. Therefore, several disorders characterised as causing acute pancreatitis may lead to progression to chronic pancreatitis.

Obstructive chronic pancreatitis

Obstructive chronic pancreatitis refers to a distinct entity produced by a (usually single) dominant narrowing of the main pancreatic duct. It is characterised by upstream ductal dilation, acinar cell atrophy, pancreatic tissue ischaemia, and diffuse fibrosis. A number of causes can produce obstructive chronic pancreatitis, such as trauma, intraductal

pancreatic stones, sphincter of Oddi dysfunction, papilla Vateri stenoses, pancreas divisum, and sequelae of acute pancreatitis. With early treatment of the obstructive process, histological and functional pancreatic changes are partially or fully reversible.

AUTOIMMUNE CHRONIC PANCREATITIS (AIP)

Autoimmune chronic pancreatitis is a distinct entity characterised by the presence of autoantibodies, elevated levels of immunoglobulins, and unique pathological features comprising a dense plasmatic and lymphocytic infiltrate and ductal destruction with acinar atrophy.²³ In 60% of cases, it is associated with other autoimmune diseases, such as primary sclerosing cholangitis, primary biliary cirrhosis, autoimmune hepatitis, Sjögren's syndrome, immune-mediated and other inflammatory disorders.^{24–29} It is important for the clinician to promptly make the diagnosis of autoimmune chronic pancreatitis because it seems to respond to glucocorticosteroid treatment.³⁰ In the literature the incidence of AIP ranges between 1.86% and 6.6% of chronic pancreatitis cases.^{31,32}

Most cases of AIP have involved patients in late adulthood; however, the disease affects a wide age range. Surgical series have reported a male/female ratio varying from 1.7/1.0 to 2.1/1.0.³²

CLINICAL FEATURES

Most cases of AIP are patients in late adulthood (mean age 56 years).^{32,33} Common presenting symptoms of AIP are abdominal pain, jaundice and weight loss. The pain intensity is typically mild, frequently described by patients as only 'abdominal discomfort'. Typical periods of acute pancreatitis are very rare.

AIP is frequently connected with other autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome,²⁴ inflammatory bowel disease,³² autoimmune hepatitis or primary sclerosing cholangitis.³⁴ Biochemical evaluation of the patients with AIP frequently reveals the elevation of immunoglobulin IgG, especially IgG4 and gammaglobulin.^{35,36} Antibodies to carbonic anhydrase II antigens are positive in 30–59%,³⁷ and lactoferrin antibodies were found in 50–76%.³⁸ Rheumatoid factor, perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody, antinuclear antibody (ANA), anti-mitochondrial antibody (AMA), anti-smooth-muscle antibody (ASMA) and anti-thyroglobulin are not consistently positive.^{39–41}

In patients with autoimmune chronic pancreatitis, mild malnutrition and impaired pancreatic endocrine and exocrine function were detected. Steroid therapy was occasionally effective for these conditions.⁴²

HISTOLOGICAL EVALUATION OF THE PANCREAS

The main features of AIP include a dense lymphoplasmatic infiltration of the pancreatic parenchyma with pancreatic tissue fibrosis.^{32,43,44} The changes associated with chronic alcoholic pancreatitis are not present. The lymphoplasmatic infiltration is typically located around small and large interlobular ducts,⁴⁵ but significant damage to pancreatic-duct epithelium is not seen regularly. A dense plasma-cell infiltrate is also typical of this condition. Another characteristic sign is the ductal involvement resembling the bile-duct damage in primary biliary cirrhosis.

The lymphocyte population is predominantly characterised by T lymphocytes.⁴⁵ More than 50% of cells are positive for CD4; according to other authors CD8⁺ cells

could be the predominant cells.²⁹ Intraductal neutrophilic infiltration is not always observed. There is no doubt that histological changes are not homogenous.⁴⁰ In a subgroup of cases the inflammation is confined to a periductal and interlobular location. In this case loss of acinar parenchyma is frequent, leading to ductal changes (ductal AIP, AIP-PD), and the latter are predominantly lobular changes (lobular AIP, AIP-PL).

Periphlebitis and obliterative phlebitis are variably present, and arteritis is seen very rarely.^{44,46}

Important histological criteria for the diagnosis of AIP in the absence of signs usually associated with alcoholic chronic pancreatitis are pancreatic tissue necrosis and very rarely pancreatic pseudocysts or calcifications.^{33,44,47,48} Interstitial fibrosis with acinar atrophy is another characteristic pathological feature.

RADIOLOGICAL FEATURES

Typical cases of autoimmune pancreatitis show a diffuse enlargement of the pancreas—the so-called ‘sausage-like’ appearance—on computed tomography (CT), ultrasound (US) and magnetic resonance imaging (MRI). On dynamic CT and MRI, there is delayed enhancement of the swollen pancreatic parenchyma.^{49,50} Since inflammatory and fibrotic changes involve the peripancreatic adipose tissue, a capsule-like rim surrounding the pancreas, which appears as a low-density region on CT and as a hypodense area on T2-weighted MRI, is detected in some cases.⁵¹ US shows an enlarged hypoechoic pancreas with hyperechoic spots. Pancreatic calcification or pseudocysts are seldom observed. Some cases show a focal enlargement of the pancreas, similar to that seen with pancreatic cancer. On endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP), an irregular, narrow (<3 mm in diameter) main pancreatic duct is seen diffusely throughout the pancreas. In some cases there is segmental narrowing of the main pancreatic duct, but the upstream dilatation of the distal pancreatic duct is mild or moderate compared to that in cases of pancreatic carcinoma. The bile-duct strictures that develop with AIP can mimic strictures seen in pancreatic carcinoma, cholangiocarcinoma, ‘benign’ primary sclerosing cholangitis, chronic pancreatitis, and almost any cause of obstructive jaundice. More helpful than the appearance of the pancreatic or bile duct is the presence of migrating and/or fleeting strictures that are uncommon for most forms of pancreatobiliary disease other than AIP (Table I). Stenosis of the extrahepatic or intrahepatic bile duct is sometimes observed.^{38,52,53} Marked thickening of the wall of the extrahepatic bile duct or gallbladder is sometimes detected on US or endoscopic ultrasound (EUS). New data are emerging supporting the utility of EUS imaging and tissue acquisition via fine-needle aspiration biopsy (FNAB) for addressing new criteria for AIP diagnosis. The most characteristic EUS finding is diffuse (sausage-shaped) pancreatic enlargement

Table I. Autoimmune chronic pancreatitis (AIP) versus alcoholic chronic pancreatitis (ACP): radiological imaging.³⁸

	AIP	ACP
Direct pancreatogram	Duct narrowing	Duct dilatation
Pseudocyst	Rare	Common
Calcification or stone	Rare	Common
Pancreatic parenchyma	Enlargement	Atrophy

with a hypoechoic, coarse, patchy, heterogeneous appearance.⁵⁴ However, there may be significant overlap between the appearances of AIP and other pancreatic disorders. EUS may also reveal an isolated or multiple mass lesions that can mimic 'unresectable' ductal carcinoma. Other less common EUS features include glandular atrophy, calcification, cystic spaces, features of non-specific chronic pancreatitis, or even a normal gland. Unfortunately, there are no pathognomonic EUS findings for AIP. Furthermore, while a few features are characteristic of AIP, none has proven useful in isolation to diagnose AIP, and their presence in other pancreatic disorders is common. The lack of pathognomonic features and the diverse spectrum of EUS findings limit the utility of EUS imaging alone. This has driven the pursuit of safe methods for obtaining tissue to enhance diagnostic accuracy. Magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) does not adequately show the narrow portion of the main pancreatic duct, but it can adequately demonstrate stenosis of the bile duct with dilatation of the upper biliary tract. Abdominal, cervical, and hilar lymphadenopathy is sometimes detected on CT.

EXTRAPANCREATIC LESIONS: PROPOSAL OF IGG4-RELATED SCLEROSING DISEASE

Patients with autoimmune pancreatitis frequently have extrapancreatic lesions. Prominent extrapancreatic lesions in the Kamisawa study⁵⁵ of 32 patients with autoimmune pancreatitis were sclerosing cholangitis—*intrahepatic* ($n = 4$) and *extrahepatic* ($n = 24$), sclerosing sialadenitis ($n = 6$), retroperitoneal fibrosis ($n = 4$), swelling of lacrimal glands ($n = 1$), pseudotumour of the lung ($n = 1$), and lymphadenopathy—*abdominal* ($n = 5$) and *cervical* ($n = 6$). Histopathological findings of these extrapancreatic lesions were lymphoplasmacytic infiltration with fibrosis and obliterative phlebitis, similar to those of the pancreas. Furthermore an abundant infiltration of IgG4-positive plasma cells together with CD4- or CD8-positive T lymphocytes was observed in the various organs of patients with autoimmune pancreatitis, including the pancreas, peripancreatic retroperitoneal tissue, biliary tract, periportal area of the liver, salivary glands, gastric mucosa, and lymph nodes, but an abundant infiltration of IgG4-positive plasma cells was not detected in the organs of patients with other diseases.⁵⁶ Authors suggest that autoimmune pancreatitis is not simply a pancreatitis, but that in fact it is a pancreatic lesion reflecting an IgG4-related systemic disease, and that in some cases one or two organs are clinically involved, while in others three or four organs are affected.

According to Zhang et al,⁵⁷ IgG4-positive plasma cells are a useful marker for the tissue diagnosis of autoimmune pancreatitis.

DIAGNOSTIC CRITERIA FOR AIP

The Japan Pancreas Society proposed 'Diagnostic Criteria for Autoimmune Pancreatitis, 2002' containing three items: (A) radiological imaging showing diffuse swelling of the pancreas and diffuse irregular narrowing of the main pancreatic duct (more than one third of the length of the entire pancreas); (B) laboratory data demonstrating abnormally elevated levels of serum gammaglobulin and/or IgG, or presence of autoantibodies; and (C) histological examination of the pancreas showing lymphoplasmacytic infiltration and fibrosis. For the diagnosis of autoimmune pancreatitis, all of the

criteria are present, or criterion A together with either criterion B or criterion C. The presence of the imaging criterion is essential for diagnosing autoimmune pancreatitis.²³

The Japanese Pancreas Society criteria for autoimmune pancreatitis are:

1. diffuse pancreatic enlargement;
2. diffusely irregular main pancreatic duct (MPD narrowing);
3. increased IgG (total);
4. autoantibodies (antinuclear antibody or rheumatoid factor);
5. fibrosis and lymphoplasmacytic infiltration.

Creation of the Japanese criteria was an important step in the diagnosis and management of patients with AIP. However, adoption of their criteria requires performance of sometimes unnecessary interventions such as mandatory pancreatography. Also, evolving or new discoveries—such as diagnostic histological criteria, atypical imaging findings, specific elevation of an IgG4 subclass, other organ involvement, and response to steroids—are not considered by the Japanese criteria. Therefore, their criteria are insufficient to recognise the full disease spectrum, thereby limiting diagnostic sensitivity. These limitations led Chari and colleagues⁵⁸ to establish the HISORt criteria that rely on histology, imaging, serology, other organ involvement, and response to steroid therapy. Incorporation of these criteria into a diagnostic algorithm has been shown to enhance diagnostic sensitivity without sacrificing specificity (Table 2).

According to the authors,⁵⁸ the diagnostics of AIP can be made in patients with one or more positive criteria on (a) diagnostic histology, (b) characteristic imaging on CT, MRCT, ERCP with IgG4 serum level in urease, or (c) response of pancreatic/extrap-pancreatic manifestations to steroids.

From a practical point of view, an important criterion for the diagnosis of AIP is the absence of features usually associated with alcoholic chronic pancreatitis, such as duct

Table 2. HISOR-t criterias of AIP.

Category	Criteria
Histological features	Diagnostic: (a) Periductal lymphoplasmacytic infiltrate with obliterative phlebitis (LPSF) in pancreatic tissue (b) High (>10 cells/hpf) IgG4 positive cells in the pancreas (c) Lymphoplasmacytic infiltrate with fibrosis in the pancreas
Imaging	1. CT/MR: diffusely enlarged gland with delayed enhancement 2. ERCP: Diffusely irregular, attenuated main pancreatic duct Atypical imaging features: Pancreatitis, focal pancreatic mass, focal pancreatic duct stricture, pancreatic atrophy
Serology	Elevated serum IgG4 level
Other organ involvement	Persistent distal biliary stricture, parotid/lacrimal gland involvement, mediastinal lymphadenopathy, retroperitoneal fibrosis
Steroid therapy	Resolution of pancreatic/extrapancreatic manifestation with steroid therapy

dilation with mucoprotein plugs, pseudocysts, autodigestive necrosis, and calcifications. However, in light of recent reports of pseudocysts and duct stones in AIP, these are not absolute exclusion criteria.

In differential diagnosis the most important disease that should be differentiated from autoimmune pancreatitis is pancreatic carcinoma.^{38,51,54} Clinically, patients with autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer share many features. As autoimmune pancreatitis responds dramatically to steroid therapy, an accurate diagnosis of autoimmune pancreatitis can avoid unnecessary laparotomy or pancreatic resection. Imaging findings such as a mass showing delayed enhancement and a capsule-like rim on dynamic CT or MRI, and a narrowing of the pancreatic duct associated with a less-dilated upstream pancreatic duct, and measurement of serum IgG4, are useful in differentiating the two diseases.

The typical radiological features for autoimmune pancreatitis published Kim et al.³⁸ Diffuse swelling of the pancreas and multiple pancreatic duct stricture are very common, upstream pancreatic duct dilatation is mild, but duct in the mass is frequently present.

Double duct sign is common sign in patients with autoimmune pancreatitis but in pancreatic cancer as well. In pancreatic cancer the typical radiological sign is complete cutoff of main pancreatic duct, main pancreatic stricture is localized (single stricture), very rare is diffuse swelling of the pancreas.

AIP THERAPY

Steroids are the first choice of therapy in patients with AIP. Improvement of the pancreatic swelling, pancreatic duct narrowing, and bile stricture have been seen,^{59–61} but a detailed steroid schedule has still not been established. The usual recommendation is an initial dose of prednisolone at 30–40 mg/day for 1–2 months and tapered by 5 mg every 2–4 weeks. Some recommend a long-term maintenance dose of 5–10 mg/day.⁶³ The response to steroid therapy can be observed within 2–4 weeks by imaging studies.⁵³

Obstructive jaundice could be associated with AIP. In this case stenosis of the intra-pancreatic common bile duct can be treated by bile-duct stenting.⁵³ In patients with AIP and with steroids, the stenosis of the bile duct usually resolves in 2–3 months, and the stent can be removed.

During or after the steroid therapy, laboratory parameters of AIP also improve; antibodies become undetectable, and hypergammaglobulinaemia and IgG levels decrease.³⁴

In our study we found AIP in six patients (4.7%) from 128 patients with formerly idiopathic pancreatitis. We found an extrapancreatic lesion autoimmune hepatitis in two patients, Sjögren's syndrome in one patient, sclerosing cholangitis in one patient, and primary biliary cirrhosis in one patient.⁶² All patients were treated with steroids, with functional recovery (Table 3).

Table 3. Set of patients with autoimmune pancreatitis.

Gender	Age	Antibodies	Other autoimmune diseases
Male	31	IgG4, ASMA, RF	Primary sclerosing cholangitis
Male	56	IgG4, ANA, PD	Autoimmune hepatitis
Male	43	IgG4, PD	Sjögren syndrome
Female	28	IgG4, PD, RF	Xxx
Female	35	IgG4, PD, RF	Primary biliary cirrhosis
Male	32	IgG4, ASMA, RF	Autoimmune hepatitis

PD, pancreatic duct; ANA, antinuclear antigen; RF, rheumatoid factor; ASMA, anti-smooth-muscle antigen.

In approximately half the AIP patients, steroid therapy has a beneficial effect on the clinical course of diabetes mellitus.⁶³

The long-term prognosis of AIP is not well known, and the relapse of AIP has been described.³⁴ Patients must be regularly examined at 12-month intervals.

CONCLUSION

During the last 10 years significant advances have been achieved in diagnosis, management and pathogenesis of autoimmune pancreatitis. The concept of AIP is becoming accepted.

Autoimmune pancreatitis is relatively rare form of chronic pancreatitis. On the other hand, AIP can be associated with other autoimmune diseases, and the correct diagnosis and correct therapy with steroids are crucial for the patient's follow-up. It seems that some patients with 'obstructive' chronic pancreatitis have been treated surgically because of incorrect diagnosis, but the long-term prognosis of this disease is still not well known.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

None declared.

Practice points

The characteristic findings in most cases of autoimmune pancreatitis are as follows:

- clinically no symptoms or mild symptoms; usually no attacks of acute pancreatitis.
- diffuse enlargement of the pancreas.
- diffusely irregular narrowing of the main pancreatic duct and occasional stenosis of the intrapancreatic bile duct on ERCP examination.
- lymphoplasmatic infiltration of the gland with fibrotic changes.
- presence of antibodies and increased level of IgG4.
- association with other autoimmune diseases.
- rarely, pancreatic calcifications and/or cysts.
- therapy with steroids is very effective.

ACKNOWLEDGEMENTS

This publication is part of a study project founded by IGA No: NR 843 I-3, Ministry of Health, Czech Republic.

REFERENCES

1. Andersen BN, Pedersen NT, Scheel J et al. Incidence of alcoholic chronic pancreatitis in Copenhagen. *Scand J Gastroenterol* 1982; **17**: 247–252.
2. De las Heras G & Pons F. Epidemiología y aspectos etiopatogénicos de la pancreatitis alcohólica crónica. *Res Esp Enferm Dig* 1993; **84**: 253–258.
3. Dite P, Starý K, Novotný I et al. Incidence of chronic pancreatitis in Czech Republic. *Eur J Gastroenterol* 2001; **13**: 749–750.

4. Lankisch PG, Assmus C, Maisonneuve P et al. Epidemiology of pancreatic diseases in Luneburg Country. A study in a defined German population. *Pancreatology* 2002; **2**: 469–477.
5. Navarro S & Soriano A. Epidemiology of chronic pancreatitis: an infrequent disease or an infrequently diagnosed disease? In Dominguez-Munoz JE (ed.). *Clinical Pancreatology for Practising Gastroenterologists and Surgeons*. Blackwell, 2004, pp. 187–191.
6. Sarner M & Cotton PB. Classification of pancreatitis. *Gut* 1984; **25**: 756–759.
7. Singer MV, Gyr K & Sarles H. Revised classification of pancreatitis. Report of the Second International Symposium on the Classification of Pancreatitis in Marseille, France, March 28–30, 1984. *Gastroenterology* 1985; **89**: 683–685.
- *8. Etemad B & Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; **120**: 682–707.
9. Comfort M, Gambill E & Baggenstoss A. Chronic relapsing pancreatitis. *Gastroenterology* 1946; **6**: 239–285.
10. Ammann RW. A clinically based classification system for alcoholic chronic pancreatitis: summary of an international workshop on chronic pancreatitis. *Pancreas* 1997; **14**: 215–221.
11. Lin Y, Tamakoshi A, Hayakawa T et al. Cigarette smoking as a risk factor for chronic pancreatitis: a case control study in Japan. *Pancreas* 2000; **21**: 109–114.
12. Ockenga J, Vogel A, Teich N et al. UDP glucuronosyl-transferase (UGT1A7) gene polymorphisms increase the risk of chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2003; **124**: 1802–1808.
13. Layer P & Di Magnho EP. Early and late onset in idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis. Different clinical courses. *Surg Clin North Am* 1999; **79**: 847–860.
14. Pfützer RH, Barmada MM, Brunskill AP et al. SPINK1/PSTI polymorphisms act as disease modifiers in familial and idiopathic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000; **119**: 615–623.
15. Cohn JA, Bornstein JD & Jowell PS. Cystic fibrosis mutations and genetic predisposition to idiopathic chronic pancreatitis. *Med Clin North Am* 2000; **84**: 621–631. ix.
16. Schneider A, Suman A, Rossi L et al. SPINK1/PRSI mutation are associated with tropical pancreatitis and type II diabetes mellitus in Bangladesh. *Gastroenterology* 2002; **123**: 1026–1030.
17. Whitcomb DC. Hereditary pancreatitis: new insights into acute and chronic pancreatitis. *Gut* 1999; **45**: 317–322.
18. Schneider A & Whitcomb DC. Hereditary pancreatitis: a model for inflammatory diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; **16**: 347–363.
19. Teich N, Mossner J & Keim V. Screening for mutations of the cationic trypsinogen gene: are they of relevance in chronic alcoholic pancreatitis? *Gut* 1999; **44**: 413–416.
20. Hanck C, Schneider A & Whitcomb DC. Genetic polymorphisms in alcoholic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; **17**: 613–623.
21. Teich N, Ockenga J, Keim V et al. Genetic risk factors in chronic pancreatitis. *J Gastroenterol* 2002; **37**: 1–9.
22. Witt H. Chronic pancreatitis and cystic fibrosis. *Gut* 2003; **52**(suppl 2): 31–41. ii.
23. Okazaki K & Chiba T. Autoimmune related pancreatitis. *Gut* 2002; **51**(1): 1–4.
24. Akahane C, Takei Y, Horiuchi A et al. A primary Sjogren's syndrome patients with marked swelling of multiple exocrine glands and sclerosing pancreatitis. *Intern Med* 2002; **41**: 749–753.
25. Ichimura T, Kondo S, Ambo Y et al. Primary sclerosing cholangitis associated with autoimmune pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; **49**: 1221–1224.
26. Abraham SC, Cruz-Correa M, Argani P et al. Lymphoplasmacytic chronic cholecystitis and biliary tract disease in patients with lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. *Am J Surg Pathol* 2003; **27**: 441–451.
- *27. Kamisawa T, Tu Y, Sasoki R et al. The relationship of salivary gland function to elevated serum IgG4 in autoimmune pancreatitis. *Intern Med* 2007; **46**(8): 435–439.
- *28. Watson SJ, Jenkins DA & Bellamy CO. Nephropathy in IgG4-related systemic disease. *Am J Surg Pathol* 2006; **30**(1): 1472–1474.
29. Hirano K, Shiratori Y, Komatsu Y et al. Involvement of the biliary system in autoimmune pancreatitis: a follow-up study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; **1**: 453–464.
- *30. Itto T, Nakano I, Koyanagi S et al. Autoimmune pancreatitis as a new clinical entity: three cases of autoimmune pancreatitis with effective steroid therapy. *Dig Dis Sci* 1997; **42**: 1458–1468.
31. Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H et al. Clinical difficulties in the differentiation of autoimmune pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2003; **98**: 2694–2699.

- *32. Zamboni G, Luttges J, Capelli P et al. Histopathological features of diagnostic and clinical relevance in autoimmune pancreatitis: a study on 53 resection specimens and 9 biopsy specimens. *Virchows Arch* 2004; **445**: 552–563.
33. Yadav D, Notahara K, Smyrk TC et al. Idiopathic tumefactive chronic pancreatitis: clinical profile, histology, and natural history after resection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; **1**: 129–135.
34. Hamano H. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; **344**(10): 732–738.
35. Kamisawa T. IgG4-related sclerosing disease incorporating sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. *Pancreatol* 2005; **6**: 132–137.
36. Zen Y, Harada K, Sasaki M et al. IgG4-related sclerosing cholangitis with and without hepatic inflammatory pseudotumor, and sclerosing pancreatitis-associated sclerosing cholangitis: do they belong to a spectrum of sclerosing pancreatitis? *Am J Surg Pathol* 2004; **28**: 1193–1203.
37. Kino-Ohsaki J, Nishimori I, Morita M et al. Serum antibodies to carbonic anhydrase I and II in patients with idiopathic chronic pancreatitis and Sjögren's syndrome. *Gastroenterology* 1996; **110**: 1579–1586.
- *38. Kim KP, Kim MH, Song MH et al. Autoimmune chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2004; **99**: 1605–1619.
39. Uchida K, Okazaki K, Konishi Y et al. Clinical analysis of autoimmune-related pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2000; **95**: 2788–2794.
40. Deshpande V, Mino-Kunudson M, Brugge W et al. Autoimmune Pancreatis-More than just a pancreatic disease? *Arch Pathol Lab Med* 2005; **129**: 1148–1154.
41. Yoshida K, Toki F & Takeuchi T. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality: proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; **40**: 1561–1568.
42. Kamisawa T, Kakamura T, Egawa N et al. Digestion and absorption of patients with autoimmune pancreatitis. *Hepato-Gastroenterology* 2006; **53**: 138–140.
43. Notohara K, Burgart LJ, Yadav D et al. Idiopathic chronic pancreatitis with periductal lymphoplasmacytic infiltration: clinicopathologic features of 35 cases. *Am J Surg Pathol* 2003; **27**: 1119–1127.
44. Kawaguchi K, Koike M, Tsuruta K et al. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis with cholangitis: a variant of primary sclerosing cholangitis extensively involving pancreas. *Hum Pathol* 1991; **22**: 387–395.
- *45. Okazaki K, Uchida K, Ohana M et al. Autoimmune-related pancreatitis is associated with autoantibodies and a Th1/Th2-type cellular immune response. *Gastroenterology* 2000; **118**: 573–581.
46. Weber SM, Cubukcu-Dimopulo O, Palesty JA et al. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis: inflammatory mimic of pancreatic carcinoma. *J Gastrointest Surg* 2003; **7**: 129–137.
47. Takayama M, Hamano H, Ochi Y et al. Recurrent attacks of autoimmune pancreatitis result in pancreatic stone formation. *Am J Gastroenterol* 2004; **99**: 932–937.
- *48. Sahani DV, Kalva SP, Farrell J et al. Autoimmune pancreatitis: imaging features. *Radiology* 2004; **233**: 345–352.
49. Welsch T, Kluff J, Esposito I et al. Autoimmune pancreatitis associated with a large pancreatic pseudocyst. *World J Gastroenterol* 2006; **12**(36): 5904–5906.
50. Procacci C, Carbognin G, Biasiutti C et al. Autoimmune pancreatitis: possibilities of CT characterisation. *Pancreatol* 2001; **1**: 246–253.
- *51. Kamisawa T, Naoto E, Hitoshi N et al. Comparison of radiological and histological features in autoimmune pancreatitis. *Hepato-Gastroenterology* 2006; **53**(72): 953–956.
52. Van Buuren HR, Vugjaar FP, Erozelen W et al. Autoimmune pancreatocholangitis: a series of ten patients. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2006; **243**: 70–78.
53. Horiuchi A, Kawa S, Hamano H et al. ERCP features in 27 patients with autoimmune pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2002; **55**: 494–499.
54. Farrell JJ, Garber J, Sahani D et al. EUS finding in patients with autoimmune pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2004; **60**: 927–936.
55. Kamisawa T. Extrapancratic lesions in autoimmune pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; **39**: 904–907.
56. Chen RY & Adams DB. IgG4 levels in non-Japanese patients with autoimmune sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2002; **346**: 1919.
57. Zhang L, Notohara K, Levy MJ et al. IgG4-positive plasma cell infiltration in the diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Mod Pathol* 2007; **20**(1): 23–28.
58. Chari ST, Smyrk TC, Levy MJ et al. Diagnosis of autoimmune pancreatitis: the Mayo Clinic experience. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; **4**(8): 1010–1016.

59. Tanaka S, Kobayashi T, Nakanishi K et al. Corticosteroids-responsive diabetes mellitus associated with autoimmune pancreatitis. *Lancet* 2000; **356**: 910–911.
60. Czako L, Hegykozi E, Palinkas A et al. Autoimmune pancreatitis: functional and morphological recovery after steroid therapy. *World J Gastroenterol* 2006; **12**(11): 1810–1812.
61. Erkelens GW, Vleggaar FP, Lesterhuis W et al. Sclerosing pancreato-cholangitis responsive to steroid therapy. *Lancet* 1999; **354**: 43–44.
- *62. Dítě P, Ševčíková A, Novotný I et al. Autoimmune pancreatitis in Czech republic—region of South Moravia. *Czech Slovak Gastroenterol Hepatol* 2007; **61**(1): 82–85.
63. Nishimari I, Tamakoshi A, Kawa S et al. Influence of steroid therapy on the course of diabetes mellitus in patients with autoimmune pancreatitis: findings from a nation wide survey in Japan. *Pancreas* 2006; **32**(3): 244–248.

2.2.6.1. Pankreatický karcinom a autoimunitní pankreatitida

Vzhledem k relativně krátkému času od popisu AIP a její relativní vzácnosti je zatím jen málo údajů o vývoji při dlouhodobém sledování včetně výše rizika rozvoje PC. Vzhledem k přítomnosti chronického zánětu lze i v případě AIP zvýšení rizika karcinogeneze předpokládat. Dle některých prací mají pacienti s AIP v průběhu dispenzarizace zvýšené riziko diagnózy nejen PC ale i řady dalších malignit, které jsou dle práce japonských autorů často diagnostikovány v průběhu prvního roku sledování (55). Tito autoři popsali též zajímavý fenomén - u některých pacientů AIP odezněla po úspěšné léčbě malignity. Z tohoto důvodu je zvažována možnost AIP jako paraneoplastického projevu.

Výrazně vyšší incidenci malignit u pacientů s AIP ve srovnání s běžnou populací (5/28 = 17,9 %) v průběhu dlouhodobého sledování prokázala též studie německých autorů (56). Není též jasné, jak významně AIP zvyšuje riziko PC v porovnání s jinými podtypy ChP. Dle některých prací je riziko statisticky podobné, i když s trendem k vyšší četnosti PC ve skupině AIP – (AIP 4,8% (3/63) oproti 2,4% (1/41) ve skupině ChP) (57). Autoři zdůrazňují nutnost důsledné dispenzarizace pacientů s AIP. Podobně varovných výsledků dosáhla studie porovnávací prevalence PanIN (jakožto premaligních lézí) mezi resekaty z 28 případů AIP a 30 případů ChP jiné etiologie. Četnost PanIN lézí byla statisticky srovnatelná a dokonce s trendem k vyšší četnosti u pacientů s AIP (PanIN obecně 82 % u AIP oproti 63 % u ChP, PanIN 2 léze 25 % u AIP oproti 20 % u ChP) (58).

Opačných výsledků dosáhla multicentrická studie pod vedením Mayo Clinic zahrnující 23 institucí z 10 zemí, která hodnotila data 1064 pacientů s AIP. Tato práce neprokázala

výrazné zvýšení rizika vzniku malignity u pacientů s AIP. V průběhu sledování rozsáhlého souboru pacientů bylo diagnostikováno pouze 57 malignit a z toho pouze 5 případů PC, což představuje 0,8%. Autoři však upozorňují na nutnost dalšího výzkumu (59). Podobných závěrů dosáhla detailní analýza souboru 116 pacientů sledovaných s AIP přímo na Mayo Clinic, která hodnotila i četnost malignit diagnostikovaných těsně před nebo po stanovení diagnózy AIP. Ve skupině pacientů s AIP byla malignita před diagnózou AIP zjištěna u 10,3 %, zatímco v kontrolní skupině byla malignita objevena u 17,4 %. Ani v průběhu 3-letého sledování nebylo riziko rozvoje malignity u pacientů s AIP vyšší než u kontrol (60). Konečně recentní přehledová práce z roku 2016 našla mezi hodnocenými studiemi incidenci rozvoje PC v průběhu dispenzarizace pacientů s AIP mezi 0 % a 4,8 % (61).

Zvýšené riziko extrapankreatických nádorů, které některé práce popisují, bývá dáváno do souvislosti se systémovým charakterem IgG4 mediovaných chorob, kam patří i AIP. Studie japonských autorů našla u cca 14 % pacientů s AIP extrapankreatickou malignitu. Cca polovina byla zjištěna ve stejnou dobu jako AIP. Většina z pacientů po úspěšné léčbě malignity neměla relaps AIP. AIP tak může být považována za paraneoplastický projev při malignitou alterovaných imunitních odpovědích (62). I v tomto případě však existují studie předkládající protichůdná data nenacházející zvýšené riziko malignit u pacientů s IgG4 mediovanými chorobami (63). Situace je tudíž nejasná a vyžaduje další výzkum.

Na možnost současně přítomné AIP a PC poukazuje zajímavá práce pražských autorů. Retrospektivně byla analyzována dokumentace a resekáty pacientů operovaných v IKEM mezi lety 2000 a 2013 pro suspektní PC. Z 295 resekátů byla AIP diagnostikována v 15 případech (5,1 %) a 6 z nich (40 % této skupiny) mělo zároveň prokazatelné buňky adenokarcinomu. Dle názoru autorů tudíž ani předoperační diagnóza AIP 100% nevyklučuje možnost PC (64).

Podobný případ publikovala jako kazuistické sdělení i naše výzkumná skupina. Jednalo se o případ 40-letého muže řešeného pro obstrukční ikterus. Dle nálezů zobrazovacích metod a elevace IgG4 byla diagnóza uzavřena jako AIP. Drenáž žlučových cest byla zajištěna duodenobiliárním drénem a pacientovi byly nasazeny kortikoidy. V průběhu sledování však nedošlo ke zlepšení stavu, při reobjektivizaci bylo zjištěno ložisko hlavy

pankreatu a metastázy v játrech. Pacient následně zmírá pod obrazem generalizace PC. Histologicky byl prokázán středně diferencovaný generalizovaný adenokarcinom pankreatu v terénu AIP. I tento případ podtrhuje nutnost důsledného sledování pacientů se suspektní AIP vzhledem k existujícímu riziku koincidence či vzniku PC v průběhu času.

Ševčíková A, Novotný I, Hermanová M, Procházka V, Trna J, Dítě P. Akutní pankreatitida jako první symptom karcinomu pankreatu v terénu difuzní autoimunní pankreatitidy. Buletín HPB 2008;16(3):39-40.

(publikovaná kazuistika - kvantitativní podíl uchazeče 10 % - vyhledávání a analýza literatury, podíl na léčbě pacienta)

Ševčíková A, Novotný I, Hermanová M, Procházka V, Trna J, Dítě P. Acute pancreatitis as a first symptom of pancreatic cancer in a diffuse autoimmune pancreatitis patient. Scripta Medica Facultatis Medicae Universitatis Brunensis Masarykianae 2009;82(4):249-251.

(publikovaná kazuistika - kvantitativní podíl uchazeče 10 % - vyhledávání a analýza literatury, podíl na léčbě pacienta)

BRNĚNSKÝ PANKREATOLOGICKÝ DEN

Akutní pankreatitida jako první symptom karcinomu pankreatu v terénu difuzní autoimunní pankreatitidy

Ševčíková A¹, Novotný I¹, Hermanová M³, Procházka V², Trna J¹, Dítě P¹

¹Interní hepatogastroenterologická klinika, FN Brno - Bohunice / Přednosta: prof. MUDr. Jan Lata, CSc.

²Chirurgická klinika, FN Brno – Bohunice / Přednosta: prof. MUDr. Zdeněk Kala, CSc.

³l. patologicko-anatomický ústav LF MU a FN u sv. Anny, Brno / Přednosta: doc. MUDr. Markéta Hermanová, PhD.

■ Úvod

Autoimunní forma chronické pankreatitidy (AIP) je nejčastěji spojena s jinými autoimunními nemocemi (cca v 50 %, nejčastěji s diabetem, primární sklerozující cholangitidou, sjorgenovým syndromem, nespecifickými střevními záněty, intersticiální nefritidou, retroperitoneální fibrózou), vzácněji se objevuje jako forma izolovaná. Představuje v současnosti 4 – 7 % všech chronických pankreatitid. Postihuje sice obě pohlaví, ale více muže – v poměru 2:1. Typickým bývá výskyt nemoci u středních a starších věkových skupin, tj. osoby starší 45 let, a s věkem incidence přibývá. Symptomy výrazné nejsou, objevují se spíše pocity plnosti, dyskomfort horního GITu, bezbolestný ikterus. Bolesti typické pro tento typ pankreatitidy nejsou. Pseudocysty obvykle nevznikají, lithiasa v pankreatických vývodech není typická a většinou chybí – je ale otázkou, zda její přítomnost neznáčí pozdní změny. K diagnostice je třeba morfologický nálezn [počítačová tomografie (CT), endosonografické vyšetření (EUS), kde jsou nálezy typické], soubor protilátek např. ASMA (protilátka proti hladkému svalstvu), RF (revmatoidní faktor), ANA (antinukleární protilátka), IgG4, protil. proti laktoferinu, anti-carbonyl anhydráza II – ovšem žádná není dostatečně specifická pro pankreas, současně jsou pravděpodobně i geografické odlišnosti v pozitivitě protilátek a histologie. Mnoho pacientů odpovídá na léčbu kortikoidy, což je také řadou pracovišť považováno za součást pozitivní diagnostiky této formy pankreatitidy (KIM kritéria, HISORT kritéria). Slinivka po terapii vykazala v řadě případů známky normalizace.

Histologie prokazuje infiltraci lymfocyty-CD4,CD8, plazmatickými buňkami, makrofágy. Infiltrace vede k destrukci epitelu a vzniku periduktální fibrózy, základní komponentou jsou zde stellátové buňky. V parenchymu pak mohou být různě těžká postižení v různých místech.

Je třeba zdůraznit, že rozlišujeme dvě morfologické formy autoimunní pankreatitidy. Difuzní forma – postižení bývá označováno jako klobásovitě („sausage-like“) zvětšení celé slinivky, s hypervaskularizací, nerovnostmi pankreat. vývodu, nerovnostmi event. i stenózou intrapancreatické části choledochu, uzlinami v okolí. Lymfoplazmatická infiltrace je difuzně rozložena. Fokální postižení se až v 80 % objevuje v hlavě pankreatu. Právě tato forma je formou diferenciatně diagnosticky obtížnou vzhledem

k zásadní podobnosti s karcinomem pankreatu. V našem kauzistickém sdělení si dovoluujeme uvést případ čtyřicetiletého pacienta s autoimunní pankreatitidou, poměrně krátkou anamnézou potíží, končící letálně pod obrazem generalizace adenokarcinomu.

■ Kazuistika

Pacient dle anamnézy prodělal běžné dětské nemoci, s ničím sledován nebyl, do prvních potíží pravidelnou medikací neměl, neval tuberkulózu či infekční hepatitidu, před lety byla provedena appendektomie a operace Achillovy šlachy. Otec potíže se slinivkou měl, ovšem blíže nebyl vyšetřen ani sledován. Pacient až na cílené dotazy přiznal mírné tlakové bolesti břicha několik posledních let, nicméně nebyly závažné, proto jim nevěnoval pozornost. V létě 2005 byl poprvé vyšetřen a hospitalizován na jiném pracovišti pro bezbolestný ikterus. Při ERCP (endoskopická retrográdní cholangio-pankretikografie) zjištěna cca 2 cm stenóza distálního choledochu asi 1,5 cm nad papilou, s prestenotickou dilatací (na 18 mm). Postupně byly zavedeny duodeno-biliární drény (2x vycestovalé), provedeno CT, MR (magnetická rezonance) a EUS (opět na jiných pracovištích). Dle endosonografie bylo vysloveno podezření na ložiskový proces v hlavě pankreatu a pro suspekci na hereditární pankreatitidu byl odeslán přes chirurgii na naše pracoviště ke konzultaci (2/06).

U nás byla postupně provedena řada vyšetření: (3/06) genetiký screening mutací v genech SPINK, PRSS1 a CFTR, s negativním nálezem. Odebrané protilátky s vyšší hladinou IgG4- 1,9, ENA hraniční nález, ostatní v normě (ASMA, protilátka proti pankreatickým vývodům, RF), onkomarkery – CEA, Ca 19-9 v normě. ENS (první v pořadí, 3/06) – bez typických známek pro chronickou pankreatitidu na parenchymu pankreatu, hypoechogenní – tmavý – parenchym. d. pancreaticus jako při jasné chronické pankreatitidě, lymfadenopatie v okolí hlavy do 15 mm, DBD in situ, obraz slinivky odpovídá difuznímu edému – difuzní pankreatitidě, dif. dg. autoimunní pankreatitida, bez zřejmého ložiska. Ultrasonografie břicha (provedeno opakovaně – celkem 8x, se stejným nálezem, první v řadě 4/06) pankreas: bez ložisek, d. pancreaticus rozšířen v oblasti těla na 5mm, zrnitá echogenita stěny, echogenita parenchymu je snížena...hypoechogenní parenchym pankreatu, dilatace d.p. v těle na 6 mm...chronická

pankreatitida, přetrvává stacionární dilatace d.pancreaticus. ERCP: (opět provedeno opakovaně, dohromady 5x, první v řadě 4/06) stenóza dist. choledochu, pankreatogenní, stp. PST (papi-losfinkterotomii), stenotizace D2, stp. DB drenáží, zaveden nový.

Nález na EUS, dosavadní průběh a pozitivita některých protilátek podpořila diagnózu autoimunní pankreatitidy, za hospitalizace byly pacientu nasazeny kortikoidy, v dávce 40 mg denně, dávka byla snižována klasicky o 5 mg za týden, na 3 týdny ponechána dávka 20 mg, pak postupně snížena až do vysazení. 6/06 rozvoj diabetu s nutností intenzifikovaného inzulínového režimu. Pacient byl opakovaně hospitalizován na naší klinice (celkem 7x) k předrénování DBD, akutně pro febrilie, dekompenzaci diabetu nebo k běžným plánovaným kontrolám. Nález na slinivce se i přes medikaci kortikoidy neměnil, proto bylo přistoupeno k provedení punkce pankreatu metodou FNA (fine needle aspiration) pod endosonografickou kontrolou, k ověření diagnózy autoimunní pankreatitidy (11/06). Pacient se dostavil k hospitalizaci bez větších potíží, bez bolestí břicha, afebrilní, punkce proběhla bez komplikací, pac. byl propuštěn do domácího prostředí po vyloučení krvácivých komplikací – jak je zvykem. V cytologickém materiálu byly prokázány stínovité struktury nekrotické tkáně a hojný leukocytární infiltrát – t. j. obraz akutní pankreatitidy. Zcela ojediněle byly zastíhny neatypické acinární epitelie a plachtovité trsy duktálních epitelíí bez známek dysplazie. Pacient se dostavil do ambulance týden po provedení punkce pro akutní zhoršení stavu, s asi 3 dny trvající anamnézou febrilií, bolestí zad, celkově schvácný. S obrazem těžké akutní pankreatitidy byl akutně přijat k nám na kliniku, na provedeném ultrazvuku břicha byla popsána formace u hlavy pankreatu (mezi žaludkem a slinivkou) 6x5x4 cm, týž den měl provedeno i CT: ... játra nejsou zvětšena, mají hrubší nepravidelou strukturu, postkontrastně nerovnoměrné sycení, těsně pod bránicí v S8 je na kontuře hypodenzní ložisko vel. 26 mm, ložisko není dobře ohraničené, oblast pankreatu je podstatě patol. změněna... na přechodu hlavy a těla vzniká obraz kulovité formace o průměru 6 cm, směrem nahoru pokračuje pruhy širě asi 3 cm ...kaudálně od pankreatu je nepravidelý infiltrát, který zcela obkružuje odstup AMS ...šíří se podél, není ohraničený, vůbec od něj nelze odlišit duodenum ...vede k odstupu tr. celiakus, celková velikost je min. 6-7 cm. Pacient byl převeden na enterální výživu, punkce pod CT již pro zhoršení kontraindikována. Stav uzavřen jako inoperabilní tumor pankreatu s generalizací, pacient byl opakovaně rehospitalizován, domluvená onkologická paliativní terapie již neuskutečněna. Pacient zemřel u nás na klinice 13. 3. 2007.

Při pitvě byla prokázána infiltrace hlavy pankreatu strukturami středně diferencovaného duktálního adenokarcinomu s šířením do peripankreatické tukové tkáně, s karcinomatózou omenta, mnohočetnými metastázami karcinomu v obratlových tělech (L1 a L3), v játrech a lymfatických uzlinách peripankreaticky, v porta hepatis a podél břišní aorty.

■ Diskuze

Fokální forma autoimunní pankreatitidy, přiléhavě anglicky označená jako „mass-forming pancreatitis“, se objevuje až v 80 % v hlavě pankreatu. Odlišení od adenokarcinomu je tedy zásadní,

nicméně i při možnostech využití nejmodernějších vyšetřovacích metod velmi problematická. Diferenciální diagnostika k rozlišení fokální formy AIP a adenokarcinomu je v popředí zájmu. Reference na přítomnost adenokarcinomu v difúzní formě AIP ale hojně nejsou. Jak i z našeho sdělení vyplývá, zásadní roli (samořejmě především u fokální formy onemocnění) má endosonografické vyšetření a pod endosonografií provedená biopsie. Toto si dovoluujeme tvrdit i přesto, že právě v našem případě byl materiál odečten jako obraz akutní pankreatitidy, ve kterém nebylo možné identifikovat morfologické elementy, typické pro autoimunní formu nemoci. Bouřlivý průběh nemoci našeho pacienta si vysvětlujeme, za podpory některých spíše kauzálních sdělení, objevením se nádorových změn v terénu autoimunního postižení.

Klinické symptomy AIP nebývají příliš výrazné. Bolesti nejsou časté, objevují se spíše pocity plnosti, dyskomfort horního GITu, bezbolestný ikterus. Akutní nekrotizující pankreatitida nepatří jistě do typického průběhu AIP, nicméně v literatuře jsou odkazy a kazuistická sdělení o akutní pankreatitidě jako prvním příznaku karcinomu pankreatu, což předpokládáme, že byl i případ našeho pacienta.

K diskuzi je také objevení se diabetu v poměrně krátké době před diagnózou karcinomu, námi v té době uzavřen jako steroidní diabetes. Diabetes mellitus je v poslední době hodnocen jako jeden z faktorů, který má přímou souvislost se vznikem pankreatického karcinomu a zvyšuje se počet případů, kdy nově vzniklý atypický diabetes byl jeho prvním příznakem.

Literatura

- *Okazaki K. Autoimmune Pancreatitis: Etiology, Pathogenesis, Clinical Findings and Treatment. The Japanese Experience. JOP. J Pancreas (online) 2005, 6(1 suppl.): 89-96
- *Kloppel G et al. Autoimmune pancreatitis: Pathological Findings. JOP. 2005 Jan 23., 6 (1suppl):97-101
- *Sahani DV, Kalva SP, Farrell J et al. Autoimmune pancreatitis: imaging features. Radiology. 2004 Nov., 233 (2):345-52. Epub 2004 Sep.
- *Nishino T, Toki F et al. Biliary tract involvement in autoimmune pancreatitis. Pancreas. 2005 Jan, 30(1): 76-82
- *Nakazawa T, Ohara H, Sano H et al., Clinical differences between primary sclerosing cholangitis and sclerosing cholangitis with autoimmune pancreatitis. Pancreas. 2005 Jan., 30 (1):20-5
- *Morana G et al, Autoimmune Pancreatitis: Instrumental Diagnosis, JOP.2005 Jan 13., 6 (1 suppl):102-7
- *Kamizawa T, Egawa N, Nakajima H et al. Morphological changes after steroid therapy in autoimmune pancreatitis. Scand J Gastroenterol. 2004 Nov., 39 (11):1154-58
- *Chari ST, Smyrk TC, Levy MJ, Topazian MD, Takahashi N, Zhang L, Clain JE, Pearson RK, Petersen BT, Vege SS, Farnell MB. Diagnosis of autoimmune pancreatitis: the Mayo Clinic experience. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006 Aug;4(8):1010-6; quiz 934. Epub 2006 Jul 14
- *Kim KP, Kim MH, Kim JC, Lee SS, Seo DW, Lee SK. Diagnostic criteria for autoimmune chronic pancreatitis revisited. World J Gastroenterol. 2006 Apr 28;12(16):2487-96.
- *Chari ST, Smyrk TC, Levy MJ, Topazian MD, Takahashi N, Zhang L, Clain JE, Pearson RK, Petersen BT, Vege SS, Farnell MB. Diagnosis of autoimmune pancreatitis: the Mayo Clinic experience. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006 Aug;4(8):1010-6; quiz 934. Epub 2006 Jul 14.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. A. Ševčíková
IGEK, FN Brno – Bohunice
Jihlavská 20, 625 00 Brno
tel.: +420 532 232 853

ACUTE PANCREATITIS AS A FIRST SYMPTOM OF PANCREATIC CANCER IN A DIFFUSE AUTOIMMUNE PANCREATITIS PATIENT

Ševčíková A., Novotný I., Hermanová M., Procházka V., Trna J., Dítě P.

Department of Internal Medicine and Hepatogastroenterology, Faculty of Medicine, Masaryk University and Faculty Hospital, Brno

Received after revision September 2009



KEY WORDS

Hepaticojejunoanastomosis
Abdominal ultrasound
Complications
Stenosis
Cholangitis



CORRESPONDING AUTHOR

Ševčíková A.
Department of Internal Medicine and
Hepatogastroenterology, Faculty of Medicine,
Masaryk University and Faculty Hospital, Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
Czech Republic

INTRODUCTION

Autoimmune pancreatitis (AIP) is a unique form of chronic pancreatitis that can be defined as a chronic inflammation of the pancreas due to an autoimmune mechanism showing in most of the cases reversible improvement of pancreatic morphology and function with oral steroid therapy [1]. AIP represents 4% to 6% of all chronic pancreatitis cases [2]. AIP can be divided into two forms – focal and diffuse. The focal form of autoimmune pancreatitis, also called mass-forming pancreatitis, is found in the head of the pancreas in about 80% of all cases; therefore it can be easily misdiagnosed from adenocarcinoma [2, 3]. However, there are no references reporting on the presence of adenocarcinoma in the diffuse form of AIP [4].

We report on a case of a male patient with diffuse form of AIP, with a relatively short history of clinical symptoms, complicated by invasive ductal pancreatic adenocarcinoma with fatal clinical outcome.

CASE REPORT

A 40-year-old man, complaining of slight pressure pain in the abdomen for several years, was admitted to another local hospital in summer 2005 for painless icterus. The ERCP (endoscopic retrograde cholangiopancreatography) revealed a stenosis (of 2 cm in length) of the distal choledochus with prestenotic dilatation. It was solved by duodenobiliary drainage (DBD). Examinations were then completed in autumn 2006 in FHB (Faculty Hospital Brno). MRI (magnetic resonance), CT (computed tomography), and EUS (endoscopic ultrasonography) were performed, showing the typical sausage-like morphology of the pancreas. The level of IgG4 was found to be elevated: 1,9 (0.07–1.4), the levels of the oncomarkers (CEA, Ca 19–9) were normal (as well as 4 times during the whole follow-up of the patient). A diagnosis of diffuse form of AIP was assumed. Mutational analyses of SPINK, PRSS, and CFTR genes were negative. The patient received corticoids (40 mg

per day) for one month, and then in decreased dosage until they were discontinued. In summer 2006 diabetes mellitus was diagnosed with the necessity of intense insulin regime. The findings did not change even after corticoid treatment – that is why EUS-guided fine needle aspiration (FNA) was performed in October 2006. Aspirate preparations contained almost exclusively finely and coarsely granular necrotic debris intermingled with numerous neutrophils. Several sheets of ductal epithelial cells with no signs of dysplasia and some inconspicuous acinar cells were revealed. Even though the performance of FNA was uneventful, a severe acute pancreatitis developed within 3 days, when the patient was again admitted to hospital. Abdominal ultrasound as well as CT showed a formation at the head of the measuring of 6x5x4cm and the diagnosis of advanced generalised pancreatic tumour was made. The suggested oncological palliative treatment was not carried out owing to the patient's bad condition. Afterwards, the patient was repeatedly admitted to our clinic and died in March 2007.

Autopsy revealed extensive infiltration of the pancreatic head with structures of moderately differentiated ductal adenocarcinoma, spreading into the peripancreatic fatty tissue, with infiltration of omentum, with multiple metastases in vertebral bodies (L1 and L3), in the liver and lymph nodes (peripancreatic, in the porta hepatis, and along the abdominal aorta).

DISCUSSION

Chronic pancreatitis (CP) is usually defined as a progressive process that leads to the destruction of the parenchyma and to exocrine and terminally also endocrine insufficiency [5,6,7,8]. Its incidence in our country – although the data are from the 1980s they are still true – is 7.9 for 100 000 inhabitants per year; the rest of Europe is mostly the same: 7–10 for 100 000 inhabitants per year [9,10,11].

Chronic pancreatitis can be classified from many views; we use the TIGAR-O classification system of the risk factors associated with CP, which was published in 2002. It divides the patients into groups by aetiology – therefore it is very simple and practical. It can also predict the course of the disease and approximately the risk of pancreatic cancer. The TIGAR-O means: T for toxic-metabolic, I for idiopathic, G for genetic, A for autoimmune, R for recurrent and severe acute pancreatitis, and O for obstructive form [5]. Autoimmune pancreatitis. The first references on CP in connection with some other autoimmune disease come from the middle part of the last century (1950 – Ball connection with ulcerative colitis). There are two basic units: diffuse form (called sausage-like) enlargement of the whole pancreas, with hypervascularisation, segmental or diffuse narrowing of the main pancreatic duct, etc. The focal form – as

mentioned before, also called mass-forming pancreatitis, is found in the head of the pancreas in about 80% of all cases.

For the typical morphology of the diffuse form, CT, MRCP or EUS can be easily used for the diagnosis. Other important factors to be observed are the set of antibodies (like ASMA, RF, ANA, IgG4, anticonnector anhydrase, etc.). Unfortunately, there is none sufficient for the pancreas and there may also be geographical diversity. The inflammatory infiltrate consists mainly of lymphocytes and plasma cells, but it also contains some macrophages and occasionally also neutrophilic and eosinophilic granulocytes. AIP can be also divided into two forms: isolated and associated with other systemic disease (like DM, PSC, SS) [12,13].

Acute necrotising pancreatitis does not represent a typical complication of AIP. Clinical symptoms are variable and most commonly include painless jaundice [13], weight loss, and abdominal pain – commonly mild and variable in duration, usually lasting weeks to months. The patients rarely present with acute attacks of pain. Jaundice has been reported in up to 70%–80% of the patients [2]. In the literature, we have found only few references of acute pancreatitis as a first sign of pancreatic cancer [14, 15].

Pancreatic cancer is the fourth most common cause of cancer mortality in the USA [16]. Chronic pancreatitis, cigarette smoking, obesity, etc. seem to be the known risk factors for pancreatic cancer; only 5–10% are hereditary in nature. The overall five-year survival rate is 4%. More than one half of the cases have distant metastasis at diagnosis [17]. Diabetes mellitus (DM) has been lately reported as one of the factors directly linked to the origin of the pancreatic carcinoma but the aetiology connection is not clear [18]. Several studies [19–21] consider DM as a risk factor for pancreatic ductal adenocarcinoma due to a long-lasting disease (either for endocrine involvement, or the common risk factors like obesity, smoking, etc.). However, later studies focused on DM, which rises shortly (2–3 years) before the diagnosis of the tumour as an early symptom [22–25]. This situation seems to be promising for earlier recognition of pancreatic malignancy. It is recommended to examine patients with atypical DM (occurring in older age, with absence of obesity, quick progression to insulin-therapy, etc.) with the most sensitive methods such as endosonography or MRCP to diagnose asymptomatic ductal adenocarcinoma [18].

The explanation of the quick disease progression in our patient is unclear. Little is known about the long-term outcome of AIP and about its malignant potential [26]. The time duration of the disease before the patient was admitted to hospital and the role of corticoids in the progression of the malignancy can be considered.

REFERENCES

1. Kim KP, Kim MH, Kim JC, et al. Diagnostic criteria for autoimmune chronic pancreatitis revisited. *World J Gastroenterol* 2006;12[16]: 2487–96.
2. Zandieh I, Byrne MF. Autoimmune pancreatitis: a review. *World J Gastroenterol* 2007; 13(47): 6327–32.
3. Klöppel G, Lüttges J, Sipos B, et al. Autoimmune pancreatitis: pathological findings. *JOP J Pancreas* 2005; 6(1 suppl): 97–101.
4. Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, et al. Clinical difficulties in the differentiation of autoimmune pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2003; 98[12]: 2694–9.
5. Etemad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 120: 682–707.
6. Clain JE, Pearson PK. Diagnosis of chronic pancreatitis: is a gold standard necessary? *Surg Clin North Am* 1999; 79: 829–845.
7. Sarles H. *Pancreatitis: Symposium of Marseille, 1963*. Karger: Basel, 1965.
8. Sarner M. Pancreatitis definitions and classification. In: Go VLW, Di Magno EP, Gardner JD, et al, eds. *The pancreas: pathobiology and disease*. 2nd ed. Raven: New York, 1993: 575–580.
9. Dite P, Stary K, Novotny I, et al. Incidence of chronic pancreatitis in the Czech Republic. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13 [6]: 749–50.
10. Lankisch PG, Assmus D, Pflüchthofer D, Maisonneuve P, Lowenfels AB. The burden of pancreatic disease in a well-defined population. *Gastroenterology* 1998; 114[4]: A24.
11. Copenhagen Pancreatitis Study Group. Copenhagen Pancreatitis Study. An interim report from a prospective epidemiological multicentre study. *Scand J Gastroent* 1981; 16: 305–12.
12. Abraham SC, Leach S, Yeo CJ, et al. Eosinophilic pancreatitis and increased eosinophils in the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 334–42.
13. Okazaki K. Autoimmune pancreatitis: etiology, pathogenesis, clinical findings and treatment. The Japanese experience. *JOP J Pancreas* (online) 2005; 6(1 suppl): 89–96.
14. Fabre A, Sauvanet A, Flejou JF, et al. Intraductal acinar cell carcinoma of the pancreas. *Virchows Arch* 2001;438[3]: 312–5.
15. Imamura M, Asahi S, Yamauchi H, Tadokoro K, Suzuki H. Minute pancreatic carcinoma with initial symptom of acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9[5]: 632–6.
16. Mendieta Zerón H, García Flores JR, Romero Prieto ML. Limitations in improving detection of pancreatic adenocarcinoma. *Future Oncol* 2009; 5[5]: 657–68.
17. Freelove R, Walling AD. Pancreatic cancer: diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2006; 73[3]: 485–92.
18. Trna J, Dítě P, Hermanová M, Ševčíková A. Výskyt diabetes mellitus u pacientů s karcinomem slinivky břišní [Diabetes mellitus in patients suffering from pancreatic cancer]. *Čes Slov Gastroent Hepatol [Czech and Slovak Gastroenterology and Hepatology]* 2008; 62 [2]: 69–73.
19. Kessler I. A genetic relationship between diabetes and cancer. *Lancet* 1970; 1: 218.
20. Kessler I. Cancer mortality among diabetics. *J Natl Cancer Inst* 1970; 44: 673–686.
21. Ragozzino M, Melton LJ, Chu CP, et al. Subsequent cancer risk in the incidence cohort of Rochester, Minnesota, residents with diabetes mellitus. *J Chronic Dis* 1982; 35: 13–19.
22. Murphy R, Smith FH. Abnormal carbohydrate metabolism in pancreatic cancer. *Med Clin North Am* 1963; 47: 397.
23. Nix GAJJ, Schmitz PJ, Wilson JHP, et al. Carcinoma of the head of the pancreas. Therapeutic implications of endoscopic retrograde pancreatography. *Gastroenterology* 1984; 87: 37–43.
24. Lin RS, Kessler I. A multifactorial model for pancreatic cancer in man. *JAMA* 1981; 245: 147–152.
25. Moosa AR, Levin B. The diagnosis of early pancreatic cancer: The University of Chicago experience. *Cancer* 1981; 47: 1688.
26. Miura H, Kitamura S, Yamada H. An autopsy case of autoimmune pancreatitis after a 6-year history of steroid therapy accompanied by malignant dissemination of unknown origin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20[9]: 930–4. ■

2.3. Diabetes mellitus a karcinom pankreatu

2.3.1. Etiologické vztahy mezi karcinomem pankreatu a diabetes mellitus

Jedním z dlouhodobě zvažovaných faktorů se vztahem ke vzniku PC je diabetes mellitus (DM). Souvislost mezi PC a DM je známa řadu desetiletí, ale přesné etiologické vztahy nejsou vyjasněny. Starší studie považují DM za rizikový stav pro rozvoj PC (65), zatímco novější studie se soustředí na nově diagnostikovaný DM jako symptom PC (66).

Riziko vzniku PC při DM je vysvětlováno tím, že zvýšená produkce insulinu beta buňkami Langerhansových ostrůvků vede jednak k vyčerpání beta buněk (vlastní diabetes), ale zároveň i k vyšší lokální koncentraci růstových a stimulačních působků, které se podílí na malignizaci buněk okolní exokrinní tkáně. Tato představa má jistě logické opodstatnění a existují práce prokazující častější výskyt PC u pacientů s dlouholetou anamnézou DM s relativním rizikem 1,94 dle metaanalýzy z roku 2011 (67). Zvýšení relativního rizika je však nejspíše nižší, než se předpokládalo dříve. V případě uvedené metaanalýzy se dokonce stává statisticky nesignifikantním, pokud ze souboru pacientů vyřadíme ty, u kterých předcházel DM krátkou dobu (2 až 3 roky) stanovení diagnózy PC (dle metaanalýzy 2011 je RR diagnózy PC 5,38 v průběhu prvního roku po diagnostikování DM).

Předpokládá se tudíž existence 2 podskupin pacientů se současně se vyskytujícími DM a PC. První podskupinu tvoří pacienti, u kterých je DM geneticky a prostředím podmíněné základní onemocnění a PC se objevuje po dlouholeté anamnéze, ať již skutečně na podkladě endokrinního postižení, či bez přímé závislosti na DM (společné rizikové faktory obou chorob jako např. nadváha, kouření, ChP, kombinace atd.). Druhou podskupinu tvoří pacienti s DM krátkého trvání (2 až 3 roky) před stanovením diagnózy PC. U těchto pacientů se může jednat o první projev jinak bezpříznakově probíhající malignity a DM je nejspíše přímým následkem působení buněk PC.

Tyto poznatky o vztahu DM a PC, včetně využitelnosti pro screening a časnou diagnostiku PC, poskytuje níže uvedený přehledový článek.

Trna J, Dítě P, Hermanová M, Ševčíková A. The relationship between diabetes mellitus and pancreatic cancer and the implications for screening. Gastroenterol Pol. 2010;17:313-316.

(publikovaná přehledová práce - kvantitativní podíl uchazeče 40 % - koncept, vyhledávání a analýza literatury, text práce)

The relationship between diabetes mellitus and pancreatic cancer and the implications for screening

Związek między cukrzycą a rakiem trzustki – znaczenie badań przesiewowych

Jan Trna¹, Petr Dítě¹, Markéta Hermanová^{2,3}, Arona Ševčíková¹

¹ Department of Internal Medicine and Hepatogastroenterology, University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

² Department of Pathology, University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

³ Institute of Pathologic Anatomy, St. Anne's University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Address for correspondence: Jan Trna MD

Department of Internal Medicine and Hepatogastroenterology, University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University
Jihlavská 20; Brno 62500; Czech Republic; tel.: (+42 05) 3223 3500; email: jan.trna@seznam.cz

Abstract

Pancreatic cancer is a disease with a dismal prognosis and typically a long asymptomatic course of the disease with difficult detection of early curative stages. Definition of patients in high risk of pancreatic cancer development and their screening is one of the possible ways to improve this situation. Diabetes mellitus and its relevance to pancreatic cancer has been discussed for decades but the etiological implications are still not completely clear. While history of long-lasting diabetes may increase relative risk of pancreatic cancer development, diabetes appearing shortly prior to the diagnosis of pancreatic cancer may be caused by pancreatic malignancy and, in some cases, could be the first symptom. This review article summarizes literature data regarding the relationship between pancreatic cancer and diabetes and its clinical implications. It also advocates the screening strategy for patients with atypical course of recently diagnosed diabetes mellitus including the description of its clinical characteristics. (*Gastroenterol. Pol.*, 2010, Vol. 17, No. 4, p. xxx-xxx)

Key words: diabetes mellitus, pancreatic cancer, risk factor, screening

Streszczenie

Rak trzustki jest chorobą charakteryzującą się złym rokowaniem i zwykle długim bezobjawowym przebiegiem oraz ograniczonymi możliwościami rozpoznania we wczesnych stadiach zaawansowania procesu nowotworowego. Jednym z możliwych sposobów poprawy tej sytuacji jest scharakteryzowanie i objęcie badaniami pacjentów stanowiących grupę wysokiego ryzyka rozwoju tego nowotworu. Od dziesięcioleci dyskutuje się na temat związku cukrzycy z rakiem trzustki, lecz znaczenie przyczynowe tej zależności pozostaje niejasne. Podczas gdy długotrwała cukrzyca może zwiększać ryzyko rozwoju raka trzustki, cukrzyca ujawniająca się na krótko przed rozpoznaniem tego nowotworu może być spowodowana wzrostem nowotworowym trzustki, a w niektórych przypadkach stanowi jego pierwszy objaw. W niniejszym artykule przedstawiono podsumowanie dotychczasowych doniesień na temat zależności między rakiem trzustki a cukrzycą oraz opisano ich znaczenie praktyczne, jak również zalecono strategię badań przesiewowych u pacjentów z nietypowym przebiegiem niedawno rozpoznanej cukrzycy, po uwzględnieniu jej cechy klinicznej.

Słowa kluczowe: cukrzyca, rak trzustki, czynnik ryzyka, badanie przesiewowe

Introduction

Pancreatic cancer (PC) represents the fourth to fifth leading cause of cancer death with increasing incidence (1). Despite efforts for the improvement of diagnostics and therapy, the prognosis of patients with PC remains dismal, with an overall 5-year survival rate of approximately 5% (1-3). One of the primary causes for this unfavorable situation is the long asymptomatic course of the disease; so, when the disease is discovered, it is usually in the advanced stage and curative surgery is impossible. Invasiveness, early metastasizing and resistance to radio- and chemotherapy are additional reasons for the disappointing prognosis.

In view of these facts, current pancreatologic research focuses on the identification of risk factors and the determination of high-risk groups, increasing the changes of PC early diagnosis.

One of the long discussed factors possibly linked to pancreatic cancer is diabetes mellitus (DM). A significant relationship between PC and DM has been known for many years, but etiological implications are still unclear. While older studies (4-6) attempted to prove that DM is a risk factor for PC development, more recent studies focus on diagnosis of DM shortly before PC and the value of this situation for early diagnosis of PC in clinical practice (7-11). Interestingly, even in sets of patients from older studies, patients were predominately diagnosed with diabetes shortly before the PC diagnosis. Using modern statistic methods, these studies are shown to be in agreement with more recent studies (12).

Diabetes mellitus as a risk factor for PC

DM has been considered a risk factor for PC development for many years (4-6). The theoretical background of malignant

transformation of the exocrine pancreatic cells during endocrine tissue disease is based on the idea that insulin resistency in non-insulin dependent DM (NIDDM) is followed by increased insulin production in the beta cells of Langerhans islets, leading to their deterioration (NIDDM itself), but also affecting adjacent exocrine tissue. Locally increased concentration of growth factors, together with insulin, may lead to the development of exocrine pancreatic tissue malignancy (13, 14).

This hypothesis seems logical and several works prove higher incidence of PC in patients with long-term DM with a relative risk in wide spectrum between 1.3-7.2 (metaanalysis from 1995 claims the relative risk (RR) of 2.1) (7, 15-18). However, the increase of RR is probably lower than previously anticipated. In some studies, it is even statistically insignificant if patients with short-term diabetes (2-3 years) are excluded (11, 19).

Therefore, there are 2 suspected subgroups of patients with coincidence of DM and PC (20). The first group includes patients with genotypically and phenotypically conditioned diabetes, in which PC develops after long-term diabetes due to either endocrine disease as described above or without direct association (common risk factors such as obesity, smoking, chronic pancreatitis, simple stochastics, or a combination of several factors) (21). The second group of patients is formed by individuals with a short duration of diabetes (2-3 years) preceding the diagnosis of PC. In these patients, DM often represents the first symptom of an otherwise asymptomatic PC and it is directly caused by PC cells as will be explained below.

Diabetes mellitus as a manifestation of PC

In 1963, Murphy and Smith published a study describing impaired glucose metabolism in patients with pancreatic adenocarcinoma and they predicted a possibility of diagnostic use (8). Since then, different studies have established the DM presence in PC patients between 8.5% and 40% (7,9-12). In 52% to 100% of these patients was DM less than 2 years of duration (11, 12, 18, 20). In a 2003 Italian case-control study the relative risk of PC development in subjects with diabetes for less than 2 years was established at 4.76 (7). A Mayo Clinic population study published in 2005 sets the RR in patients with diabetes for less than 3 years to be 7.94 (22). In a Swedish study involving 51 000 patients hospitalized for newly diagnosed DM, there was a 7 to 9 times increase of incidence of diagnosed PC in the first year of the follow-up (23). A recent population-based study by Chari et al. revealed DM in 40.2% PC patients with 52.3% of them with new-onset DM (less than 2 years) (24).

In the majority of mentioned studies the patients diagnosed with DM did not present with any other symptoms of PC; therefore DM can be considered the first symptom of PC (25).

Proposed mechanisms by which PC causes DM

The exact mechanisms by which PC causes impaired glucose tolerance and DM are unknown, and many past theories (destruction of islets of Langerhans by the growing tumor, fibrotic changes blocking the insulin secretion to systemic circulation) were not supported by later research.

In experiments with nitrosamine induced PC in hamsters, the hyperglycaemia appears after the tumorous growth begins (11). In clinical practice, there are cases of documented amelioration or complete resolution of DM after curative resection of PC (26, 27). According to recent study by Pannala et al. 57% of PC patients with new-onset diabetes who underwent pancreaticoduodenectomy no longer met criteria for DM postoperatively (27).

In many malignant diseases connected with cachexia, an increased peripheral insulin resistency to normal insulin levels was proven (28). In PC, both increased insulin resistance and decreased production of insulin is present; resultantly, a direct effect of PC cells on glucose metabolism is expected (29). One possible mechanism is the secretion of diabetogenic factors. Several molecules with suspected diabetogenic potential have already been proposed (islet amyloid peptide – IAPP, 2030 MW peptide) but their usefulness in clinical practice needs clarification (30, 31).

Definition of high-risk groups and possibilities for effective screening

PC is a disease with a dismal prognosis and a one year mortality rate almost equals its incidence (1-2). The long asymptomatic course, for which the disease is usually in an advanced stage when diagnosed, is considered a reason for this grave situation. In order to diagnose PC in an early stage the algorithm must be carried out in patients without obvious clinical symptoms of PC. Abdominal sonography and assessment of tumor markers in sera brought out disappointing results (11, 32). For effective and economical screening, it is necessary to establish risk factors and screen persons at high risk for PC development.

Currently there are screening programs for patients with several genetic disorders, including hereditary chronic pancreatitis, who are at higher risk for PC progression but high risk groups in the general population are not defined (33).

Under certain conditions newly diagnosed DM may be the first symptom of otherwise asymptomatic PC. According to the literature data, impaired glucose tolerance is present in up to 80% of PC patients. This condition is usually diagnosed shortly prior to PC and after PC resection it becomes partially or fully resolved (27). According to the retrospective studies, PC is diagnosed within 3 years of the DM diagnosis in about 1% of newly diagnosed diabetics (22). Because of the high number of newly diagnosed diabetics, not even this group can be considered a high risk group and tested with sophisticated modern diagnostic methods. Therefore, different authors have worked on criteria distinguishing between diabetes caused by PC and "common" NIDDM (12, 22, 34). Secondary DM connected with PC usually appears suddenly in patients in higher age groups, without positive family history and progresses quickly to insulin therapy. Labidity with tendencies towards hyperglycemias with ketoacidosis and cachexia is also typical (26). Recurring infections, including mycotic infections, as a sign of paraneoplastic damage of immunity system have also been proposed as a differentiating factor (12). Use of these criteria increases the percentage of captured patients with PC and the whole system becomes more effective. But these criteria are partially subjective, dependent on the skills and experience of the physician and therefore not ideal for clinical practice. The diffe-

rentiation between the two types of DM would be simplified by assessment of the expected diabetogenic factors produced by PC cells (30, 31). Initially, studies with islet amyloid polypeptide (IAPP) were promising, but the results of later studies turned out disappointing (35). The usefulness of newer 2030 MW peptide needs to be evaluated by further research (31).

An interesting study with an extremely high prevalence of PC (7%) in screened population was published by Japanese authors in 2002 (34). Using their own criteria (sudden onset of DM in patient at the age of over 55, negative family history, absence of obesity, worsening of diabetes compensation despite intensive treatment and weight loss of over 5kg in 3 months, serum amylase and/or CA19-9, abnormality on pancreaticobiliary system on abdominal sonography) they diagnosed PC in 7% of all investigated diabetics with the use of ERCP. In a group of patients with diabetes with less than 3 years of duration the prevalence of PC was 13.9%. The authors proposed their criteria for screening of patients at high risk. However, Pannala et al. question some of the criteria with findings of family history of DM in approximately one third of PC patients and significantly higher BMI in PC patients before the onset of symptoms than in the control group. They conclude, that before the onset of symptoms, the clinical profile of PC-associated DM is not very different from that of the patient with type 2 DM and does not help distinguish between these two forms of DM (27). Further research is necessary to clarify this controversial issue.

Conclusions

PC is a disease with a dismal prognosis and typically long asymptomatic course of the disease with difficult detection of early curative stages. Recognition of risk factors and the definition of high-risk groups of patients with subsequent screening with modern imaging methods (including endosonography) could lead to the improvement of this unfavorable situation (36). One of the long-term discussed factors with relationship to PC is diabetes mellitus.

DM quite often appears shortly prior to the diagnosis of PC and thus supports the theory of diabetes being a manifestation of the pancreatic malignancy. In some cases diabetes mellitus could be its first symptom.

Persons with atypical diabetes mellitus (appearing in senior age, negative family history, absence of obesity, fast progression toward insulinotherapy, instability and weight loss despite intensive treatment, recurrent infections including mycotic etiology, additional abnormalities in laboratory values and/or on abdomi-

nal sonography) may represent high-risk group of patients and should be investigated with highly sensitive imaging methods to exclude asymptomatic pancreatic malignancy. The proposed criteria of atypical diabetes are summarized in table I.

This practice could lead to the diagnosis of earlier stages of PC, therefore allowing curative surgery and improving the outcome of the pancreatic cancer treatment.

This article was supported by NS 9861-4 grant of the Ministry of Health (IGA), Czech Republic.

References

- Bramhall S.R., Allum W.H., Jones A.G., Allwood A., Cummins C., Neoptolemos J.P.: *Treatment and survival in 13,560 patients with pancreatic cancer, and incidence of the disease in the West Midlands: an epidemiological study.* Br. J. Surg., 1995, 82, 111-115.
- Fernandez E., La Vecchia C., Porta M., Negri E., Lucchini F., Levi F.: *Trends in pancreatic cancer mortality in Europe, 1955-1989.* Int. J. Cancer, 1994, 57, 786-792.
- Hruban R.H., Adsay N.V., Albores-Saavedra J.: **ALL AUTHORS SHOULD BE LISTED):** *The genetic basis of human cancer.* [in:] *Pancreatic cancer.* (ed.) B. Vogelstein, K.W. Kinzler. Mc Graw-Hill, New York, 1996, 603-613.
- Kessler I.: *A genetic relationship between diabetes and cancer.* Lancet, 1970, 295, 218-20.
- Kessler I.: *Cancer mortality among diabetics.* J. Natl. Cancer Inst., 1970, 44, 673-686.
- Ragozzino M.W., Melton L.J.3rd, Chu C.P., Palumbo P.J.: *Subsequent cancer risk in the incidence cohort of Rochester, Minnesota residents with diabetes mellitus.* J. Chronic Dis., 1982, 35, 13-9.
- Bonelli L., Aste H., Bovo P., Cavallini G., Felder M., Gusmaroli R., Morandini E., Ravelli P., Briglia R., Lombardo L., De Micheli A., Pugliese V.: *Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking and diabetes mellitus: a case control study in northern Italy.* Pancreas, 2003, 27, 143-149.
- Murphy R., Smith F.H.: *Abnormal carbohydrate metabolism in pancreatic cancer.* Med. Clin. North Am., 1963, 47, 397-405.
- Nix G.A., Schmitz P.J., Wilson J.H., van Blankenstein M., Goeneveld C.F., Hofwijk R.: *Carcinoma of the head of the pancreas: therapeutic implications of endoscopic retrograde pancreatography.* Gastroenterology, 1984, 87, 37-43.
- Lin R.S., Kessler I.: *A multifactorial model for pancreatic cancer in man.* JAMA, 1981, 245, 147-152.
- Moosa A.R., Levin B.: *The diagnosis of early pancreatic cancer: the university of Chicago experience.* Cancer, 1981, 47, 1688-97.
- Noy A., Bilezikian J.P.: *Diabetes and Pancreatic Cancer: Clues to the Early Diagnosis of Pancreatic Malignancy.* J. Clin. Endocrinol. Metab., 1994, 79, 1223-1231.
- Takeda Y., Escarot M.J.: *Effects of insulin and somatostatin on the growth and the colony formation of two human pancreatic cancer cell lines.* J. Cancer Res. Clin. Oncol., 1991, 117, 416-420.
- Williams J.A., Goldfine I.D.: *The insulin-pancreatic acinar axis.* Diabetes, 1985, 34, 980-986.
- Wideroff L., Gridley G., Møller M., Chow W.H., Linet M., Keel S., Borch-Johnsen K., Olsen J.H.: *Cancer incidence in a population-based cohort of patients hospitalized with diabetes mellitus in Denmark.* J. Natl. Cancer Inst., 1997, 89, 1360-1365.
- Silverman D.T., Schiffman M., Everhart J., Goldstein A., Lillemoe K.D., Swanson G.M., Schwartz A.G., Brown L.M., Greenberg R.S., Schoenberg J.B., Pottern L.M., Hoover R.N., Fraumeni J.F.Jr.: *Diabetes mellitus, other medical conditions and familial history of cancer as a risk factors for pancreatic cancer.* Br. J. Cancer, 1999, 80, 1830-1837.
- Chow W.H., Gridley G., Nyrén O., Linet M.S., Ekborn A., Fraumeni J.F. Jr, Adami H.O.: *Risk of pancreatic cancer following diabetes mellitus: a nation-wide cohort study in Sweden.* J. Natl. Cancer Inst., 1995, 87, 930-931.
- Everhart J., Wright D.: *Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis.* JAMA, 1995, 273, 1605-1609.
- Gullo L., Pezzilli R., Morselli-Labate A.M.: *Diabetes and the risk of pancreatic cancer.* N. Engl. J. Med., 1994, 331, 81-84.
- Cubilla A.L., Fitzgerald P.J.: *Pancreas cancer (non-endocrine). A review part I.* Clin. Bull. Mem. Sloan-Kettering Cancer Cent, 1978, 8, 91-99.
- Hardt P.D., Killinger A., Nalop J., Schnell-Kretschmer H., Zekorn T., Klor H.U.: *Chronic pancreatitis and diabetes mellitus. A retrospective analysis of 156 ERCP investigations in patients with insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus.* Pancreatol., 2002, 2, 30-33.
- Chari S.T., Leibson C.L., Rabe K.G., Ransom J., de Andrade M., Petersen G.M.: *Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study.* Gastroenterology, 2005, 129, 504-511.

TABLE I: Proposed criteria of atypical diabetes mellitus (acc. to 12, 26, 34)

Onset of diabetes after the age of 55 years without obesity, alcoholism, or family history of diabetes
Deterioration of preexistent glucose intolerance (fasting and postprandial blood glucose and/or serum concentration of HbA _{1c}), rapid progression toward insulinotherapy
Instability of diabetes (recurrent hyperglycemias, tendency to ketoacidosis) and body weight loss despite strict control of diet and/or dosage of insulin
Transient or persistent elevation of serum amylase and/or CA19-9
Pancreatobiliary abnormalities on routine ultrasonography
Recurrent infections including mycotic etiology

23. Adami H.O., McLaughlin S., Ekban A., Berne C., Silverman D., Hacker D., Persson I.: *Cancer risk in patients with diabetes mellitus*. *Cancer Causes Control*, 1991, 2, 307-314.
24. Chari S.T., Leibson C.L., Rabe K.G., Timmons L.J., Ransom J., de Andrade M., Petersen G.M.: *Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer*. *Gastroenterology*, 2008, 134, 95-101.
25. Karmody A.J., Kyle J.: *The association between carcinoma of the pancreas and diabetes mellitus*. *Br. J. Surg.*, 1969, 56, 362-364.
26. Permet J., Ihse I., Jorfeld L.: *Improved glucose metabolism after subtotal pancreatectomy for pancreatic cancer*. *Br. J. Surg.*, 1993, 80, 1047-1050.
27. Pannala R., Leirness J.B., Bamlet W.R., Basu A., Petersen G.M., Chari S.T.: *Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus*. *Gastroenterology*, 2008, 134, 981-987.
28. Schein P.S., Kinser D., Haller D., Blecher M., Hamosh M.: *Cachexia of malignancy: Potential role of insulin in nutritional management*. *Cancer*, 1979, 43, 2070-2076.
29. Permert J., Larsson J., Inge I.: *Diagnosis of pancreatic cancer. Alteration of glucose metabolism*. *Int. J. Pancreatol.*, 1991, 9, 113-117.
30. Permert J., Larsson J., Wetermark G.T.: *Islet amyloid polypeptide in patients with pancreatic cancer and diabetes*. *N. Engl. J. Med.*, 1994, 330, 313-318.
31. Basso D., Valerio A., Seraglia R., Mazza S., Piva M.G., Greco E., Fogar P., Gallo N., Pedrazzoli S., Tiengo A., Plebani M.: *Putative pancreatic cancer-associated diabetogenic factor: 2030 MW peptide*. *Pancreas*, 2002, 24, 8-14.
32. Homma T., Tsuchiya R.: *The study of the mass screening of persons without symptoms and of the screening of outpatients with gastrointestinal complaints or icterus for pancreatic cancer in Japan, using CA19-9 and Elastase-1 or ultrasonography*. *Int. J. Pancreatol.*, 1991, 9, 119-124.
33. Canto M., Wroblewski L., Goggins M.: **(ALL AUTHORS SHOULD BE LISTED):** *Screening for pancreatic neoplasia in high-risk individuals: the John Hopkins experience*. *Gastroenterology*, 2002, 122 (suppl.), A-17.
34. Ogawa Y., Tanaka M., Inoue K.: *A prospective pancreatographic study of the prevalence of pancreatic carcinoma in patients with diabetes mellitus*. *Cancer*, 2002, 94, 2344-2349.
35. Chari S.T., Klee G.G., Miller L.J., Raimondo M., DiMaggio E.P.: *Islet amyloid polypeptide is not a satisfactory marker for detecting pancreatic cancer*. *Gastroenterology*, 2001, 121, 640-645.
36. Helmstaedter L., Riemann J.F.: *Pancreatic cancer—EUS and early diagnosis*. *Langenbecks Arch. Surg.*, 2008, 393, 923-927.

Received: 2010-08-03. Revised: 2010-09-24. Accepted: 2010-10-03.

Conflict of interest: none declared

2.3.2. Četnost diabetes mellitus u pacientů s karcinomem pankreatu

Práce různých autorů stanovily přítomnost DM u pacientů s PC v širokém rozmezí mezi 8,5 % a 40 %. Počet pacientů, u kterých předcházel DM stanovení diagnózy PC o méně než 2 roky, se pohyboval v jednotlivých studiích mezi 52 % až 100 % všech diabetiků (68).

PC se dle retrospektivních studií rozvine do 3 let od diagnózy DM přibližně u 1 % diabetiků (69). Vzhledem k celkovým počtům nelze tudíž ani nově diagnostikované diabetiky podrobit jako celek cílenému screeningu. Výzkum se proto soustředí na identifikaci kritérií odlišujících běžný DM od DM souvisejícího s PC (70). Pannala et al. však tato kritéria zpochybňují. Klinický profil DM souvisejícího s PC se dle jejich názoru příliš neliší od klasického DM (71).

Obecně však lze předpokládat, že cílené vyšetření osob vyššího věku s nově diagnostikovaným, atypicky se projevujícím, DM může vést ke zlepšení zachytu časných stádií PC a tím k lepším terapeutickým výsledkům (72).

Námi provedená práce dosáhla srovnatelných výsledků se zahraničními studii a navíc přinesla zajímavý výsledek, který dosud nebyl ve světové literatuře publikován – průkaz signifikantně vyšší prevalence DM mezi ženami s PC (25 % u mužů vs 43,9 % u žen, $p = 0,008$), zatímco v kontrolní skupině byl DM u obou pohlaví zastoupen rovnoměrně (22,1 % u mužů vs 17,2 % u žen, $p = 0,487$). Pohlaví pacientů by tudíž mohlo představovat další faktor použitelný ve stratifikaci rizika rozvoje PC (vyšší riziko rozvoje PC u žen s dlouhou anamnézou DM a mužů s nově se objevujícím DM?). Tyto výsledky však vyžadují další výzkum.

Trna J, Dítě P, Adamcová A, Crawford BJ, Hermanová M. Diabetes mellitus in pancreatic cancer patients in the Czech Republic: sex differences. Exp Diabetes Res. 2012;2012:414893.

IF 1,89. Citováno 3x ve Web of Science.

(publikovaná původní práce - kvantitativní podíl uchazeče 30 % - koncept, koordinace práce, sběr a analýza dat, text práce)

Research Article

Diabetes Mellitus in Pancreatic Cancer Patients in the Czech Republic: Sex Differences

Jan Trna,¹ Petr Dítě,¹ Arona Adamcová,¹ Brianna J. Crawford,² and Markéta Hermanová³

¹ Department of Internal Medicine and Gastroenterology, University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Jihlavská 20 62500 Brno, Czech Republic

² University of North Dakota, Grand Forks, ND 58202, USA

³ Department of Pathology, University Hospital and Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, 62500 Brno, Czech Republic

Correspondence should be addressed to Jan Trna, jan.trna@seznam.cz

Received 20 December 2011; Revised 21 March 2012; Accepted 8 May 2012

Academic Editor: Chin-Hsiao Tseng

Copyright © 2012 Jan Trna et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Aims. The prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer patients and control subjects was compared. **Methods.** Retrospective evaluation of 182 pancreatic cancer patients and 135 controls. The presence of diabetes was evaluated and the time period between the diagnosis of diabetes and pancreatic cancer was assessed. A subanalysis based on patient sex was conducted. **Results.** Diabetes mellitus was present in 64 patients (35.2%) in pancreatic cancer group and in 27 patients (20.0%) in control group ($\chi^2 = 8.709$; $P = 0.003$). In 18 patients (28.1% of diabetic pancreatic cancer patients) diabetes was new-onset. Diabetes was new-onset in 23.3% of females compared to 38.1% of males ($\chi^2 = 1.537$; $P = 0.215$). The overall prevalence of diabetes was significantly higher among female pancreatic cancer patients (25% versus 43.9%; $\chi^2 = 7.070$, $P = 0.008$), while diabetes prevalence was equally represented in the control group patients (22.1% versus 17.2%; $\chi^2 = 0.484$, $P = 0.487$). **Conclusion.** The prevalence of diabetes mellitus in study group of pancreatic cancer patients was significantly higher when compared to control group. Pancreatic cancer patients with diabetes were predominantly females, while diabetes was equally prevalent among sexes in the control group. Therefore, patient sex may play important role in the risk stratification.

1. Background

Pancreatic cancer (PC) represents the fourth leading cause of cancer death with an increasing incidence. Despite the efforts for the improvement of diagnostics and therapy, the prognosis of patients with PC remains dismal, with an overall 5-year survival rate of approximately 5% [1–3]. One of the primary causes for this unfavorable situation is the long asymptomatic course of the disease, so when the disease is discovered, it is usually in the advanced stage and curative surgery is typically impossible [4]. Invasiveness, early metastasizing, and resistance to radio- and chemotherapy are additional reasons for the disappointing prognosis.

In view of these facts, current pancreatologic research focuses on the identification of risk factors and the determination of high-risk patient groups to increase the potential for screening and early diagnosis of PC. Currently there are screening programs for patients with several genetic

disorders, including hereditary chronic pancreatitis, who are at a higher risk of progression to PC [5]. But high risk groups in the general population are still not well defined.

One of the long debated factors linked to pancreatic cancer is diabetes mellitus (DM). The association of DM and PC is complex and not completely understood. Whether DM is a risk factor for the development of PC or its first symptom remains a matter of research and debate [6–10]. However, subjects with new-onset DM have been shown to have a higher than expected likelihood of having PC [11, 12] and screening of new-onset diabetics has been proposed as a strategy to improve unfavorable outcomes of PC treatment [13].

The primary aim of our study was to retrospectively establish the prevalence of DM in the group of PC patients autopsied in our institution, to record the chronology of the diagnoses and compare the results with the control group.

2. Methods

We retrospectively evaluated autopsy reports and related documentation including final hospital release forms of 182 consecutive PC patients who died between 2001 and 2005 in the South Moravian region of the Czech Republic. The study was restricted to patients diagnosed with PC prior to their death based on clinical presentation, imaging methods, and/or results of surgery and autopsy with corresponding diagnosis in the Department of Pathology of University Hospital Brno. As a control group, 135 patients of comparable age and sex distribution who died of non pancreas-related disease during the same time interval were randomly selected from the database based on alphabetical search. Retrospective studies of unidentified data of deceased patients who did not decline research participation are generally allowed by our institution without an additional approval procedure. All the autopsies and microscopic confirmations of PC diagnosis were conducted by experienced pathologists. Presence of DM, length of its duration, and its duration prior to the diagnosis of PC, as well as symptoms leading to the investigation, were based on data from the medical records. Chi-square analyses were conducted to determine whether frequency of DM diagnosis differed significantly between PC and control groups. In addition, a subanalysis based on sex status of the persons was conducted.

3. Results

The data of 182 patients (84 males, 98 females) who died due to PC and 135 controls (77 males, 58 females) were analyzed. The mean age of the patient population was 68.7 ± 10.7 years (67.6 for males, 69.6 for females) and 71.0 ± 11.7 years for the controls (69.2 for males, 71.7 for females). The difference was statistically insignificant ($P = 0.066$). The youngest enrolled person was 34 years old, the oldest was 96.

The clinical symptoms leading to medical investigation and PC diagnosis, including their length, are summarized in Table 1. The symptoms preceded PC on average only by weeks to months.

The causes of death from medical documentation of patients in the control group are summarized in Table 2.

DM was present in 64 PC patients (35.2%); 21 were male (25% of male population) and 43 were female (43.9% of female population). Therefore, the prevalence of DM was significantly higher among female PC patients ($\chi^2 = 7.070$; $P = 0.008$).

DM was present in 27 patients (20.0%) in the control group; 17 were male (22.1%) and 10 were female (17.2%). Therefore, the significant difference in DM prevalence among the sexes seen in the PC patient group was not found in the control group ($\chi^2 = 0.484$; $P = 0.487$).

In global, chi-square analyses revealed a statistically significant difference in the prevalence of DM among patients comprising the PC and control group ($\chi^2 = 8.709$; $P = 0.003$).

The average duration of DM prior to the diagnosis of PC was 8.2 years (range of 1 to 23 years). In 18 PC patients (28.1% of the PC group; 8 male, 10 female), DM

was diagnosed less than 3 years prior to PC diagnosis. In regard to sex differences, DM was a new-onset diagnosis in 23.3% of diabetic females compared to 38.1% new-onset male diabetics ($\chi^2 = 1.537$; $P = 0.215$). Thus, the trend in the difference in onset of DM among the sexes in the PC group did not reach statistical significance, partially because of small sample size. The results are summarized in Table 3.

4. Discussion

PC is a disease with a dismal prognosis that is characterized by a typically long, asymptomatic course and with limited detection of early curative stages [14]. The majority of patients (>85%) have unresectable disease by the time disease-specific symptoms develop and the diagnosis is made [4]. Correspondingly, the symptoms in our PC patients preceded the PC diagnosis on average only by weeks to months (Table 1). Therefore, in order to detect surgically treatable stages of PC, asymptomatic individuals must be screened [13].

The incidence of PC is too low for cost-effective screening within the general population. For effective and economical screening, it is necessary to establish risk factors and screen persons at high risk for PC development [13]. Currently, there are screening programs for patients with several genetic disorders, who are at higher risk for PC progression [5, 15–19]. However, high risk groups in the general population have not yet been well defined [20].

Diabetes mellitus is a factor that has long been discussed in relation to PC. While a meta-analysis published in 2011 confirmed the overall increased risk of PC among diabetics (RR = 1.94), subgroup analysis revealed that the relative risk of PC was correlated negatively with the duration of DM, with the highest risk of PC found among patients diagnosed with DM within 1 year (RRs = 5.38) [21]. It is reasonably believed that in some individuals a new-onset DM may be the first symptom of an otherwise asymptomatic PC [10, 11, 22, 23].

The prevalence of DM among PC patients in this study was 35.2%. In comparison, diabetes was present in 20.0% of patients in the control group. This difference was statistically significant, and it supports the role of DM in PC. These results are consistent with other reports in the literature, which have documented rates of DM in PC patients ranging from 8.5%–40% [10, 11, 22, 23].

Our results (DM in PC patients 35.2% versus controls 20.0%) are surprisingly similar to the results of a recent study by Chari et al. [23], who found DM in 40.2% of patients and in 19.2% of controls using fasting blood glucose levels and/or antidiabetic medication for DM identification. They report that prevalence of DM was similar in PC patients and controls 3 years before PC diagnosis. A continuous increase of DM prevalence was observed as time approached PC diagnosis in the patient group, while it remained stable within the control group.

The prevalence rate reported in this study is unusually high for retrospective autopsy methodologies relying on medical records; such studies typically report DM in less than 20% of PC patients [12, 24]. This may be because

TABLE 1: Symptoms preceding the diagnosis of PC.

Symptoms leading to investigation	Present in number of patients (%)	Average length prior PC diagnosis	Shortest and longest interval
Weight loss	75 (41.2%)	3.1 month	1 week–1 year
Painless icterus	50 (27.5%)	1.5 week	2 days–2 month
Back or abdominal pain	44 (24.2%)	2.2 month	1 week–1 year
Dyspepsia, loss of appetite, nausea, vomiting	41 (22.5%)	2.6 month	1 week–1 year
Ascites	14 (7.7%)	2.3 week	1 week–1 month

TABLE 2: Causes of death of control group patients.

Cause of death according to medical records	Number of patients (%)
Stroke, intracerebral hemorrhage	18 (13.4%)
Cardiovascular disease	52 (38.8%)
Cancer (not PC)	31(23.1%)
Terminal bronchopneumonia	21 (15.7%)
Other	12 (9.0%)

more than 25% of DM remains undiagnosed and does not enter medical records [25, 26]. In the case of PC, the prevalence of undiagnosed diabetes is believed to be even higher (approximately 50%) because the PC manifests before the DM can become symptomatic and diagnosed [11]. While this may be the situation in a health care system based on personal freedom, such as those in the United States, we believe that the system of annual preventive medical check-ups that used to be organized and enforced by law in the Czech Republic may lead to better detection of conditions like DM in today's generations of seniors.

In cohort studies, the prevalence of DM in the general population over 60 years of age has been reported as 21% in Poland [27] and 16.9% in the USA [28], both of which are comparable with the prevalence of 20.0% in our control group. This lends support to the accuracy of our retrospective results when compared with prospective studies.

DM was more common in female PC patients than in male PC patients (43.9% and 17.2%, respectively) and a difference of this magnitude was not seen among the control group patients. To our knowledge, no study thus far has compared DM prevalence among the sexes in patient and control groups. The sex status based comparison of DM prevalence among PC patients alone has been evaluated by several studies. In agreement with our results, Souza et al. found a higher prevalence of DM among female patients in their retrospective study of 151 PC patients [29]. The reason for this difference is unclear, but according to this study, it cannot be explained by higher BMI in women, as BMI was comparable among the sexes. However, Pannala's study provided opposite results, with males exhibiting DM more frequently than females [22]. Additionally, other studies did not find an increased risk of DM associated with PC in women versus men [30]. However, female diabetics have

been suggested to have a higher risk of PC development [6]. This issue deserves further research, as a sex status might represent an additional risk factor useful for diabetics risk stratification with long-standing female diabetics and new-onset male diabetics being at a higher risk of PC development.

New-onset DM (less than 3 years prior to PC) was diagnosed in 28.1% of our PC patients with diabetes. The percentage of patients with differently defined new-onset diabetes is reported to be 52–100% of all the diabetic PC patients [11, 31]. Our data did not suggest such a high prevalence, which may be partially explained by our retrospective methodology; in our opinion, a retrospective method may prove more reliable in detecting total numbers than detail temporal associations [32]. Additionally, the heterogeneity of new-onset DM definitions in the published literature often makes the comparison difficult.

Patients with newly diagnosed DM are at a substantially increased risk of PC appearance during the first few years of followup [10, 11, 33]. In the majority of the studies, including the current study, the patients diagnosed with DM did not present with any other symptoms of PC; therefore, DM may be considered the first symptom of the cancer [23]. Our study was not capable of unequivocally verifying this hypothesis, but the short duration of symptoms leading to diagnosis of advanced PC compared to duration of DM is suggestive. Moreover, PC appears to be resectable in most of the patients at the time of DM onset and therefore, this situation might represent a valuable tool in screening for PC [34, 35].

However, PC diagnosed within 3 years of the DM diagnosis represents only about 1% of newly diagnosed diabetics over 50 years of age [11]. Thus, not even this group can be considered a high risk group and tested with sophisticated modern diagnostic methods. Therefore, researchers have worked on criteria distinguishing between DM caused by PC and "common" type 2DM [11, 12, 32]. Several studies have screened patients with new-onset DM and defined clinical symptoms resulting in frequent diagnosis of PC [12, 36]. Unfortunately, the resectability rates were low, likely because clinical PC symptoms were used to identify the subjects for screening and the short duration of cancer related symptoms prior to the diagnosis of advanced PC was demonstrated by us as well as by others [23]. Pannala et al. conclude, that before the onset of PC symptoms, the clinical profile of PC-associated DM is not very different from that of the patient with type 2 DM and does not help

TABLE 3: DM in PC patients and control group.

	PC patients	Control group	
Population (M/F)	182 (84/98)	135 (77/58)	
Mean age (years) (M/F)	68.7 ± 10.7 (67.6/69.6)	71.0 ± 11.7 (69.2/71.7)	P = 0.066
DM	64 (35.2%)	27 (20.0%)	$\chi^2 = 8.709$; P = 0.003
DM (M/F)	21 (25%)/43 (43.9%)	17 (22.1%)/10 (17.2%)	
	$\chi^2 = 7.070$; P = 0.008	$\chi^2 = 0.484$; P = 0.487	
New-onset DM (M/F)*	8 (38.1%)/10 (23.3%)	3 (17.6%)/2 (20%)	
	$\chi^2 = 1.537$; P = 0.215	$\chi^2 = 0.023$; P = 0.879	

*DM diagnosed less than 3 years prior to PC diagnosis.

to distinguish between these two forms of DM [22]. Further research is necessary to clarify this controversial issue.

The differentiation between the two types of DM for PC would be simplified by assessment of putative factors produced specifically by PC cells, but their clinical use is usually disappointing [37]. A screening of patients with the combination of new-onset DM and positive family history of PC seems to be useful for detecting of early or premalignant changes [38].

Our study's main limitations include its retrospective nature and inability to conclusively answer epidemiological questions due to a patient group versus control group comparison design. However, the prevalence of pancreatic cancer in the population of the Czech Republic was previously established by our research group as 19.1 per 100,000 males and 18.2 per 100,000 females in 2007. In the time period of 1989–2005, the prevalence of pancreatic cancer increased by 45.9% in males and by 119.1% in females [39, 40]. Similarly, our research was not focused on determining the percentage of clinically undiagnosed PC among autopsied patients.

Our study's strengths include the data comparison of well-documented groups in which the diagnoses were verified by autopsy. Our study contributes a new perspective with findings of a significantly higher prevalence of DM among female PC patients while DM prevalence was equally represented among the sexes in the control group. The reason for this is not fully understood and this study suggests that there is a potential for future research in this area. Additionally, the verification of the data gathered mostly on the Northern American continent on the population of the Czech Republic is valuable because it decreases the risk of population selection bias.

5. Conclusions

As a first-of-its-kind study from Central/Eastern Europe, we provided results of a high prevalence of DM among PC patients which was new-onset in a significant portion of patients. DM was predominant in females among the PC patients, while the DM prevalence was similar among sexes in the control group. The reason for this is unknown and deserves further research, as it might be useful for risk stratification. In general, patients with new-onset DM, especially those presenting with a positive family history of PC and/or atypical symptoms (rapid progression toward

insulinotherapy, instability, and weight loss despite intensive treatment, recurrent infections including mycotic, additional abnormalities in laboratory values, and/or on abdominal sonography), should be investigated with highly sensitive imaging methods, including the preferred use of endosonography, to exclude asymptomatic pancreatic malignancy. There is an urgent need for a biomarker identification that would facilitate the definition of high-risk individuals among newly diagnosed diabetics. This practice could lead to the diagnosis of earlier stages of the disease, allowing the curative surgery and more favorable prognosis. Prospective studies are necessary to verify the potential of high risk groups defined this way and the implications of their screening on morbidity and mortality.

Conflict of Interests

All of the authors have no conflict of interests to declare.

Acknowledgment

This article was supported by NS 9861-4 Grant of the Ministry of Health (IGA), Czech Republic.

References

- [1] S. R. Bramhall, W. H. Allum, A. G. Jones, A. Allwood, C. Cummins, and J. P. Neoptolemos, "Treatment and survival in 13 560 patients with pancreatic cancer, and incidence of the disease, in the West Midlands: an epidemiological study," *British Journal of Surgery*, vol. 82, no. 1, pp. 111–115, 1995.
- [2] E. Fernandez, C. La Vecchia, M. Porta, E. Negri, F. Lucchini, and F. Levi, "Trends in pancreatic cancer mortality in Europe, 1955-1989," *International Journal of Cancer*, vol. 57, no. 6, pp. 786–792, 1994.
- [3] R. H. Hruban, N. V. Adsay, J. Albores-Saavedra et al., "The genetic basis of human cancer," in *Pancreatic Cancer*, B. Vogelstein and K. W. Kinzler, Eds., pp. 603–613, Mc Graw-Hill, New York, NY, USA, 1996.
- [4] A. Jemal, T. Murray, E. Ward, and A. Samuels, "Cancer statistics," *Ca-A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 55, no. 4, pp. 10–30, 2005.
- [5] M. Canto, M. Goggins, C. J. Yeo et al., "Screening for pancreatic neoplasia in high-risk individuals: an EUS-based approach," *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 2, no. 7, pp. 606–621, 2004.

- [6] I. Kessler, "Cancer mortality among diabetics," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 44, no. 3, pp. 673–686, 1970.
- [7] M. W. Ragozzino, L. J. Melton 3rd, C. P. Chu, and P. J. Palumbo, "Subsequent cancer risk in the incidence cohort of Rochester, Minnesota, residents with diabetes mellitus," *Journal of Chronic Diseases*, vol. 35, no. 1, pp. 13–19, 1982.
- [8] L. Wideroff, G. Gridley, L. Møller, et al., "Cancer incidence in a population-based cohort of patients hospitalized with diabetes mellitus in Denmark," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 89, no. 18, pp. 1360–1365, 1997.
- [9] D. T. Silverman, M. Schiffman, J. Everhart et al., "Diabetes mellitus, other medical conditions and familial history of cancer as risk factors for pancreatic cancer," *British Journal of Cancer*, vol. 80, no. 11, pp. 1830–1837, 1999.
- [10] L. Bonelli, H. Aste, P. Bovo et al., "Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking, and diabetes mellitus: a case-control study in Northern Italy," *Pancreas*, vol. 27, no. 2, pp. 143–149, 2003.
- [11] S. T. Chari, C. L. Leibson, M. de Andrade, K. G. Rabe, J. Ransom, and G. M. Petersen, "Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study," *Gastroenterology*, vol. 129, no. 2, pp. 504–511, 2005.
- [12] Y. Ogawa, M. Tanaka, K. Inoue et al., "A prospective pancreatographic study of the prevalence of pancreatic carcinoma in patients with diabetes mellitus," *Cancer*, vol. 94, no. 9, pp. 2344–2349, 2002.
- [13] R. Pannala, A. Basu, G. M. Petersen, and S. T. Chari, "New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer," *The Lancet Oncology*, vol. 10, no. 1, pp. 88–95, 2009.
- [14] D. Li, K. Xie, R. Wolff, and J. L. Abbruzzese, "Pancreatic cancer," *The Lancet*, vol. 363, no. 9414, pp. 1049–1057, 2004.
- [15] A. B. Lowenfels, P. Maisonneuve, E. P. DiMaggio et al., "Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 89, no. 6, pp. 442–446, 1997.
- [16] S. A. Hahn, B. Greenhalf, I. Ellis et al., "BRCA2 germline mutations in familial pancreatic carcinoma," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 95, no. 3, pp. 214–221, 2003.
- [17] A. M. Goldstein, M. C. Fraser, J. P. Struwing et al., "Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16(INK4) mutations," *The New England Journal of Medicine*, vol. 333, no. 15, pp. 970–974, 1995.
- [18] F. M. Giardiello, J. D. Brensinger, A. C. Tersmette et al., "Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome," *Gastroenterology*, vol. 119, no. 6, pp. 1447–1453, 2000.
- [19] A. P. Klein, K. A. Brune, G. M. Petersen et al., "Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds," *Cancer Research*, vol. 64, no. 7, pp. 2634–2638, 2004.
- [20] S. T. Chari, "Detecting pancreatic cancer early: problems and prospects," *Seminars in Oncology*, vol. 34, no. 4, pp. 284–294, 2007.
- [21] Q. Ben, M. Xu, X. Ning et al., "Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: a meta-analysis of cohort studies," *European Journal of Cancer*, vol. 47, no. 13, pp. 1928–1937, 2011.
- [22] R. Pannala, J. B. Leirness, W. R. Bamlet, A. Basu, G. M. Petersen, and S. T. Chari, "Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus," *Gastroenterology*, vol. 134, no. 4, pp. 981–987, 2008.
- [23] S. T. Chari, C. L. Leibson, K. G. Rabe et al., "Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer," *Gastroenterology*, vol. 134, no. 1, pp. 95–101, 2008.
- [24] P. Maisonneuve, A. B. Lowenfels, H. B. Bueno-de-Mesquita et al., "Past medical history and pancreatic cancer risk: results from a multicenter case-control study," *Annals of Epidemiology*, vol. 20, no. 2, pp. 92–98, 2010.
- [25] M. I. Harris, R. Klein, T. A. Welborn, and M. W. Knudman, "Onset of NIDDM occurs at least 4-7 yr before clinical diagnosis," *Diabetes Care*, vol. 15, no. 7, pp. 815–819, 1992.
- [26] C. C. Cowie, K. F. Rust, E. S. Ford et al., "Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the U.S. population in 1988-1994 and 2005-2006," *Diabetes Care*, vol. 32, no. 2, pp. 287–294, 2009.
- [27] A. Wittek, B. Sokalski, W. Grzeszczak, and K. Strojek, "Prevalence of diabetes and cardiovascular risk factors of industrial area in Southern Poland," *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, vol. 117, no. 7, pp. 350–353, 2009.
- [28] B. M. Cheung, K. L. Ong, S. S. Cherny, P. C. Sham, A. W. Tso, and K. S. Lam, "Diabetes prevalence and therapeutic target achievement in the United States, 1999 to 2006," *American Journal of Medicine*, vol. 122, no. 5, pp. 443–453, 2009.
- [29] J. J. Souza, M. C. Machado, J. E. Cunha et al., "Analysis of pancreatic adenocarcinoma tumor staging and resection according to previous body mass index and diabetes duration," *Pancreatology*, vol. 7, no. 2-3, pp. 187–193, 2007.
- [30] L. Gullo, R. Pezzilli, and A. M. Morselli-Labate, "Diabetes and the risk of pancreatic cancer," *The New England Journal of Medicine*, vol. 331, no. 2, pp. 81–84, 1994.
- [31] J. Everhart and D. Wright, "Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis," *Journal of the American Medical Association*, vol. 273, no. 20, pp. 1605–1609, 1995.
- [32] A. Noy and J. P. Bilezikian, "Diabetes and pancreatic cancer: clues to the early diagnosis of pancreatic malignancy," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 79, no. 5, pp. 1223–1231, 1994.
- [33] H. O. Adami, S. McLaughlin, and A. Ekban, "Cancer risk in patients with diabetes mellitus," *Cancer Causes and Control*, vol. 2, no. 5, pp. 307–314, 1991.
- [34] M. Pelaez-Luna, N. Takahashi, J. G. Fletcher, and S. T. Chari, "Resectability of presymptomatic pancreatic cancer and its relationship to onset of diabetes: a retrospective review of CT scans and fasting glucose values prior to diagnosis," *American Journal of Gastroenterology*, vol. 102, no. 10, pp. 2157–2163, 2007.
- [35] S. Gangi, J. G. Fletcher, M. A. Nathan et al., "Time interval between abnormalities seen on CT and the clinical diagnosis of pancreatic cancer: retrospective review of CT scans obtained before diagnosis," *American Journal of Roentgenology*, vol. 182, no. 4, pp. 897–903, 2004.
- [36] J. Damiano, L. Bordier, J. P. Le Berre et al., "Should pancreas imaging be recommended in patients over 50 years when diabetes is discovered because of acute symptoms?" *Diabetes and Metabolism*, vol. 30, no. 2, pp. 203–207, 2004.
- [37] S. Chakraborty, M. J. Baine, A. R. Sasson, and S. K. Batra, "Current status of molecular markers for early detection of sporadic pancreatic cancer," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1815, no. 1, pp. 44–64, 2011.
- [38] J. T. Magruder, D. Elahi, and D. K. Andersen, "Diabetes and pancreatic cancer: chicken or egg?" *Pancreas*, vol. 40, no. 3, pp. 339–351, 2011.
- [39] P. Dítě and E. Geryk, "Trends of primary and subsequent cancers of the gastrointestinal tract in the Czech population, 1976-2005," *Digestive Diseases*, vol. 28, no. 4-5, pp. 657–669, 2010.
- [40] E. Geryk, P. Dite, J. Trna et al., "Pancreas cancer burden of the Czech population," *Onkologie*, vol. 4, pp. 322–325, 2010.

3. Asymptomatický karcinom pankreatu u osob s nově diagnostikovaným diabetem – dosud nepublikovaná data

Přesné mechanismy, kterými buňky PC vyvolávají poruchu glukózové tolerance a DM, jsou nejasné. Předpokládá se přímé působení buněk PC na metabolismus glukózy sekrecí diabetogenních působků. Jejich stanovování by teoreticky mohlo pomoci v odlišení sekundárního typu DM, reálný význam je však sporný a dosud zkoumané molekuly nepotvrdily očekávaný přínos. Komplexnější pohled představuje teorie multifaktoriálního diabetogenního působení PC a namísto pátrání po jedné diabetogenní molekule se výzkum soustředí na profilování proteinů či mapování exprese genů u jednotlivých skupin pacientů a jejich porovnání.

Na našem pracovišti jsme v rámci řešení grantového projektu provedli studii s cílem vyloučit přítomnost asymptomatického PC u osob s nově diagnostikovaným atypickým (labilním) DM.

Na základě literárních údajů byla vytvořena vstupní kritéria pacientů účasti v projektu (Tabulka 2). Jejich aplikací na populaci nově diagnostikovaných diabetiků vyšetřených cestou ambulancí Interní gastroenterologické kliniky (IGEK) Fakultní nemocnice Brno a ambulancí Diabetologického centra při IGEK byla definována skupina pacientů s atypickým DM. Tito pacienti byli v případě souhlasu s účastí v projektu po podpisu informovaného souhlasu vyšetřeni endosonograficky a byla jim odebrána periferní krev.

Tabulka 2: Vstupní kritéria atypického diabetes mellitus pro vstup do studie

Náhle vzniklý diabetes ve věku nad 55 let
Rychlá progresse k insulinoterapii
Nestabilita diabetu (opakované hyperglykémie, výrazná insulinorezistence)
Vyloučení thyreopatie a dalších sekundárních příčin nestability diabetu

3.1. Výsledky EUS vyšetření

V průběhu trvání grantového projektu se podařilo endosonograficky vyšetřit 64 pacientů s nově diagnostikovaným DM. Demografická data shrnuje Tabulka 3, vybrané laboratorní parametry pak Tabulka 4.

Tabulka 3: Demografická data

	Celá skupina	Muži	Ženy
Počet (%)	64 (100 %)	35 (55 %)	29 (45 %)
Věk medián (rozpětí)	61 (55-81)	63 (55-80)	55,5 (55-81)
BMI medián (rozpětí)	28,4 (18,8-46,3)	29,3 (21,3-33,5)	26,8 (18,8-46,3)
RA diabetu (%)	19 (29 %)	12 (34 %)	7 (24 %)
Kouření (%)	31 (48 %)	22 (63 %)	9 (31 %)
Trvání DM před zařazením medián (rozpětí) – v měsících	4 (2-8)	3 (2-6)	4 (3-8)
Váhový úbytek ≥ 5 kg za 6 měsíců	11 (17 %)	7 (20 %)	4 (13,8 %)
PAD v medikaci	15 (23,4 %)	10 (28,5 %)	5 (17,2 %)
Komorbidity v rámci metabolického syndromu		Hypertenze 71 % Steatóza jater 53 % Dyslipidémie 37 %	Hypertenze 66 % Steatóza 34 % Dyslipidémie 23 %

Tabulka 4: Vybrané laboratorní hodnoty

	Medián	rozmezí	Počet (%)
HbA1c	9,8 %	4,2% – 11,8 %	
C-peptid (nalačno – po zátěži)	767 - 1579	457...1473 – 728...3343	
Pozitivita anti-GAD			4 (6,2 %)
Pozitivita anti-ICA			2 (3,0 %)
Pozitivita anti-ICSA			6 (9,4 %)

Výsledky endosonografického vyšetření pankreatu studované populace uvádí Tabulka 5. Abnormální nález na pankreatu byl popsán u 17 pacientů, což představuje 26,6 % zkoumané populace. Asymptomatický PC však nebyl diagnostikován u žádného z nich.

Tabulka 5: Endosonografické nálezy

EUS nález na pankreatu	Počet pacientů (%)
Normální nález na pankreatu	47 (73,4 %)
Chronická pankreatitida	4 (6,25 %)
Lipomatóza/změny nesplňující kritéria ChP	7 (10,9 %)
Cysty/cystoidy	5 (7,8 %)
IPMN z postranního vývodu	1 (1,6 %)

Na rozdíl od studií provedených v minulosti jsme tudíž nedosáhli vysokého zachytu asymptomatického PC v naší skupině pacientů. Důvodem může být mimo jiné výběr pacientů. Kritéria japonských autorů (73), kteří diagnostikovali PC u 7 % z 86 vyšetřených diabetiků, zahrnovala i patologické nálezy na abdominální sonografii a

elevaci onkomarkeru CA19-9. Všichni diagnostikovaní pacienti měli pokročilá stadia PC, a proto nelze tato kritéria a jimi definovanou skupinu diabetiků považovat za použitelné k definici rizikové skupiny pacientů vhodných pro screening PC. Podobně v práci francouzských autorů (72) byla většina nálezů pokročilých a ani jejich kritéria nejsou tudíž použitelná k definování rizikové skupiny pacientů.

Z tohoto důvodu jsme zvolili kritéria volnější, umožňující potenciální záchyt časných stadií PC. Bohužel ve světle nulového záchytu asymptomatického PC se námi zvolená kritéria jeví pro cost-effective screening jako nedostatečná a trvá tudíž nezbytnost nalezení pomocného kritéria k definici rizikové populace mezi nově diagnostikovanými diabetiky. Tento závěr je ostatně ve shodě se studií Pannaly et al. (71), která neshledala významný rozdíl v klinickém obraze běžného DM a DM souvisejícího s PC.

Možným diskriminačním faktorem by se mohly stát diabetogenní faktory stanovené v séru pacientů s nově diagnostikovaných DM a následné cílené vyšetření pacientů s pozitivním nálezem pomocí EUS.

3.2. MALDI (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací) vyšetření sér s cílem nalézt diagnostické diabetogenní markery

V rámci řešení výše popsaného problému výběru pacientů pro EUS vyšetření byla navázána kooperace s Ústavem experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity a CEITEC, který disponuje metodou MALDI (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací), schopnou profilace proteinů v séru.

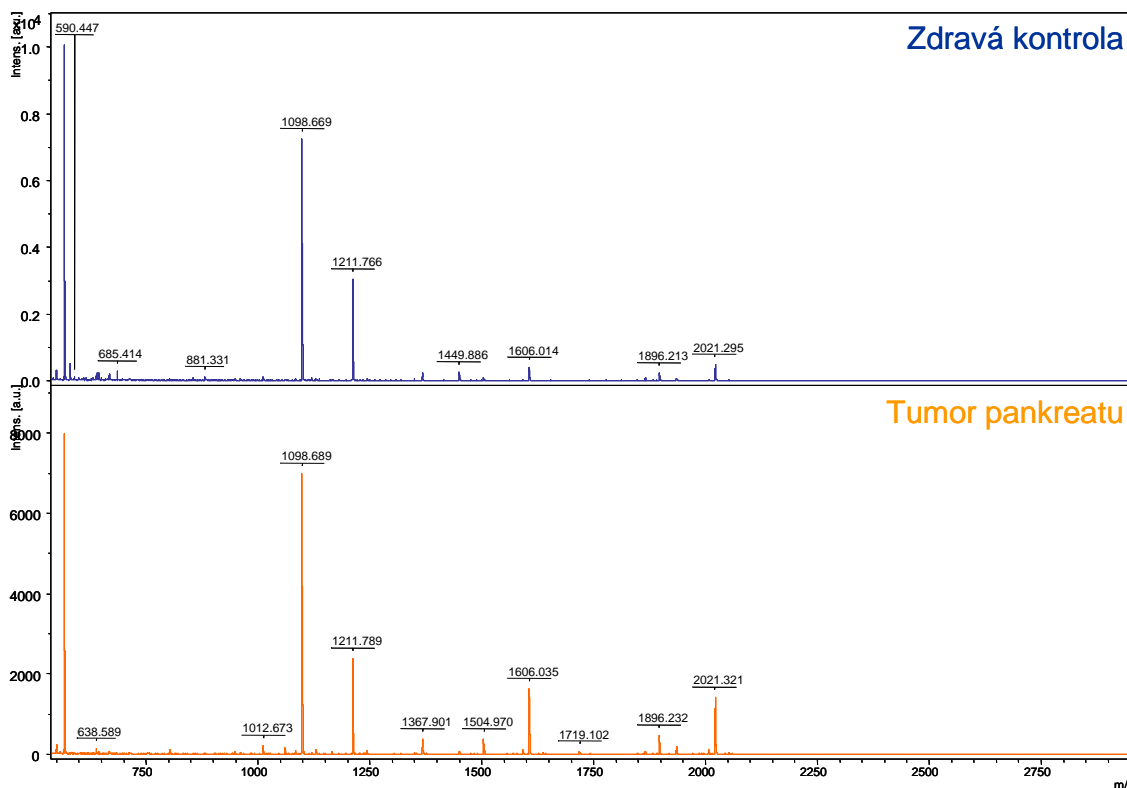
Vzhledem k tomu, že v námi vyšetřené skupině pacientů s nově diagnostikovaným DM se nepodařilo prokázat žádný případ PC, nebyla možná analýza a porovnání výsledků u podskupiny s prokázaným PC a bez něj. Proto byla v rámci řešení grantového projektu provedena rozsáhlá analýza dokumentace pacientů sledovaných s PC a retrospektivně bylo identifikováno 5 žijících pacientů, u nichž diagnóze PC předcházelo objevení se DM o méně než 3 roky. Séra těchto pacientů byla analyzována za použití MALDI a porovnána s výsledky zdravých kontrol.

Profilování pomocí MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization Time of Flight Mass Spektrometry – hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátořem) představuje nástroj, pomocí

kterého lze během několika minut získat ze vzorků informace o přítomnosti nebo zastoupení různých tříd látek. V případě klinické diagnostiky se zpravidla staví na schopnosti metody s vysokou citlivostí detekovat proteinové komponenty vzorků. Spektrum pozorovatelných látek lze výrazně ovlivnit metodou přípravy vzorku pro MALDI-TOF MS analýzu, zejména pak zařazením frakcionačního kroku či volbou podmínek samotné ionizace.

V případě PC byl v rámci studie Basso et al. (74) popsán postup přípravy vzorku séra vedoucí k detekci látky s molekulovou hmotností 2030 Da, jejíž přítomnost dobře korelovala s touto diagnózou u souboru 33 pacientů (14x PC, 9x ChP, 10x zdravá kontrola). Autoři detekovali tento potenciální marker po ultrafiltraci, kdy ze vzorků odstranili proteinové komponenty s molekulovou hmotností vyšší než 10 kDa. Cílem naší práce proto bylo v první fázi ověřit tento postup na vybraném souboru 13 pacientů (5x PC, 1x ChP, 1x karcinom neznámého origa, 6x zdravá kontrola). Oproti původní práci bylo vedle samotného profilování díky možnostem instrumentálního zázemí počítáno i s identifikací potenciálních markerů na základě MALDI-MS/MS analýzy. V další fázi pak byly testovány alternativní frakcionační postupy a metody přípravy vzorku, které by vedly k detekci opakovatelně pozorovatelných rozdílových signálů mezi skupinami pacientů.

V první fázi byl na dostupných vzorcích plazmy zopakován postup popsáný v práci Basso et al. Pro ověření metody byly testovány ultrafiltrační membrány celkem od tří výrobců. Získaná MALDI-TOF MS data se však ve všech případech diametrálně lišila od prezentovaných hmotnostních spekter v rámci uvedené studie. Vedle neúspěchu v detekci popsáných peptidových/proteinových komponent nebyly navíc ani pozorovány signály, které by odlišovaly hmotnostní spektra pacientů s PC od zdravých kontrol (Obrázek 1). Na základě MALDI-MS/MS analýz bylo zjištěno, že získané profily obsahují převážně fragmenty abundantních proteinů (fibrinogen, kininogen, komplement C3), tedy látek z hlediska specifické diagnostiky nepoužitelných.



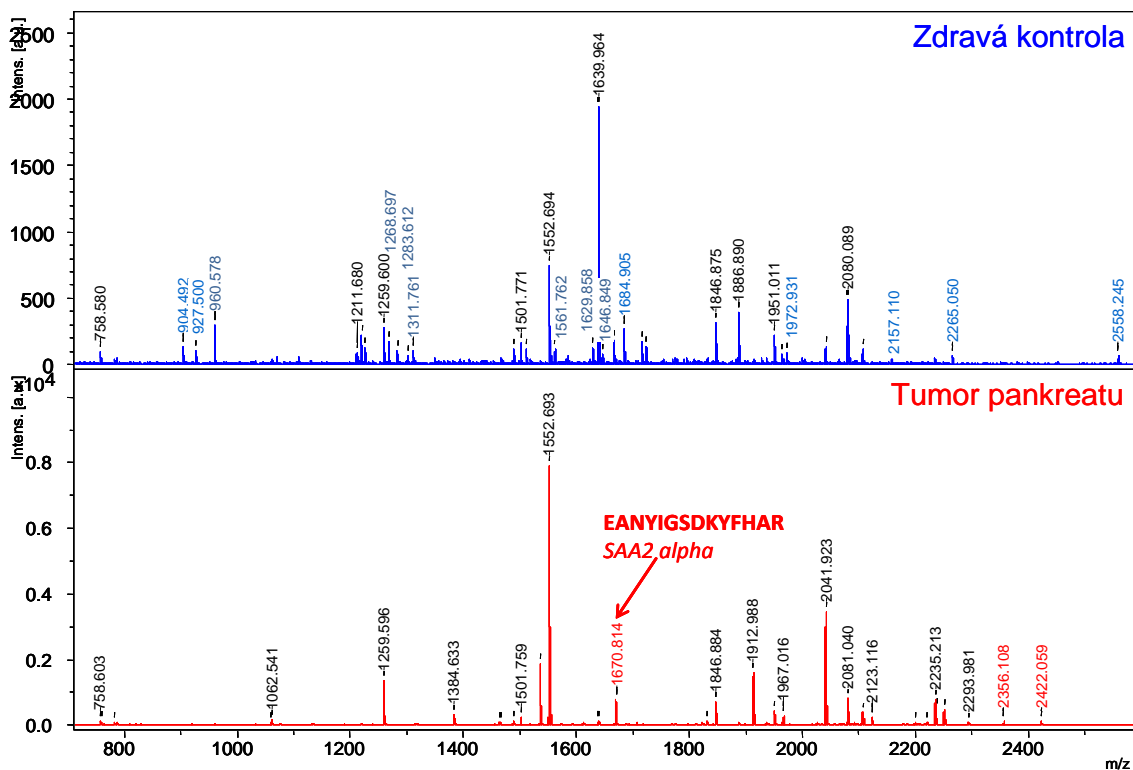
Obrázek 1: Srovnání MALDI-TOF MS profilů plazmy pacienta s tumorem pankreatu a zdravé kontroly po zopakování postupu popsaného v práci Basso et al. (ultrafiltrace vzorku s použitím cut-off filtru 10 kDa).

Z tohoto důvodu bylo v dalším kroku přistoupeno k depleci vzorků, tzn. odstranění sedmi abundantních proteinů. Tento krok však nepřinesl výrazné zlepšení výsledků analýzy, zřejmě z důvodu nekvantitativního odstranění abundantních proteinů (výrobce uvádí cca 90%). Nemalé komplikace pak způsobilo nadměrné zředění vzorků samotnou procedurou a zanesení solí z použitých pufrů do vzorků, což vyžadovalo využití dalších kroků v přípravě vzorku před samotnou MALDI-TOF MS analýzou. Testovaný depleční postup se tedy ukázal být nekompatibilní s následným MALDI-TOF MS profilováním.

V další fázi studie bylo přistoupeno k otestování kitů založených na afinitní separaci na funkcionalizovaných magnetických nosičích s cílem získání specifických frakcí, ve kterých by se podařilo pomocí MALDI-TOF MS profilování detekovat potenciální markery PC. Všechny v experimentální části uvedené frakcionační postupy byly otestovány na vybrané dvojici vzorků (PC vs. zdravá kontrola), přičemž vzorky byly frakcionaci podrobeny buď přímo, nebo po proteolýze trypsinem. V případě proteolýzy

trypsinem byl navíc testován vliv redukce (dithiothieitol) a alkylace (iodoacetamid) disulfidových můstků ve vzorku před digescí. Získané frakce pak byly analyzovány za použití čtyř různých podmínek MALDI-TOF MS analýzy, přičemž rozdílové signály byly v případě dostatečné intenzity analyzovány metodou MALDI-MS/MS s cílem identifikace pozorovaných látek.

Na základě testovaných postupů se ve většině případů nepodařilo pozorovat rozdílové signály mezi vzorkem plazmy pacienta s PC a zdravou kontrolou. Rozdílových signálů byl pozorován relativně nízký počet (Obrázek 2), značná část z nich pak nebyla pozorována při ověřovacích opakovaných analýzách. V případě úspěšné identifikace rozdílových peptidů se ve všech případech jednalo o fragmenty běžných ukazatelů zánětu (např. amyloid SAA2). V případě kitů určených pro izolaci glykosylovaných peptidů/proteinů pak byla prokázána jejich nefunkčnost.



Obrázek 2: Srovnání vzorků plazmy po digesci trypsinem, barevně jsou zvýrazněny rozdílové signály, v případě peptidu $m/z = 1670,8$ je uvedena sekvence určená na základě MALDI-MS/MS analýzy.

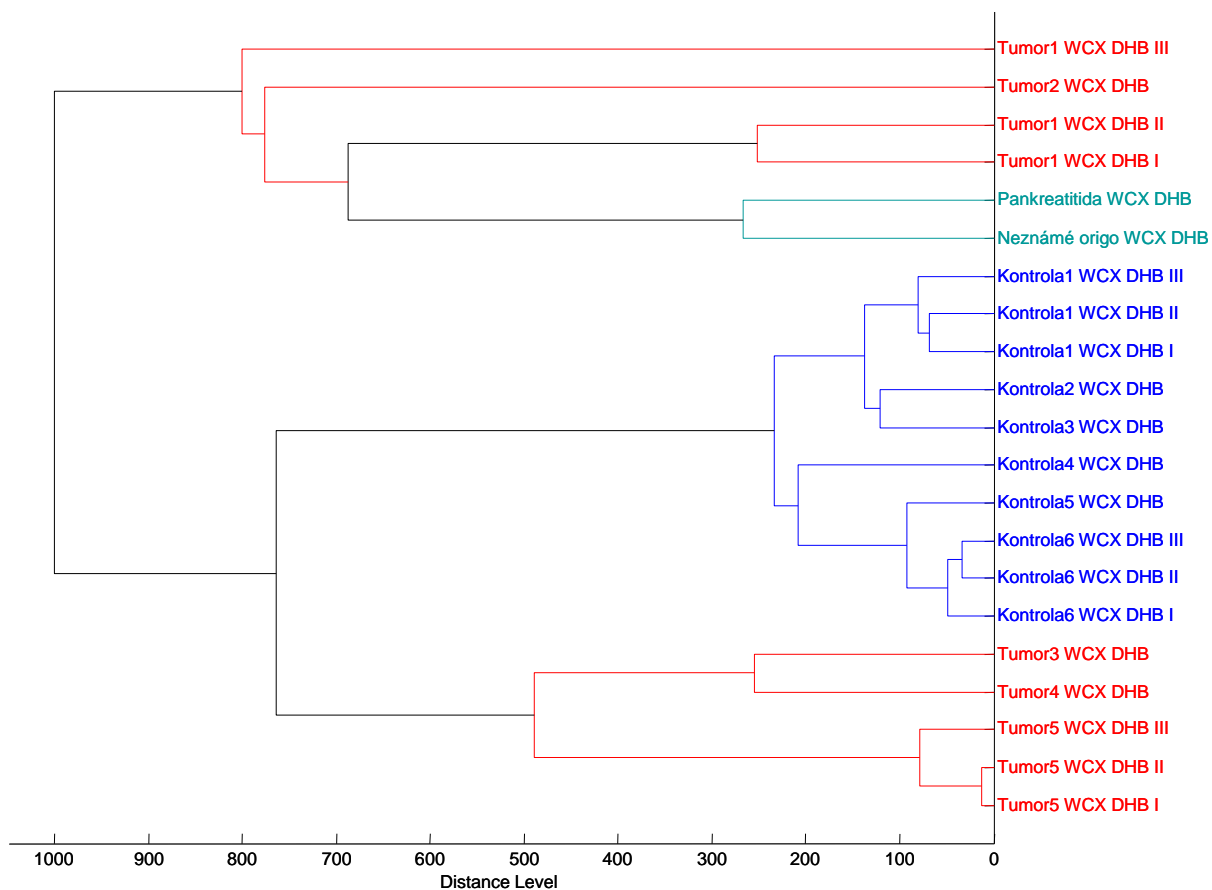
Na základě srovnání výstupů všech testovaných kombinací metod byly pro závěrečnou fázi studie vybrány tři postupy, které poskytly nejvyšší počet rozdílových signálů:

I. Plazma frakcionovaná na WCX a analyzovaná s DHB jako maticí v lineárním pozitivním módu detekce

II. Plazma po digesci trypsinem a analyzovaná s DHB jako maticí v reflektornovém pozitivním módu detekce

III. Plazma po digesci trypsinem a následné frakcionaci IMAC, analyzovaná s HCCA jako maticí v reflektornovém pozitivním módu detekce

Potenciální rozdílové píky vytipované na základě srovnání hmotnostních spekter dvou vzorků z předcházející fáze studie se v rámci série testovaných třinácti vzorků nepodařilo potvrdit ani u jedné ze tří vybraných metod. Ve většině případů se potenciální markery nevyskytovaly u všech pacientů s PC či se vyskytovaly zároveň i u pacientů s odlišnou diagnózou. Vedle kvalitativního srovnání MALDI-TOF MS profilů bylo přistoupeno k bioinformatickému zpracování dat pomocí shlukové analýzy. Na základě relativních intenzit všech pozorovaných signálů byly zkonstruovány dendrogramy vyjadřující vzájemnou podobnost MALDI-TOF MS profilů. K částečně úspěšnému rozdělení pacientů do klastrů došlo v případě použití metody I (Obrázek 3). V tomto případě se zdravé kontroly seskupily do separovaného klastru, zbývající vzorky nemocných pacientů pak do dvou klastrů rozdělených na základě přítomnosti signálů proteolytických štěpů proteinu SAA2. Pro potvrzení opakovatelnosti celého postupu byl u čtyř vybraných vzorků postup třikrát opakován. Bohužel opakovatelnost nebyla potvrzena.



Obrázek 3: Dendrogram vyjadřující vzájemnou příbuznost MALDI-TOF MS profilů získaných metodou I. Vzorok I, II, III odpovídají opakovaným analýzám.

Závěrem lze tedy laboratorní fázi studie zhodnotit tak, že perspektivní marker PC pozorovaný MALDI-TOF MS profilováním vzorků séra po oddělení vysokomolekulárních komponent ultrafiltrací se na základě zopakování popsaného postupu (Basso et al.) nepodařilo potvrdit. Testované metody přípravy vzorku pro MALDI-TOF MS analýzu založené na frakcionaci pomocí funkcionalizovaných magnetických nosičů a použití různých podmínek MALDI ionizace neposkytly signály, které by umožnily rozlišit pacienty s PC od pacientů s příbuznými diagnózami či zdravých kontrol.

4. Závěr

Karcinom pankreatu v současnosti představuje závažný medicínský problém s narůstající incidencí a přetrvávající špatnou prognózou způsobenou mimo jiné pozdní diagnostikou. Z tohoto důvodu se pankreatologický výzkum soustředí na snahu o zlepšení časné diagnostiky – mimo jiné definováním rizikových faktorů a screeningu skupin s vysokým rizikem rozvoje karcinomu pankreatu.

Předkládaná práce obsahuje 17 článků, které se spolu s propojujícím komentářem snaží postihnout různé aspekty rozvoje karcinomu pankreatu a možností jeho diagnostiky.

Zvláštní pozornost je věnována hlavním oblastem autorovy vědecké činnosti – vztahu mezi karcinomem pankreatu a dvěma souvisejícími chorobami - chronickou pankreatitidou a diabetem mellitem. Závěrečnou část práce tvoří dosud nepublikovaná studie pacientů s nově diagnostikovaných diabetem.

Na vlastních publikovaných datech dokumentujeme nárůst incidence karcinomu pankreatu a trvalý problém diagnostiky pokročilých stádií. Potvrdili jsme roli kouření jako významného rizikového faktoru rozvoje karcinomu pankreatu. Negativní vliv kouření se zdá být výraznější u diabetiků.

Dále pak tato práce sumarizuje současný pokrok na poli nádorových markerů, včetně vlastních publikovaných výsledků na tomto poli – využití markeru M2-pyruvát-kinázy jako potenciálního diferenciativně diagnostického markeru mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu.

Několik článků spolu s komentářem se věnuje roli chronického zánětu pankreatu (včetně role oxidativního stresu) v karcinogenezi. Prokázali jsme zvýšené riziko karcinomu pankreatu, ale též mimopankreatických malignit u pacientů s chronickou pankreatitidou a poukazujeme na nutnost jejich důsledné dispenzarizace.

Detailně je rozebrán dvojsečný vztah karcinomu pankreatu a diabetu, který může být jak rizikovým faktorem (v případě dlouhotrvající anamnézy diabetu), tak prvním projevem (v případě nově se objevujícího diabetu) jinak dosud asymptomatické pankreatické malignity. Vlastní studií jsme potvrdili vyšší prevalenci diabetu mezi pacienty s karcinomem pankreatu než v kontrolní skupině. Zajímavým a novým zjištěním byl fakt,

že pacienti s koincidencí karcinomu pankreatu a diabetu byli častěji ženy. Další výzkum musí potvrdit, jestli toto zjištění bude použitelné v rizikové stratifikaci pacientů.

Závěrečná část práce je tvořena dosud nepublikovanou prospektivní studií pacientů s nově diagnostikovaným diabetem, jehož klinický profil byl suspektní z možného vztahu k pankreatické malignitě. Ve shodě s ostatními autory se klinický profil diabetu nezdá dostatečným k definování rizikové skupiny pacientů s vysokým záchytem karcinomu pankreatu – v naší skupině jsme endosonograficky nazachytili žádný případ. Zklamáním skončila též laboratorní studie porovnávající proteinové profily sér pacientů s karcinomem pankreatu a kontrol. Profily nebyly dostatečně rozdílné a neumožňovaly tudíž diferenciální diagnostiku.

Závěrem lze říci, že přes významné pokroky v našich znalostech o karcinomu pankreatu a rizikových faktorech jeho vzniku není použitelnost v reálné klinické praxi vysoká a situace vyžaduje další intenzivní výzkum.

5. Seznam literatury doprovodného komentáře

1. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014;64:9-29.
2. Xie K, Wolff R, et al. Pancreatic cancer. *Lancet.* 2004;363:1049–1057.
3. Teich N, Mossner J. Hereditary chronic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2008;22:115-130.
4. Joergensen MT, Gerdes AM, Sorensen J. Is screening for pancreatic cancer in high-risk groups cost-effective? - Experience from a Danish national screening program. *Pancreatology.* 2016;16:584-92.
5. Lovecek M, Skalicky P, Klos D et al. Long-term survival after resections for pancreatic ductal adenocarcinoma. Single centre study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2016;160:280-6.
6. Euro Pancreatic Cancer Index 2014. Available from:
<http://www.healthpowerhouse.com>
7. Dan Grossjohann HS. Contrast-enhanced ultrasound for diagnosing, staging and assessment of operability of pancreatic cancer. *Med J.* 2012;59:B4536.
8. Kauhanen SP et al. A prospective diagnostic accuracy study of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography, multidetector row computed tomography, and magnetic resonance imaging in primary diagnosis and staging of pancreatic cancer. *Ann Surg.* 2009;250:957-63.
9. O'Malley ME et al. Adenocarcinoma of the head of the pancreas: determination of surgical unresectability with thin-section pancreatic-phase helical CT. *Am J Roentgenol.* 1999;173:1513-8.
10. Fröhlich A, Diederichs CG, Staib L, Vogel J, Beger HG, Reske SN. Detection of liver metastases from pancreatic cancer using FDG PET. *J Nuc Med.* 1999;40:250-255.
11. Higashi T et al. Diagnosis of pancreatic cancer using fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG PET): usefulness and limitations in "clinical reality". *Ann Nucl Med.* 2003;17:261–279.
12. Legmann P, Vignaux O, Dousset B et al. Pancreatic tumors: comparison of dual-phase helical CT and endoscopic sonography. *AJR Am J Roentgenol.* 1998;170:1315-22.
13. Uekitani T, Kaino S, Harima H et al. Efficacy of Contrast-enhanced Harmonic Endoscopic Ultrasonography in the Diagnosis of Pancreatic Ductal Carcinoma. *Saudi J Gastroenterol.* 2016;22:198–202.

14. Puli SR, Bechtold ML, Buxbaum JL et al. How good is endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in diagnosing the correct etiology for a solid pancreatic mass?: A meta-analysis and systematic review. *Pancreas*. 2013;42:20-6.
15. Bang JY, Hawes R, Varadarajulu S. A meta-analysis comparing ProCore and standard fine-needle aspiration needles for endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition. *Endoscopy*. 2016;48:339-49.
16. Low G et al. Multimodality imaging of neoplastic and nonneoplastic solid lesions of the pancreas. *Radiographics*. 2011;31:993-1015.
17. Prokesch RW et al. Isoattenuating pancreatic adenocarcinoma at multi-detector row CT: secondary signs. *Radiology*. 2002;224:764–768.
18. Frampas E., Morla O., Regenet N., et al. A solid pancreatic mass: Tumor or inflammation? Diagnostic and interventional imaging. 2013;94:741-755.
19. Campbell PJ, Yachida S, Mudie LJ, et al. The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer. *Nature*. 2010;467:1109–1113.
20. Humphris JL, Chang DK, Johns AL et al. The prognostic and predictive value of serum CA19.9 in pancreatic cancer. *Ann Oncol*. 2012;23:1713–1722.
21. Locker GY, Hamilton S, Harris J et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:5313–5327.
22. Kau SY, Shyr YM, Su CH et al. Diagnostic and prognostic values of CA 19-9 and CEA in periampullary cancers. *J Am Coll Surg*. 1999;188:415–420.
23. Yue T, Maupin KA, Fallon B, et al. Enhanced discrimination of malignant from benign pancreatic disease by measuring the CA19–9 antigen on specific protein carriers. *PLoS One*. 2011;6(12):e29180.
24. Ritchie SA, Chitou B, Zheng Q et al. Pancreatic cancer serum biomarker PC-594: Diagnostic performance and comparison to CA19-9. *World J Gastroenterol*. 2015;21:6604-12.
25. Okano K, Suzuki Y. Strategies for early detection of resectable pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20:11230-40.
26. Radon TP, Massat NJ, Jones R et al. Identification of a Three-Biomarker Panel in Urine for Early Detection of Pancreatic Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2015;21:3512-21.
27. Schönemeier B, Metzger J, Klein J et al. Urinary Peptide Analysis Differentiates Pancreatic Cancer From Chronic Pancreatitis. *Pancreas*. 2016;45:1018-26.

28. Terai K, Jiang M, Tokuyama W et al. Levels of soluble LR11/SorLA are highly increased in the bile of patients with biliary tract and pancreatic cancers. *Clin Chim Acta*. 2016;457:130-6.
29. Ingvarsson J, Wingren C, Carlsson A, et al. Detection of pancreatic cancer using antibody microarray-based serum protein profiling. *Proteomics*. 2008;8:2211–2219.
30. Grote VA, Kaaks R, Nieters A, et al. Inflammation marker and risk of pancreatic cancer: a nested case–control study within the EPIC cohort. *Br J Cancer*. 2012;106:1866–1874.
31. Shaw VE, Lane B, Jenkinson C et al. Serum cytokine biomarker panels for discriminating pancreatic cancer from benign pancreatic disease. *Mol Cancer*. 2014;13:114.
32. Gayral M, Jo S, Hanoun N et al. MicroRNAs as emerging biomarkers and therapeutic targets for pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20:11199-209.
33. Škrha P, Hajer J, Anděl M et al. miRNA jako nový ukazatel u diabetes mellitus a u rozvoje karcinomu pankreatu *Cas Lek Cesk*. 2015;154:122-6.
34. Vychytilova-Faltejskova P, Kiss I, Klusova S et al. MiR-21, miR-34a, miR-198 and miR-217 as diagnostic and prognostic biomarkers for chronic pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Diagn Pathol*. 2015;10:38.
35. Kleinert R, Prenzel K, Stoecklein N et al. Gene Expression of Col11A1 Is a Marker Not only for Pancreas Carcinoma But also for Adenocarcinoma of the Papilla of Vater, Discriminating Between Carcinoma and Chronic Pancreatitis. *Anticancer Res*. 2015;35:6153-8.
36. Heestand GM, Kurzrock R. Molecular landscape of pancreatic cancer: implications for current clinical trials. *Oncotarget*. 2015;6:4553-61.
37. Gu H, Xin X, Pan Y et al. Telomerase activity as a marker for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Int J Biol Markers*. 2016;31:e126-37.
38. Hata T, Ishida M, Motoi F et al. Telomerase activity in pancreatic juice differentiates pancreatic cancer from chronic pancreatitis: A meta-analysis. *Pancreatology*. 2016;16:372-81.
39. Howes N, Neoptolemos JP. Risk of pancreatic ductal adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut*. 2002;51:765-766.
40. Garcea G, Dennison AR, Steward WP et al. Role of the inflammation in pancreatic carcinogenesis and the implications for future therapy. *Pancreatology*. 2005;5:514-529.

41. Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. *Surg Oncol.* 2002;10:153-169.
42. Ulrich CD, Kopras E, Wu Y et al. Hereditary pancreatitis: epidemiology, molecules, mutations, and models. *J Lab Clin Med.* 2000;136:260-274.
43. Teich N, Schulz HU, Witt H. N34S, a Pancreatitis Associated SPINK1 Mutation, Is Not Associated with Sporadic Pancreatic Cancer. *Pancreatology.* 2003;3:67-68.
44. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Whitcomb DC et al. Cigarette smoking as a risk factor for pancreatic cancer in patients with hereditary pancreatitis. *JAMA.* 2001;286:169-170.
45. Malfertheiner P, Schutte K. Smoking - a trigger for chronic inflammation and cancer development in the pancreas. *Am J Gastroenterol.* 2006;101:160-162.
46. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:579-586.
47. Hruban RH, Wilentz RE, Kern SE. Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am J Pathol.* 2000;156:1821-1825.
48. Tannapfel A, Witzigmann H, Wittekind C. Pancreatic intraepithelial neoplasia in chronic pancreatitis. *Zentralbl Chir.* 2001;126:879-883.
49. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO et al. Cyclo-oxygenase 2: A pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol.* 2001;2:544-551.
50. Kokawa A, Kondo H, Gotoda D et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 in human pancreatic neoplasms and potential chemoprevention by cyclooxygenase inhibitors. *Cancer.* 2001;91:333-338.
51. Chu J, Lloyd FL, Trifan OC et al. Potential involvement of cyclooxygenase-2 pathway in the regulation of tumor associated angiogenesis and growth in pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther.* 2003;2:1-7.
52. Schlosser W, Schlosser S, Ramadani M et al. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in chronic pancreatitis. *Pancreas.* 2002;25:26-30.
53. Albazaz R, Verbeke CS, Rahman SH et al. Cyclooxygenase-2 expression associated with severity of PanIN lesions: a possible link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology.* 2005;5:361-369.
54. Maitra A, Ashfaq R, Gunn CR et al. Cyclooxygenase 2 expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol.* 2002;118:194-201.

55. Shiokawa M, Kodama Y, Yoshimura K et al. Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:610-7.
56. Schneider A, Hirth M, Münch M et al. Risk of Cancer in Patients with Autoimmune Pancreatitis: A Single-Center Experience from Germany. *Digestion*. 2017;95:172-180.
57. Ikeura T, Miyoshi H, Uchida K et al. Relationship between autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer: a single-center experience. *Pancreatology*. 2014;14:373-9.
58. Gupta R, Khosroshahi A, Shinagare S et al. Does autoimmune pancreatitis increase the risk of pancreatic carcinoma?: a retrospective analysis of pancreatic resections. *Pancreas*. 2013;42:506-10.
59. Hart PA, Kamisawa T, Brugge WR, et al. Long-term outcomes of autoimmune pancreatitis: a multicentre, international analysis. *Gut*. 2013;62:1771-6.
60. Hart PA, Law RJ, Dierkhising RA et al. Risk of cancer in autoimmune pancreatitis: a case-control study and review of the literature. *Pancreas* 2014;43:417-21.
61. Ikeura T, Miyoshi H, Shimatani M et al. Long-term outcomes of autoimmune pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2016;22:7760-6.
62. Yamamoto M, Takahashi H, Tabeya T et al. Risk of malignancies in IgG4-related disease. *Mod Rheumatol*. 2012;22:414-8.
63. Hirano K, Tada M, Sasahira N et al. Incidence of malignancies in patients with IgG4-related disease. *Intern Med*. 2014;53:171-6.
64. Macinga P, Pulkertova A, Bajer L et al. Simultaneous occurrence of autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer in patients resected for focal pancreatic mass. *World J Gastroenterol*. 2017;23:2185-2193.
65. Ragozzino M, Melton LJ 3rd, Chu CP et al. Subsequent cancer risk in the incidence cohort of Rochester, Minnesota residents with diabetes mellitus. *J Chronic Dis*. 1982;35:13-9.
66. Bonelli L, Aste H, Bovo P et al. Exocrine Pancreatic Cancer, Cigarette Smoking and Diabetes Mellitus: A Case Control Study in Northern Italy. *Pancreas*. 2003;27:143-149.
67. Ben Q, Xu M, Ning X et al. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer*. 2011;47:1928-1937.
68. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG et al. Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: Prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology*. 2008;134:95-101.

69. Chari ST, Leibson CL, de Andrade M, et al. Probability of pancreatic cancer following diabetes: A population-based study. *Gastroenterology*. 2005;129:504–11.
70. Noy A, Bilezikian JP. Diabetes and pancreatic cancer: clues to the early diagnosis of pancreatic malignancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79:1223–1231.
71. Pannala R, Leirness JB, Bamlet WR et al. Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. *Gastroenterology*. 2008;134:981-987.
72. Damiano J, Bordier L, Le Berre JP et al. Should pancreas imaging be recommended in patients over 50 years when diabetes is discovered because of acute symptoms? *Diabet Metab*. 2004;30:203–207.
73. Ogawa Y, Tanaka M, Inoue K, et al. A prospective pancreatographic study of the prevalence of pancreatic carcinoma in patients with diabetes mellitus. *Cancer*. 2002;94:2344-9.
74. Basso D, Valerio A, Seraglia R et al. Putative Pancreatic Cancer-Associated Diabetogenic Factor: 2030 MW Peptide. *Pancreas*. 2002;24:8–14.

6. Seznam tabulek

Tabulka 1: Rizikové faktory pro rozvoj PC.....	21
Tabulka 2: Vstupní kritéria atypického diabetes mellitus pro vstup do studie	120
Tabulka 3: Demografická data.....	121
Tabulka 4: Vybrané laboratorní hodnoty.....	122
Tabulka 5: Endosonografické nálezy.....	122

7. Seznam obrázků

Obrázek 1: Srovnání MALDI-TOF MS profilů plazmy pacienta s tumorem pankreatu a zdravé kontroly po zopakování postupu popsaneho v práci Basso et al. (ultrafiltrace vzorku s použitím cut-off filtru 10 kDa).....	125
Obrázek 2: Srovnání vzorků plazmy po digesci trypsinem, barevně jsou zvýrazněny rozdílové signály, v případě peptidu $m/z = 1670,8$ je uvedena sekvence určená na základě MALDI-MS/MS analýzy.....	126
Obrázek 3: Dendrogram vyjadřující vzájemnou příbuznost MALDI-TOF MS profilů získaných metodou I. Vzorky I, II, III odpovídají opakovaným analýzám.	128