

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicině
Fyziologie a patofyziologie člověka



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Peter Mačina

Patofyziologie chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu

Chronická pankreatitida a karcinom pankreatu

Pathophysiology of chronic pancreatitis and pancreatic cancer

Chronic pancreatitis and pancreatic cancer

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Tomáš Hucl Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně, a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze,

Peter Mačinga

Podpis

Poděkování:

Tímto bych chtěl vyjádřit vřelé poděkování svému školiteli, panu doc. MUDr. Tomáši Huclovi Ph.D., za skvělé odborné vedení a podněty v přípravě dizertační práce, neocenitelné rady a připomínky a rovněž za mimořádně přátelský vztah, který jsme si v průběhu naší spolupráce vytvořili.

Další poděkování patří všem pracovníkům Oddělení molekulární biologie nádorů Ústavu experimentální medicíny AV ČR, bez jejichž spolupráce by následující výsledky nevznikly. Především to jsou MUDr. Pavel Vodička CSc., MUDr. Ludmila Vodičková CSc. a Ing. Alena Opattová PhD.

V neposlední řadě chci poděkovat panu prof. MUDr. Juliovi Špičákovi CSc., který mi umožnil se věnovat vědecké práci.

Vřelé poděkování patří i mé rodině, přátelům a kolegům za jejich podporu a pomoc.

V Praze,

Peter Mačinga

Podpis

Identifikační záznam:

MAČINGA, Peter. *Patofyziologie chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu: Chronická pankreatitida a karcinom pankreatu. [Pathophysiology of chronic pancreatitis and pancreatic cancer: Chronic pancreatitis and pancreatic cancer]*. Praha, 2019. 87 s., 4 příl. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Klinika hepatogastroenterologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha. Vedoucí práce: HUCL, Tomáš.

OBSAH

SOUHRN.....	11
ABSTRACT	12
SEZNAM POUŽITÝCH SKRATEK	13
ÚVOD DO PROBLÉMU	15
CHRONICKÁ PANKREATITIDA	15
Fyziologie exokrinního pankreatu	15
Klasifikace a etiologie chronické pankreatitidy	18
Etiologie	18
Patogeneze	27
Shrnutí	32
KARCINOM PANKREATU.....	33
Epidemiologie	33
Patogeneze	35
Prekurzory karcinomu pankreatu.....	37
VZTAH CHRONICKÉ PANKREATITIDY A KARCINOMU PANKREATU.....	39
HYPOTÉZY:	42
CÍLE PRÁCE:.....	42
METODY.....	43
1. AUTOIMUNITNÍ PANKREATITIDA A KARCINOM PANKREATU	43
1A. Retrospektivní analýza	43
1B. Prospektivní sledování	43
1C. Systematické scoping review	43
2. SPOLEČNÁ GENETICKÁ PREDISPOZICE CHRONICKÉ PANKREATITIDY A KARCINOMU PANKREATU	46
Studovaná populace	46
Selekce SNP	46
Příprava vzorku a genotypizace.....	47
Statistická analýza	48
VÝSLEDKY	49
1. AUTOIMUNITNÍ PANKREATITIDA A KARCINOM PANKREATU	49
1A. Retrospektivní analýza	49
1B. Prospektivní sledování	55

1C. Systematické scoping review	56
2. SPOLEČNÁ GENETICKÁ PREDISPOZICE CHRONICKÉ PANKREATITIDY A KARCINOMU PANKREATU	61
Kontrola kvality a filtrování dat	61
Efekt SNPs na susceptibilitu ke KP	61
Efekt SNPs na susceptibilitu k CHP	61
DISKUZE	65
Autoimunitní pankreatitida a karcinom pankreatu.....	65
Společná genetická predispozice chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu	69
ZÁVĚRY	71
Vztah autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu	71
Společná genetická predispozice chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu	71
REFERENCE	72
SEZNAM PŘÍLOH DISERTAČNÍ PRÁCE	87

SOUHRN

Chronická pankreatitida je rizikovým faktorem vzniku karcinomu pankreatu. Přesný mechanismus, jakým vede chronický zánět pankreatu ke vzniku malignity, není doposud znám, předpokládá se i možnost společné genetické predispozice obou onemocnění. U autoimunitní pankreatitidy nebyla taková asociace doposud popsána.

Cílem naší práce bylo přispět k hlubšímu porozumění vztahu mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu. Studium propojení těchto dvou onemocnění probíhalo synchronně ve dvou projektech. První se zaměřil na výskyt karcinomu pankreatu u pacientů s autoimunitní pankreatitidou. V druhém projektu jsme sledovali výskyt genetických variant asociovaných s chronickou pankreatitidou u pacientů s karcinomem pankreatu.

V retrospektivní studii vlastního souboru pacientů jsme jako jedni z prvních ve světě prokázali výskyt karcinomu pankreatu u pacientů s autoimunitní pankreatitidou a jako prozatím jediní jsme definovali charakteristiku takových pacientů. K posouzení asociace těchto onemocnění jsme provedli systematické review, kde jsme identifikovali všechny publikované případy koincidence karcinomu pankreatu a autoimunitní pankreatitidy; incidence karcinomu v populaci pacientů s autoimunitní pankreatitidou byla obdobná jako u pacientů s jinou chronickou pankreatitidou. Na základě těchto poznatků lze usuzovat na autoimunitní pankreatitidu jako rizikový faktor v etiopatogenezi karcinomu pankreatu.

K posouzení možné společné genetické susceptibility chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu jsme provedli case-control analýzu 5 vybraných rizikových genových lokusů pro chronickou pankreatitidu u pacientů s chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu. U 4 z 5 studovaných variant jsme potvrdili jejich význam v susceptibilitě k vzniku chronické pankreatitidy a dokázali jsme vyloučit významné překrytí běžných rizikových lokusů (tzn. lokusů s vysokou frekvencí v běžné populaci) mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu.

ABSTRACT

Chronic pancreatitis is considered a risk factor for pancreatic cancer. An exact mechanism how chronic inflammation of the pancreas leads to pancreatic cancer is not yet understood; the possibility of a shared genetic predisposition for both diseases is also assumed. A similar association in patients with AIP has not yet been demonstrated.

The aim of our work was to expand the knowledge about relationship between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. We studied the association of the diseases in two synchronous projects. In the first one, we examined the occurrence of pancreatic cancer in patients with autoimmune pancreatitis. In the second project, we investigated the presence of genetics variants associated with chronic pancreatitis in patients with pancreatic cancer.

In the retrospective study of our cohort of patients, we were one of the very first in the world to show occurrence of pancreatic cancer in patients with autoimmune pancreatitis, and as the only one, we have defined the characteristics of such patients. To assess the association of the diseases, we performed a systematic review where we identified all reported cases of coincidence of pancreatic cancer and autoimmune pancreatitis; the incidence of cancer in patients with autoimmune pancreatitis was similar to that of patients with other chronic pancreatitis. Based on these findings, autoimmune pancreatitis might be considered as a risk factor in the etiopathogenesis of pancreatic cancer.

To assess the possible shared genetic susceptibility of chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma, we have performed a case-control analysis of 5 selected risk gene loci for chronic pancreatitis in patients with chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. In 4 of the 5 variants studied, we confirmed their significance in the susceptibility to chronic pancreatitis, and we were able to rule out the significant overlap of common susceptibility loci (i.e., loci with high frequency in the general population) between chronic pancreatitis and pancreatic cancer.

SEZNAM POUŽITÝCH SKRATEK

CHP	- chronická pankreatitida
PRSS1	- serine protease 1
PRSS2	- serine protease 2
PRSS3	- serine protease 2
CTRC	- chymotrypsin C
SPINK1	- serine protease inhibitor, Kazal type 1
CFTR	- cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CASR	- calcium-sensing receptor
AIP	- autoimunitní pankreatitida
LPSP	- lymfoplazmocyární sklerozující pankreatitida
IDCP	- idiopatická duktocentrická pankreatitida
PSP	- pancreatic stone protein
ROS	- reactive oxygen species
SAPE	- sentinel acute pancreatic event
TGF beta	- transforming growth factor beta
TNF alfa	- tumor necrosis factor alpha
PDGF	- platelet derived growth factor
MMP	- matrixové metaloproteinázy
TIMP	- tkáňové inhibitory metaloproteináz
BRCA2	- breast cancer 2
CDKN2A	- cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A
STK11	- Serine/threonine kinase 11
HMSH2	- human mutS homolog 2
HMLH1	- human mutL homolog 1
HPMS2	- human postmeiotic segregation 2
MMR	- mismatch repair
MSI	- mikrosatelitová nestabilita
KRAS	- Kirsten rat sarcoma virus oncogene homolog
TP53	- Tumor protein p53
MADH4	- Mothers against decapentaplegic homolog 4
SMAD4	- viz MADH4
BRAF	- v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B

AKT2	- AKT Serine/Threonine Kinase 2
NF-kappa B	- nuclear factor kappa B
PanIN	- pankreatická intraepiteliální neoplázie
IPMN	- intraduktální papilární mucinózní neoplázie
MCN	- mucinózní cystická neoplázie
CEA	- karcinoembryonální antigen
ICDC	- international consensus diagnostic criteria
GEL	- granulocytární epiteloidní léze
KP	- karcinom pankreatu
SNPs	- jednonukleotidové polymorfismy
GWAS	- celogenomová asociační studie
HWE	- Hardy-Weinbergova rovnováha
MUM1L1	- multiple myeloma oncogene 1 like 1
MTPAP	- mitochondrial poly(A) polymerase
SAMD12-TNFRSF11B	- sterile alpha motif domain containing 12 - TNF receptor superfamily member 11b
CLDN2	- Claudin 2
MORC4	- MORC family CW-type zinc finger 4
IgG4	- imunoglobulin G4
FUT2	- fukosyltransferáza 2

ÚVOD DO PROBLÉMU

CHRONICKÁ PANKREATITIDA

Chronická pankreatitida (CHP) je onemocnění charakterizované progresivním a ireverzibilním poškozením žlázy s následnou alterací endokrinní a exokrinní funkce. Společnými histopatologickými znaky jsou fibróza, acinární atrofie, chronický zánět a přestavba pankreatických vývodů. V některých případech jsou přítomny i kalcifikace a lymfoplazmocytární infiltrace.

Incidence CHP je geograficky rozdílná, a byť jsou recentní epidemiologické studie vzácné, lze pozorovat její rostoucí trend. Ve vyspělých zemích se incidence nemoci pohybuje od 5,4 do 8,6 na 100000 obyvatel/rok (1, 2), v České republice dosáhla v oblasti jižní a střední části Moravy hodnoty 7,9 na 100000 obyvatel/rok (3).

Z klinického hlediska chronickou pankreatitidu charakterizují bolest, maldigesce a diabetes. Charakteristická bolest v nadbřišku s iradiací do zad je obvyklým symptomem. Její vývoj je obtížně předvídatelný, ale většinou v průběhu onemocnění dochází k zmírnění nebo vymizení bolesti. Porucha trávení se projevuje steatoreou a úbytkem tělesné hmotnosti, obvykle se manifestuje v pokročilejším stadiu onemocnění, kdy klesá sekrece lipázy pod deset procent normální hodnoty. Maldigesce tuků se steatoreou předchází kachektizací, jelikož sekrece lipázy se snižuje rychleji než sekrece proteázy či amylázy. Pankreatogenní diabetes (typ 3c dle Americké Diabetické Asociace) je pozdním příznakem onemocnění a vzniká důsledkem destrukce buněk pankreatických ostrůvků. Jeho léčba bývá komplikována vyšším rizikem hypoglykémie při současné nedostatečné syntéze glukagonu. Kauzální terapie CHP neexistuje, mezi základní pilíře léčby patří symptomatická léčba bolesti, náhrada ztracené trávící funkce pankreatickými enzymy a substituce inzulínu u pankreatogenního diabetu. V některých případech je nutná endoskopická či chirurgická intervence.

Fyziologie exokrinního pankreatu

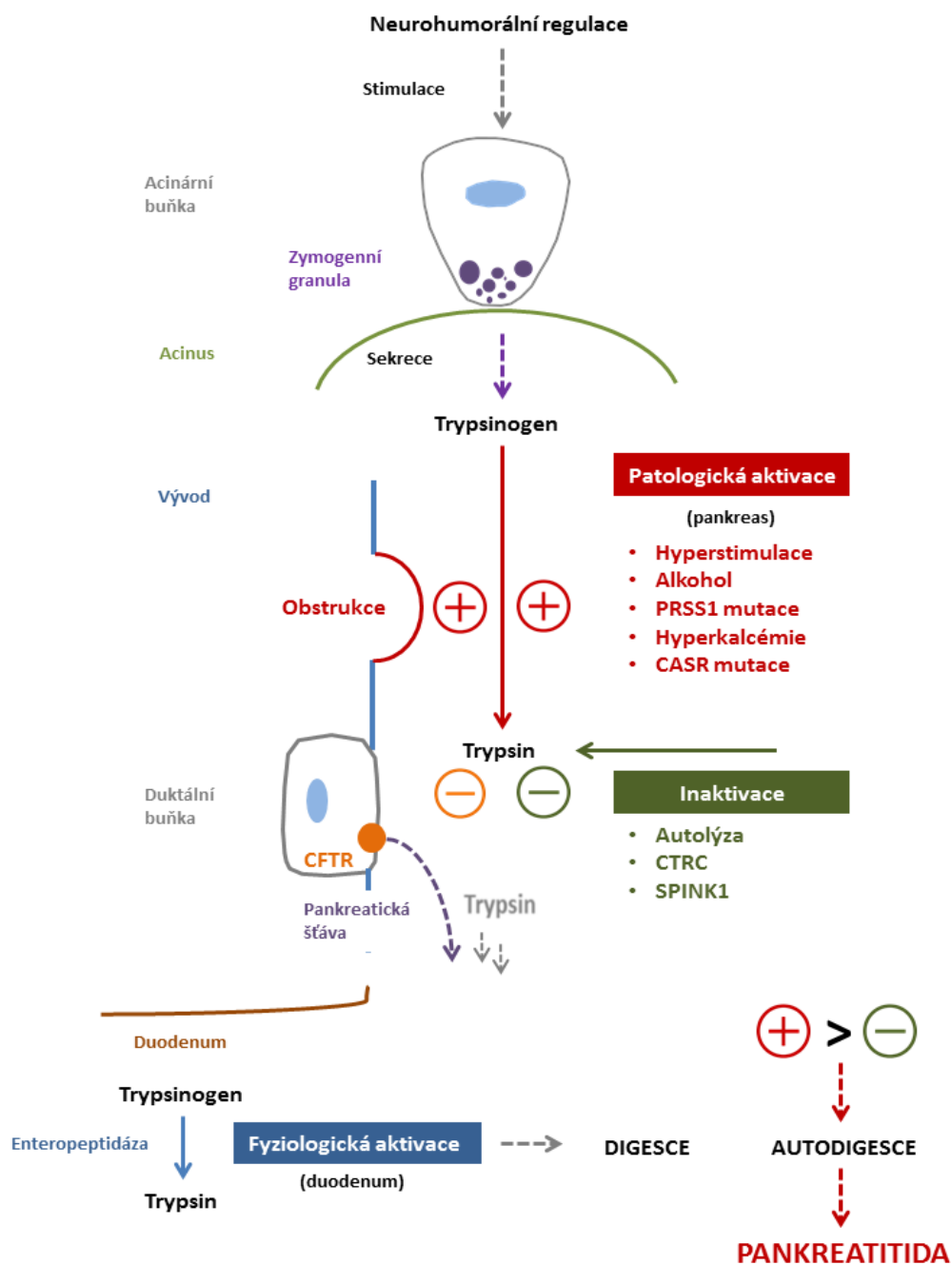
K pochopení patologických procesů vedoucích k chronické pankreatidě je nutná znalost struktury a funkce normálního pankreatu. Slinivka břišní je žláza s exokrinní a endokrinní funkcí, která má zásadní úlohu v asimilaci a utilizaci energetických zdrojů organismu. Exokrinní pankreas je tvořen acinárními buňkami a buňkami pankreatických vývodů.

Aciny, obsahující acinární a tubulární buňky, jsou primární funkční jednotkou exokrinního pankreatu. V acinárních buňkách dochází k syntéze inaktivních digestivních

enzymů (zymogenů), úlohou tubulárních buněk je sekrece vody a zásaditých hydrogenuhličitanů. Zymogeny jsou za fyziologických podmínek vyplaveny v alkalické pankreatické šťávě do střeva, kde jsou pak aktivovány. Hlavní roli v procesu aktivace sehrává trypsin, který moderuje konverzi samotného trypsinogenu na jeho aktivní formu a iniciuje aktivační kaskádu ostatních digestivních proenzymů. Trypsinogen je syntetizován na ribozomech acinárních buněk ve formě prezymogenu (pretrypsinogen), potranslačně pak v drsném endoplasmatickém retikulu dochází k odštěpení signálního peptidu o délce 15 aminokyselin. Hotový trypsinogen je dále transportován do Golgiho aparátu, uskladněn v sekrečních granulech a nakonec vyloučen cestou pankreatických vývodů do střeva, kde je aktivován odštěpením aktivačního peptidu o délce 8 aminokyselin. V pankreatické šťávě byly popsány 3 různé formy trypsinogenu, které pak byly na základě své elektroforetické mobility označeny jako (i.) kationický trypsinogen (PRSS1), (ii.) anionický trypsinogen (PRSS2) a (iii.) mesotrypsinogen (PRSS3). Nejvíce zastoupeným izoenzymem je PRSS1 (≈50-70%), následován PRSS2 (≈30-40%), podíl PRSS3 na celkovém trypsinogenu v pankreatické šťávě je malý (≈2-10%)(4). Důležitou úlohu v procesu aktivace trypsinogenu má hladina kalcia. Vysoká koncentrace vápníku vede k stabilizaci aktivačního místa, čímž umožní odštěpení aktivačního peptidu (5). Samotné štěpení trypsinogenu ale nevede k aktivaci trypsinu – k tomu je nutné i prostorové uspořádání N-konce zbylého proteinu do globulární formy a interakce s vnitřní částí trypsinu (6). Tento děj je pH-dependentní a dochází k němu s nejvyšší intenzitou při hladině pH mezi 7 a 8 (7). Nízké intracelulární pH (<7,15) acinárních buněk u pacientů s ketoacidózou tudíž rovněž usnadňuje aktivaci trypsinu a spolu s tranzientní hyperlipidémií tím může vést k akutní pankreatitidě (8).

Předčasná intrapancreatická aktivace zymogenů (zejména trypsinogenu) vede k poškození buněk a následné indukci zánětlivé odpovědi, kterou klinicky rozeznáváme jako akutní pankreatitidu (9). Z tohoto důvodu jsou součástí exokrinního pankreatu četné protektivní mechanismy, které aktivitu pankreatických enzymů kontrolují (obrázek č. 1). Ochrannou funkci má autolýza trypsinu, při které trypsin a CTFC (chymotrypsinogen C - proteolytický zymogen aktivovaný trypsinem) štěpí trypsinogen a trypsin na specifických místech (Arg-122-Val-123, Leu-81-Glu-82) a tím jej inaktivují (10, 11). Ionty kalcia se na trypsin vážou i v blízkosti Arg122 a změnou konformace molekuly snižují jeho vulnerabilitu vůči autolýze (12). Vysoká hladina kalcia se tak podílí nejenom na aktivaci trypsinu, ale brání i jeho inaktivaci. Jiným inhibítozem intrapancreatické aktivity trypsinu je SPINK1 (serine protease inhibitor, Kazal type 1), který obsahuje specifické vazební místo pro trypsin. Inhibice trypsinu proteinem SPINK1 je ale pouze dočasná, protože samotný komplex trypsin-SPINK1

je substrátem pro trypsin, což vede k následné degradaci inhibiční molekuly a obnově původní enzymatické aktivity trypsinu (13). Dalším obranným mechanismem pankreatu je přítomnost CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) proteinu na apikální membráně tubulárních buněk. Při detekci enzymatické aktivity trypsinu prostřednictvím receptorů na lumenální povrchu (jako PAR 1 a 2 [protease-activated receptor]) dochází k změně permeability CFTR a následnému uvolnění sekretu bohatého na bikarbonáty, který pak odplaví intraluminální obsah tubulů do duodena (14).



Obrázek č. 1

Klasifikace a etiologie chronické pankreatitidy

Ideální klasifikační systém chronické pankreatitidy by měl být jednoduchý, přesný, objektivní, co nejméně invazivní a měl by zahrnout etiologii, patogenezi, strukturální i funkční změny parenchymu a v neposlední řadě klinické projevy nemoci. Taková klasifikace v současné době neexistuje, a to i přesto, že od konce padesátých let minulého století vzniklo velké množství různých klasifikačních systémů, které se setkaly s větší nebo menší mírou přijetí gastroenterologickou obcí. Za nejdůkladnější klasifikaci současnosti, byť ne ideální, je považována velmi detailní M-ANNHEIM klasifikace, kterou navrhl Schneider a spol. v roce 2007 (15) v německém Mannheimu. Systém obsahuje definici nemoci a jejích komplikací, rizikových faktorů a diagnostických kritérií (kritéria zobrazovacích metod byly převzaty z Cambridgeské klasifikace) (16). Současně tato klasifikace klade mimořádný důraz na všechny parametry související s klinickou manifestací chronické pankreatitidy, především na přesné vyjmenování všech možných klinických projevů v jednotlivých stádiích nemoci. Na rozdíl od starších klasifikací obsahuje M-ANNHEIM klasifikace bodovací systém k stanovení pokročilosti nemoci, tzv. severity index. Pro praktické použití v denní praxi se ale více hodí TIGARO klasifikace (17), jejíž název vznikl spojením počátečních písmen anglických adjektiv charakterizujících jednotlivé rizikové faktory CHP, v jednoslovný pojem.

Etiologie

Toxicko-metabolická

Vliv alkoholu na vznik CHP

Ve vyspělých zemích byl alkohol dlouho považován za hlavní etiologický faktor chronické pankreatitidy, zatímco v rozvojových krajinách byla nejvíce zastoupená idiopatická forma chronické pankreatitidy. V českých zemích byla prevalence alkoholické chronické pankreatitidy odhadnuta na 70% (3). Výsledky recentních multicentrických studií z Itálie a USA však ukazují pokles zastoupení alkoholické CHP na 34%, respektive 44% (18, 19). Zůstává otázkou, zdali tento výsledek souvisí s charakterem studií (obě proběhly v referenčních centrech), se změnou chápání role alkoholu na rozvoji CHP, či skutečně odráží změnu v zastoupení příčin chronické pankreatitidy.

Riziko rozvoje chronické pankreatitidy následkem chronické konzumace alkoholu je v porovnání s ostatními chorobami indukovanými alkoholem relativně nízké a je závislé na dávce. V české literatuře je obvykle udáváno, že ke vzniku chronické alkoholické pankreatitidy vede letitý příjem alkoholu v množství nad 75g u mužů a 40g u žen (20).

Recentně publikované case-control (21), populační studie (22) i metaanalýzy (23) prokázaly exponenciální vztah mezi rizikem vzniku chronické pankreatitidy a mírou konzumace alkoholu, přičemž výsledky všech tří linií epidemiologického výzkumu naznačují, že musí být překročena jistá prahová dávka k tomu, aby se alkohol uplatnil jako rizikový faktor chronické pankreatitidy. Za prahovou dávku označují asi 4-5 drinků denně (jeden drink obsahuje přibližně 12g čistého alkoholu). Platí ale, že absolutní riziko rozvoje chronické pankreatitidy je velmi nízké i u osob s vysokým příjmem alkoholu. V minulosti se předpokládalo, že akutní či chronickou pankreatitidu vyvine 10-20% konzumentů významného množství alkoholu (24). Některé nové studie však ukazují, že se může jednat dokonce až o pouze 3% takových konzumentů (22, 25, 26). Svědčí proto i fakt, že konzumace i většího množství alkoholu je v populaci relativně obvyklá, zatímco chronická pankreatitida nikoliv. Zdá se tedy, že ke vzniku chronické pankreatitidy je vedle příjmu prahové dávky alkoholu nutná i interakce s dalšími genetickými či environmentálními faktory. Tuto teorii podporují také výsledky experimentálních studií ve zvířecích modelech. Alkohol potencoval vznik ceruleinem indukované chronické pankreatitidy (27), zatímco zvířata vystavená pouze dlouhodobé konzumaci alkoholu nemoc nevyvinula (28). Příkladem genetického vlivu je například signifikantně vyšší prevalence *SPINK1* mutací u pacientů s alkoholickou CHP v porovnání s nemocnými s idiopatickou CHP, zdravými kontrolami, či nemocnými s alkoholickou jaterní cirhózou (29). U nemocných s alkoholickou chronickou pankreatitidou byl rovněž vyšší výskyt *CTRC* mutací v porovnání se zdravou populací (30).

Experimentální studie prokázaly, že chronický příjem alkoholu indukuje změny v acinárních buňkách, které vedou k předčasné aktivaci digestivních enzymů. Pankreaty potkanů exponovaných alkoholu měly vyšší obsah jak trávících a lyzozomálních enzymů, tak i jejich mRNA (31). Rovněž byla prokázána vyšší fragilita organel, kde jsou tyto enzymy skladovány (32). Tyto změny mohou vést k zvýšené pravděpodobnosti kontaktu lyzozomálních a trávících enzymů a následně k předčasné intracelulární aktivaci digestivních enzymů a autodigestivnímu poškození žlázy. Alkohol je v pankreatu metabolizován na acetaldehyd (oxidací) a na etyl estery mastných kyselin (neoxidativní cestou), které mají rovněž toxický vliv na acinární buňky a podílejí se i na aktivaci stelárních buněk – jak přímo, tak i indukci oxidativního stresu (33). Chronický příjem alkoholu rovněž narušuje pankreatické neurohormonální kontrolní mechanismy a způsobuje dysregulaci imunitního systému (34).

Vliv kouření na vznik CHP

V posledních několika letech se dostává do popředí studium vlivu nikotinizmu na rozvoji CHP. Kouření ovlivňuje sekreci bikarbonátů do pankreatické šťávy (35), snižuje pankreatickou sekreci (36), indukuje oxidativní stres (37), snižuje inhibiční kapacitu trypsinu (38) a zvyšuje riziko vzniku kalcifikací (39). Několik recentně publikovaných case-control a populačních studií prokázalo, že kouření je nezávislým rizikovým faktorem rozvoje jak akutní tak chronické pankreatitidy. Americká case-control studie (21) ukázala, že u aktivně kouřících jedinců, či jedinců kteří v průběhu života vykouřili víc než 100 cigaret, je signifikantně vyšší prevalence CHP, přičemž asociace mezi kouřením a nemocí byla závislá na dávce. V porovnání s jedinci, kteří nikdy nekouřili, se relativní riziko vzniku CHP u kuřáků pohybovalo od 1,34 do 4,45 v závislosti na intenzitě kouření. Obdobné byly i závěry populačních studií z Dánska a Švédska (40, 41), kde se relativní riziko rozvoje CHP u kuřáků v porovnání s nikdy nekouřícími jedinci pohybovalo v závislosti na dávce od 2,5 do 3,3, respektive 2,1 do 3,6. Zajímavý je i fakt, že prevalence kouření se zvyšuje v závislosti na množství konzumovaného alkoholu (21). Přesné patogenetické mechanismy vlivu kouření na pankreas, jako i interakce kouření a alkoholu nebo jiných rizikových faktorů rozvoje CHP, nejsou ještě plně pochopeny, novější práce ale prokázaly, že v in vitro podmínkách mají tabák a alkohol synergický efekt na pankreatickou fibrogenezi.

Idiopatická

Do této skupiny se řadí pacienti, u kterých není přítomen žádný jasný rizikový faktor CHP. Jejich zastoupení je odhadováno na 10-30% (42). Z klinického hlediska rozlišujeme idiopatickou chronickou pankreatitidu s (i.) časným a (ii.) pozdním nástupem. Idiopatická chronická pankreatitida s časným nástupem se typicky projeví v prvních dvou dekádách života zejména výraznou bolestí, strukturální a funkční změny pankreatu se obvykle dostaví s latencí. Pozdní forma se manifestuje ve čtvrté a páté dekádě života jen minimální bolestí, není ale neobvyklé, že v čase stanovení diagnózy je již vyvinuta pankreatická insuficience. Nezanedbatelný počet nemocných s nejasnou etiologií CHP lze vysvětlit např. okultním příjmem alkoholu či přítomností nerozpoznané genetické predispozice.

Geneticky podmíněná

Geny, jejichž alterace predisponuje k rozvoji CHP (*PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR*, *CASR*, *CTRC*), můžeme dle míry rizika rozvoje onemocnění u nosiče mutované alely (bereme-li v úvahu „nejtěžší“ možnou mutaci) stratifikovat do tří úrovní: s vysokou, střední a malou penetrací. Z klinického hlediska lze rozdělit geneticky podmíněnou chronickou pankreatitidu na (i.) sporadickou – při pozitivní mutaci jednoho nebo více pankreatických genů a absenci anamnézy onemocnění v rodině, (ii.) familiární, kde je navíc pozitivní rodinná anamnéza, ale nesplňující kritéria (iii.) hereditární chronické pankreatitidy – tzn. postižení tří a více členů rodiny minimálně dvou generací, typicky mutací *PRSS1* (43). Zatímco definice sporadické geneticky podmíněné CHP vyplývající z této klasifikace je jednoznačná, rozdíl mezi familiární a hereditární CHP je pouze arbitrární. Kritéria diagnózy hereditární CHP se v průběhu času vyvíjela a vzhledem k absenci mezinárodního konsenzu definice tohoto onemocnění se nyní v různých klinických centrech liší. Hereditární pankreatitida je extrémně vzácná klinická jednotka, s odhadem prevalence na 0,3-0,57/100000 obyvatel (44, 45).

PRSS1 (kationický trypsinogen):

Gen *PRSS1*, lokalizovaný na krátkém raménku sedmého chromozomu, kóduje kationický trypsinogen. Tři nejčtenější mutace tohoto genu jsou R122H, N29I a A16V. Variace R122H a N29I obdobně jako většina studovaných mutací genu *PRSS1* usnadňují autoaktivaci trypsinogenu, následná intrapankreatická aktivace zymogenů vede k poškození parenchymu, indukci zánětlivé odpovědi a fibrogenezi. Mutace R122H rovněž inhibuje autolýzu aktivovaného enzymu (46, 47). V současnosti jsou známy jenom tři varianty *PRSS1* s jiným mechanismem patogeneze – A16V, E79K a R116C. Mutace E79K nealteruje katalytickou aktivitu či autolýzu trypsinu ani neovlivňuje inhibici jeho aktivity proteinem *SPINK1*, nicméně zvyšuje aktivační potenciál *PRSS1* na *PRSS2* v porovnání s wild-type fenotypem (48). Cestou transaktivace *PRSS2* pak může E79K indukovat zvýšenou aktivaci trypsinogenu, patologická relevance tohoto zjištění ale zůstává nejasná, jelikož byla tato mutace detekována i u zdravých kontrol. Mutace R116C vede k deformaci struktury trypsinogenu (protein misfolding) s jeho následnou intracelulární retencí a indukci stresu endoplazmatického retikula (49). Rekombinantní A16V protein rovněž nemá vliv na autoaktivaci trypsinogenu, in vitro byla ale prokázána čtyřnásobně zvýšená míra štěpení aktivačního peptidu prostřednictvím chymotrypsinu C s následnou akcelerací aktivace trypsinogenu (50). Na rozdíl od mutací R122H a N29I s penetrací na úrovni 70-80% (51) byla varianta A16V detekována téměř výhradně u pacientů bez rodinné anamnézy chronické

pankreatitidy (52). To naznačuje, že pro mutace *PRSSI* není exkluzivní dominantní typ dědičnosti. Recentně byl u *PRSSI* prokázán tzv. gene-dosage efekt (53). Duplikace či triplikace lokusu trypsinogenu na sedmém chromozomu byla detekována u rodin s hereditární pankreatitidou. Z klinického hlediska je důležité zmínit mnohonásobně vyšší ($\approx 50x$) celoživotní riziko karcinomu slinivky u nosičů mutací *PRSSI* v porovnání se zdravými jedinci, zatímco všeobecné riziko pacientů s chronickou pankreatitidou je menší (54, 55).

Vzhledem k zvýšenému riziku vzniku CHP u nosičů *PRSSI* mutací se předpokládalo, že rovněž mutace anionické izoformy trypsinogenu (*PRSS2*) by mohly způsobovat onemocnění. Výsledky rozsáhlé case-control studie (56) ale pozoruhodně naznačují, že *PRSS2* mutace může být naopak protektivním faktorem vzniku chronické pankreatitidy. Substituce glycinu za arginin v kodónu 191 (G191R) byla detekována u 3,4% kontrol, ale jenom u 1,3% pacientů s CHP ($p < 0,001$). In vitro bylo následně prokázáno, že rekombinantní G191R protein po aktivaci ztrácí veškerou trypsinovou aktivitu následkem hypersenzitivity k autokatalytické proteolýze.

SPINK1 (serine protease inhibitor, Kazal type 1):

SPINK1, rovněž známý jako pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI), je protein syntetizovaný acinárními buňkami exokrinního pankreatu. Vzhledem k jeho schopnosti inhibovat až 20% potenciální enzymatické aktivity trypsinu, na základě závěrů mutační analýzy kandidátních genů (57) a výsledků prací na myších modelech (58), je *SPINK1* považován za důležitý negativní regulátor předčasné aktivace trypsinu. Nejčastější mutací *SPINK1* je N34S, která je detekována zejména u pacientů s chronickou pankreatitidou bez pozitivní rodinné anamnézy. Patnáct až čtyřicet procent pacientů s idiopatickou CP nesou N34S na jedné nebo obou alelách. Překvapivě je ale v populaci N34S haplotyp rovněž relativně častý (1-3%) a to při nízké prevalenci CHP (42/100000)(59). Zdá se tedy, že heterozygotní mutace spíše modifikuje průběh CHP, nežli přímo zvyšuje susceptibilitu vůči onemocnění (60). Tato hypotéza je podložena i narůstajícím počtem prací, které naznačují, že přítomnost heterozygotní mutace *SPINK1* je asociována s rozvojem CHP pouze v případě přítomnosti mutace dalšího genu (*PRSSI*, *CTFR*, *CASR*, *CTRC*) (61). Přímý patogenetický vliv přítomnosti alely N34S na průběh CHP zůstává nejasný. Experimenty s rekombinantním lidským mutovaným N34S proteinem neprokázaly žádnou alteraci v inhibiční kapacitě trypsinu (62). Zajímavé je ale zjištění, že N34S je v úplné vazebné nerovnováze například se 4 variantami intronových sekvencí (c.56-37T>C, c.87+268A>G, c.195-604G>A, c.195-

66_-65insTTTT) (57). Lze tedy spekulovat, že patogeneticky relevantní mutací by mohla být jiná alterace v okolí než samotná N34S.

CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator):

Cystická fibróza, nejčastější život-zkracující autozomálně recesivní onemocnění kavkazské rasy, je způsobená ztrátovou mutací v genu *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). *CFTR* je klíčovým proteinem chloridového ABC transportéru, který se nachází na apikální membráně epitelálních buněk a má zásadní roli v sekreci tekutin a elektrolytů v respiračním a trávicím traktu. Cystická fibróza je charakterizována klasickou trias – chronickým obstrukčním plicním onemocněním, exokrinní pankreatickou insuficiencí a elevací koncentrace natria a chloridů v potu. V současnosti je identifikováno téměř 2000 variant *CFTR* genu, pouze u části z nich je prokázán jejich kauzální vztah k cystické fibróze. Z klinického hlediska se běžně se vyskytující varianty dělí na závažné a mírné podle jejich efektu na pankreatickou funkci. Molekulární klasifikace organizuje jednotlivé varianty do skupin dle jejich efektu na funkci *CFTR*. Varianty třídy I-III způsobují těžkou dysfunkci, IV-V redukovanou či alterovanou funkci, mnohé varianty jsou doposud neklasifikované. Mutace třídy IV a V mají variabilní a většinou mírný efekt na funkci orgánů včetně pankreatu a často se projeví až v případě překročení fyziologických potřeb organismu při zvýšené zátěži. V roce 1998 byly simultánně publikovány 2 studie (63, 64), které popsaly vyšší frekvenci mutací *CFTR* u pacientů s alkoholickou a idiopatickou chronickou pankreatitidou. Toto pozorování bylo později podpořeno studiemi z USA, Evropy, Indie a Číny (61). Otázkou zůstává, jestli tito pacienti trpí mírnou, atypickou cystickou fibrózou anebo mají pankreas specifické *CFTR*-asociované onemocnění (65). V každém případě je zřejmé, že adekvátní funkce *CFTR* je nevyhnutná pro správnou funkci pankreatických duktálních buněk a mutace *CFTR* jsou tudíž asociovány s vyšší susceptibilitou vůči chronické pankreatitidě.

CASR a CTRC

Mutace *CASR* (calcium-sensing receptor) i *CTRC* (chymotrypsin C, caldecrin) jsou asociovány s chronickou pankreatitidou (66), ale na rozdíl od mutací *CFTR* či *SPINK1* nebyly u jedinců s familiární či idiopatickou CHP detekovány homozygotní či složené heterozygotní mutace genů *CASR* či *CTRC*. Naopak, variace v *CASR* a *CTRC* genech se u pacientů s CHP téměř vždy vyskytovaly spolu s heterozygotními variantami *PRSSI*, *CFTR* anebo *SPINK1* (67). Zdá se tedy, že mutace *CASR* a *CTRC* zvyšují susceptibilitu vůči CHP pouze společně s jinými genetickými alteracemi.

CASR (calcium-sensing receptor) je receptor spřažený s proteinem G a kontroluje hladinu extracelulárního kalcia prostřednictvím regulace uvolňování parathormonu v příštítných tělískách (citace). Ztrátová mutace *CASR* genu vede k poruše detekce hladiny kalcia a domnělá hypokalcemie stimuluje příštítná tělíska k trvalému navýšení hladiny parathormonu. Tento stav vede následně k hyperkalcemii. Zajímavostí je, že zatímco ztrátová mutace *CASR* byla u pacientů s CHP asociována s přítomností *SPINK1* mutace (68), přítomnost aktivační (gain of function) mutace byla spojena s abúzem alkoholu (69).

Chymotrypsin C je člen rodiny S1 peptidáz, jenž se podílí na degradaci kationického trypsinogenu a tím působí protektivně vůči CHP (11). Patogenetické *CTRC* varianty způsobují ztrátu funkce chymotrypsinogenu C prostřednictvím alterace jeho sekrece, aktivity a proteolytické stability (70).

Genetické studie dědičných faktorů CHP v základech změnily náhled na patogenezi onemocnění. Dlouhou dobu se předpokládalo, že geneticky podmíněná pankreatitida je mimořádně vzácná porucha, nicméně aktuální znalosti o výskytu mutací *PRSSI*, *SPINK1*, *CFTR*, *CASR* a *CTRC* u jedinců s takzvanou idiopatickou CHP demonstrují mnohem vyšší podíl genetických alterací na rozvoji onemocnění. Různé mutace různých pankreatických genů mají odlišný fenotyp i typ dědičnosti a dokonce i stejná mutace u konkrétního genu může mít u dvou jedinců různé konsekvence v závislosti na jejich genetickém pozadí a jeho interakci s faktory prostředí. Vyšší prevalence mutací u alkoholické pankreatitidy v porovnání s jedinci bez CHP, kteří ale splňují požadovanou prahovou konzumaci alkoholu, stírá zažité striktní dělení etiologií nemoci. Komplexní interakce mezi různými genetickými a environmentálními faktory tak vedou k plynulému přechodu mezi jednotlivými subtypy chronické pankreatitidy. Vliv vnějšího prostředí dobře demonstruje specifický socio-behaviorální profil pacientů s alkoholickou pankreatitidou v porovnání s jedinci s jinými alkoholem indukovanými chorobami, např. jaterní cirhózou (71).

Při úvaze o genetickém testování pacientů s CHP je nutné si uvědomit, že kromě mutací v *PRSSI* genu, které způsobují hereditární pankreatitidu, jsou mutace v ostatních genech pouze rizikovým faktorem vzniku pankreatitidy. Celosvětově platná doporučení ke genetickému testování pacientů s CHP neexistují. Evropští pankreatologové recentně doporučili genetickou analýzu *PRSSI*, *SPINK1* a *CTRC* u všech pacientů léčených pro akutní nebo chronickou pankreatitidou s pozitivní rodinnou anamnézou chronické pankreatitidy či nádoru pankreatu, nebo u všech pacientů s chronickou pankreatitidou bez rodinné anamnézy po vyloučení ostatních predisponujících faktorů (72). Toto doporučení umožní sice podrobnou molekulární charakteristiku pacientů s pankreatitidou, avšak nepřinese kromě pacientů s

hereditární pankreatitidou zásadní význam do klinické péče o tyto pacienty. Nutno dále poznamenat, že negativní nález screeningu nevyklučuje genetický podklad onemocnění. Vzhledem k absenci terapeutických konsekvencí se doporučuje testování asymptomatických příbuzných jenom po pečlivém individuálním zvážení konkrétních případů. U pacientů se zvýšenou či hraniční koncentrací chloridů v potu je vhodné provést screening na *CFTR* mutace i s ohledem na fakt, že pacienti s cystickou fibrózou mohou trpět rekurentními atakami chronické pankreatitidy při absenci ostatních symptomů nemoci.

Autoimunitní

Autoimunitní pankreatitida (AIP) se ve skupině chronických pankreatitid vymezuje specifickým klinickým, laboratorním, radiologickým a histologickým nálezem. Důležitým rysem AIP je významná odpověď na imunosupresivní léčbu s možností úplné regrese onemocnění a zhojením ad integrum.

První zmínka o chronické pankreatitidě asociované s hypergamaglobulinémií pochází z roku 1961 (73), koncept AIP jako klinické jednotky ale poprvé definoval až Yoshida v roce 1995 (74). V současnosti rozeznáváme dva podtypy AIP – typ 1, neboli LPSP (lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis – lymfoplazmocytární sklerozující pankreatitida), jenž je považován za pankreatickou manifestaci IgG4 systémového sklerozujícího onemocnění, a typ 2 – IDCP (idiopathic duct-centric pancreatitis – idiopatická duktocentrická pankreatitida). Tyto dva podtypy AIP se od sebe liší nejenom histologickým nálezem, ale rovněž epidemiologickou charakteristikou a přirozeným průběhem nemoci. V klinické praxi ještě rozeznáváme AIP-NOS (not otherwise specified – jinak nespecifikována autoimunitní pankreatitida) u pacientů odpovídajících na léčbu kortikosteroidy, u nichž nejsme schopni na základě provedených vyšetření podtyp přesně charakterizovat (např. při absenci histologického nálezu).

AIP je vzácná klinická jednotka, jejíž prevalence se odhaduje na 0,82-2,2/100 000 obyvatel v Japonsku, v západních zemích nebyla prozatím určena (75, 76). Představuje pouze asi 6% pacientů s chronickou pankreatitidou (77). AIP 1. typu bývá diagnostikována v šestém až sedmém decéniu s výraznou predominancí u mužů, AIP 2. typu se naopak obvykle manifestuje v mladším věku (v páté dekádě) s rovnoměrným rozložením u obou pohlaví. Podíl pacientů s AIP 2. typu na celkovém počtu je výrazně nižší, avšak stoupá od východu k západu (78). AIP 1. typu je asociována s postižením jiných orgánů při IgG4 sklerozujícím onemocnění, AIP 2. typu s vyšší prevalencí idiopatických střevních zánětů. Výrazné rozdíly v

rasové a geografické distribuci AIP naznačují, že v patogenezi nemoci hrají důležitou roli genetické a environmentální faktory, které jsou však doposud neznámé.

Častými symptomy u pacientů s AIP jsou ikterus, bolesti břicha či příznaky funkčního postižení slinivky jako diabetes nebo exokrinní pankreatická insuficience. Až 15% pacientů ale může být asymptomatických. U pacientů s AIP 1. typu může být klinický obraz modifikován postižením jiných orgánů při IgG4 sklerozujícím onemocnění.

V průběhu posledních desetiletí bylo navrženo několik diagnostických algoritmů pocházejících z Japonska, Jižní Korey, USA, Německa a Itálie (79-81). V roce 2011 byla publikována mezinárodní konsenzuální diagnostická kritéria (82), která sjednocují předchozí diagnostické strategie a zároveň respektují odlišnosti v klinické praxi v různých regionech. Hodnotí nález na pankreatickém parenchymu na zobrazovacích metodách (CT, MR), strukturu pankreatického vývodu, histologický nález, sérologii, postižení jiných orgánů a odpověď na terapii kortikoidy. Pro každý sledovaný parametr existují dvě úrovně průkaznosti, jejichž kombinací je možné určit pravděpodobnou či definitivní diagnózu AIP 1. typu, definitivní diagnóza u AIP 2. typu je pouze histologická.

Typickým (nikoliv nejčastějším) nálezem zobrazovacích metod je difuzní zvětšení pankreatu, které je někdy provázeno opožděným sycením (sausage-like pancreas, rim-like enhancement), často ale bývá patrné pouze segmentální nebo fokální zvětšení pankreatu, a to častěji u AIP 2. typu. AIP je tak onemocnění, které svou klinickou manifestací i nálezem zobrazovacích metod velice sugestivně napodobuje karcinom pankreatu. Nemálo pacientů s AIP má atypický nález neodpovídající plně diagnostickým kritériím. Je tudíž pochopitelné, že navzdory podrobně definovaným diagnostickým kritériím má 6-8% pacientů indikovaných k resekci pankreatu pro suspektní malignitu v resekátu nález autoimunitní pankreatitidy (83). U těchto pacientů dochází v 3-28% případech k rekurenci onemocnění (84).

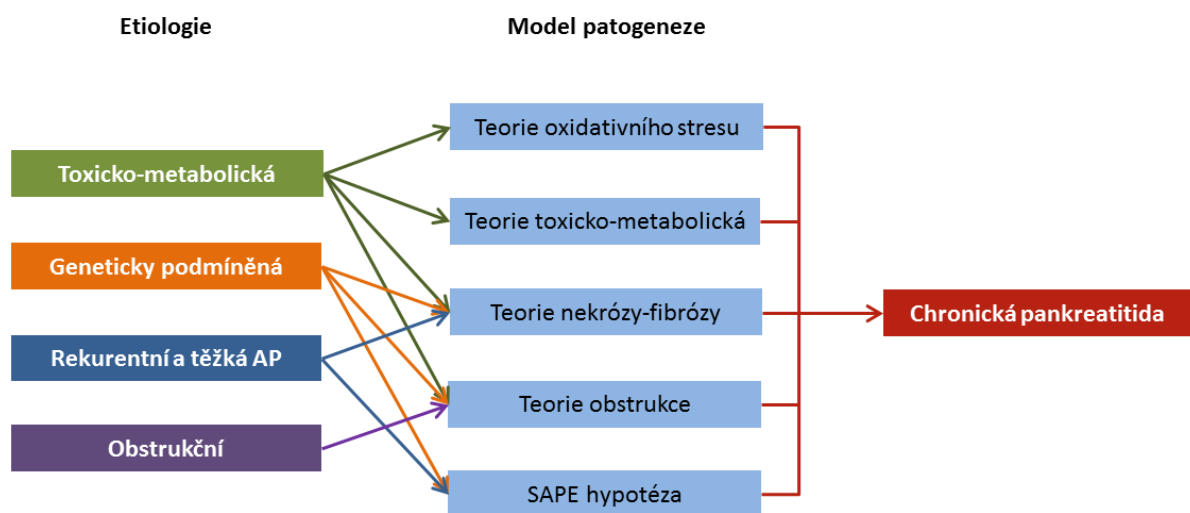
Obstrukční

Příčinou obstrukční pankreatitidy je omezení odtoku pankreatické šťávy zúženým či obturovaným pankreatickým vývodem. Příčinou stenózy lumen může být intraduktální konkrement nebo extraduktální útlak pankreatickou malignitou (adenokarcinom, neuroendokrinní tumor, cystické ložisko, atd.). Mezi další příčiny patří intraparenchymatická jizva po akutní pankreatitidě či stenóza Vaterovy papily. Obstrukce hlavního pankreatického vývodu ve zvířecích modelech reprodukovatelně vedla v průběhu několika týdnů k rozvoji chronické pankreatitidy (85) se specifickým histopatologickým nálezem, kde je patrná

uniformní distribuce inter a intralobulární fibrózy spolu s destrukcí exokrinního parenchymu v obturovaných oblastech a zároveň absence proteinových zátek a kalcifikací. Porucha odtoku exokrinních sekretů vede k stagnaci a zvýšené litogenicitě pankreatické šťávy, dále k zvýšení intraduktálního tlaku (86) a poruše prokrvení pankreatu (87).

Patogeneze

V současnosti neexistuje jednoznačný konsenzus o způsobu, jakým se různé kauzativní faktory podílejí na vzniku chronické pankreatitidy. V průběhu posledních desetiletí bylo navrženo několik hypotetických modelů k popisu patogenetických mechanismů onemocnění. Notoricky známé „tradiční“ teorie, jejichž bazální premisy budou zmíněny níže, byly koncipovány zejména se zřetelem na alkoholickou chronickou pankreatitidu, a byť byly formulovány na základě přesvědčivých pozorování, nelze jimi spolehlivě vysvětlit působení všech vyvolávajících faktorů. Společnou patofyziologickou dráhu pro různé etiologické vlivy nabízí v současné době stále populárnější SAPE hypotéza, která propojuje myšlenky starších hypotéz s novými poznatky o patogenezi chronické pankreatitidy - nicméně k potvrzení různých aspektů této hypotézy je zapotřebí dalších konfirmačních studií. Je pravděpodobné, že různé etiologické faktory vedou k chronické pankreatitidě odlišnými mechanismy (obrázek č. 2).



Obrázek č. 2

Teorie obstrukce

U chronické pankreatitidy dochází působením noxy (např. alkoholu) k změně ve složení pankreatického sekretu. Zvýšené vylučování bílkovin při současně snížené sekreci pankreatické šťávy z acinárních buněk (88) vede k vysrážení proteinové zátky v lumen acinů, která se pak stává jádrem k vzniku pankreatického kamene. Uzávěr pankreatických kanálků následně indukuje chronický zánět žlázy s rozvojem atrofie a fibrózy. Pankreatické kameny jsou tvořeny krystalickou mřížkou uhličitanu vápenatého promíchanou s gelovou matrix tvořenou proteiny a polysacharidy (89). Předpokládalo se, že významnou roli ve výše uvedeném procesu má Litostatin (pancreatic stone protein, PSP), fosfoprotein syntetizovaný v pankreatických acinárních buňkách. Některá data nasvědčovaly, že PSP svým působením brání vzniku a růstu krystalů uhličitanu vápenatého v pankreatické šťávě supersaturované kalciumem (90), a že jeho sekrece klesá při chronickém příjmu alkoholu (91). Následné experimenty ale nebyly schopny tyto hypotézy reprodukovat, navíc konkluzivně prokázaly, že PSP in vitro neinhibuje formaci krystalů (92). Pro podíl PSP na vzniku chronické pankreatitidy neschválí ani fakt, že mutace v jeho genu nebyly detekovány u pacientů s familiární či idiopatickou pankreatitidou (93, 94). Argumentem odpůrců této hypotézy je i absence proteinových zátek v časných stadiích nemoci.

Teorie nekrózy-fibrózy

Hypotéza nekrózy-fibrózy předpokládá, že recidivující ataky akutní pankreatitidy vedou na podkladě hemoragie a fokální intersticiální nekrózy k jizvení periduktálního parenchymu (95). Tyto změny pak mohou způsobit poruchu pankreatické drenáže s následnou tvorbou proteinových zátek a kalkulů a v konečném důsledku k zániku acinárních buněk a tvorbě obvyklých fibrotických změn. Původně byly podkladem pro tuto hypotézu histopatologické studie, které prokazovaly perilobulární fibrózu po atace akutní pankreatitidy. Na základě těchto závěrů pak lze předpokládat postupnou progresi fibrózy při rekurentních epizodách akutní pankreatitidy. Nemalou podporu tomuto modelu přineslo i objasnění genetického mechanismu hereditární pankreatitidy (viz výše), která se typicky manifestuje rekurentními atakami akutní pankreatitidy již v časném dětství, které pak vedou k rozvoji chronické pankreatitidy. V souvislosti s touto hypotézou ale nelze ignorovat fakta, že (i.) 5-10% alkoholické pankreatitidy má bezbolestnou manifestaci v celém průběhu onemocnění a (ii.) i těžké ataky biliární akutní pankreatitidy extrémně zřídka progredují do chronické pankreatitidy.

Teorie toxicko-metabolická

Působením etylalkoholu a jeho metabolitů (viz výše) dochází k přímému poškození pankreatických acinárních buněk. Chronické užívání alkoholu vede k akumulaci cytoplasmatických lipidů, tukové degeneraci, buněčné nekróze, fibróze a nakonec snížení pankreatické sekrece (96). Pro tuto hypotézu svědčí i fakt, že hromadění tuku v buňkách acinů a intersticia je histopatologickou morfologickou známkou poškození slinivky břišní v důsledku abúzu alkoholu.

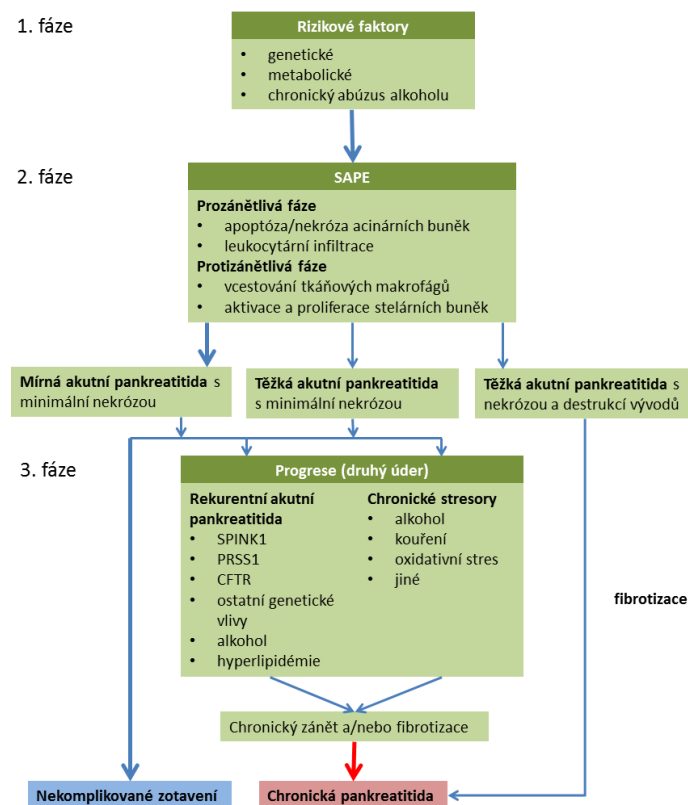
Teorie oxidativního stresu

Tato teorie je založena na hypotéze, že příčinou poškození u chronické pankreatitidy je oxidativní stres pankreatických acinárních buněk indukovaný přebytkem reaktivních molekul (reactive oxygen species, ROS), vznikajících v organismu při biotransformaci cizorodých látek (např. alkoholu). ROS se podílejí na blokáde intracelulárních signálních drah, fúzi lyzozomálních a zymogenních kompartmentů a oxidaci buněčných membrán. Uvolněné trávicí enzymy pak v intersticiu vyvolají zánětlivou odpověď, která vede k infiltraci imunokompetentních buněk a aktivaci komplementu. Původně teorie předpokládala vznik ROS v játrech a jejich transport do pankreatu cestou systémové cirkulace a refluxí žluče do pankreatického stromu (97). Nyní je známo, že pankreatické buňky jsou schopné obdobně jako hepatocyty metabolizovat alkohol oxidativní i neoxidativní cestou, přičemž pankreatická produkce ROS probíhá stejnou enzymatickou cestou (P4502E1) jako v hepatocytech. V současnosti převládá názor, že oxidativní stres hraje nepochybnou roli v poškození pankreatu, ale není vyvolávající činitel patofyziologické sekvence (42).

SAPÉ hypotéza

Nové znalosti o genetických mechanismech uplatňujících se v rozvoji chronické pankreatitidy, jako i pokrok v porozumění pankreatické fibrogenezi, vedly předního amerického genetika D. Whitecoma k formulaci SAPE (sentinel acute pancreatic event) hypotézy (98) (obrázek č. 3), která představuje paradigma dvou úderů a inkorporuje mnoho elementů tradičních hypotéz (toxických metabolitů, nekrózy-fibrózy a oxidativního stresu) do sjednoceného konceptu. Tento model rozděluje patogenezi chronické pankreatitidy do tří postupných fází: (i.) pre-akutní pankreatitida, (ii.) iniciální ataka akutní pankreatitidy (první úder) a nakonec (iii.) fáze progresu (druhý úder). Ve fázi pre-akutní pankreatitidy model rozpoznává přítomnost rizikových faktorů chronické pankreatitidy (např. alkohol, kouření, genetické alterace) a definuje jejich vliv na jedince bez chronické pankreatitidy. První úder

(sentinel event) je charakterizován jako první ataka akutní pankreatitidy s následnou aktivací imunitního systému (jak prozánětlivé, tak protizánětlivé složky). Hypotéza předpokládá, že tento první úder navodí v pankreatu zánět prostřednictvím monocytů (event. tkáňových makrofágů) a aktivovaných stelárních buněk, které jsou efektorovými elementy fibrózy. Indukce zánětu je normální odpovědí organismu na poranění, který za obvyklých okolností vede k reparaci tkáně a regeneraci. Důležité je proto třetí stadium, fáze progresu, která je závislá na faktorech modifikujících normální imunitní odpověď prostřednictvím různých stresorů – ty odpovídají druhému úderu. U pacientů s minimální následnou stimulací imunitního systému bez přítomné alterace imunitní odpovědi dochází po iniciální atace akutní pankreatitidy k restituci pankreatického parenchymu. Naopak, v případě přítomnosti faktorů, které modifikují zánětlivou odpověď organismu (např. pokračující konzumace alkoholu), či další stimulace imunitního systému (metabolický stres u kouření, či abúzu alkoholu; rekurentní akutní pankreatitidy u *PRSSI* mutace), může dojít k progresi onemocnění.



Obrázek č. 3

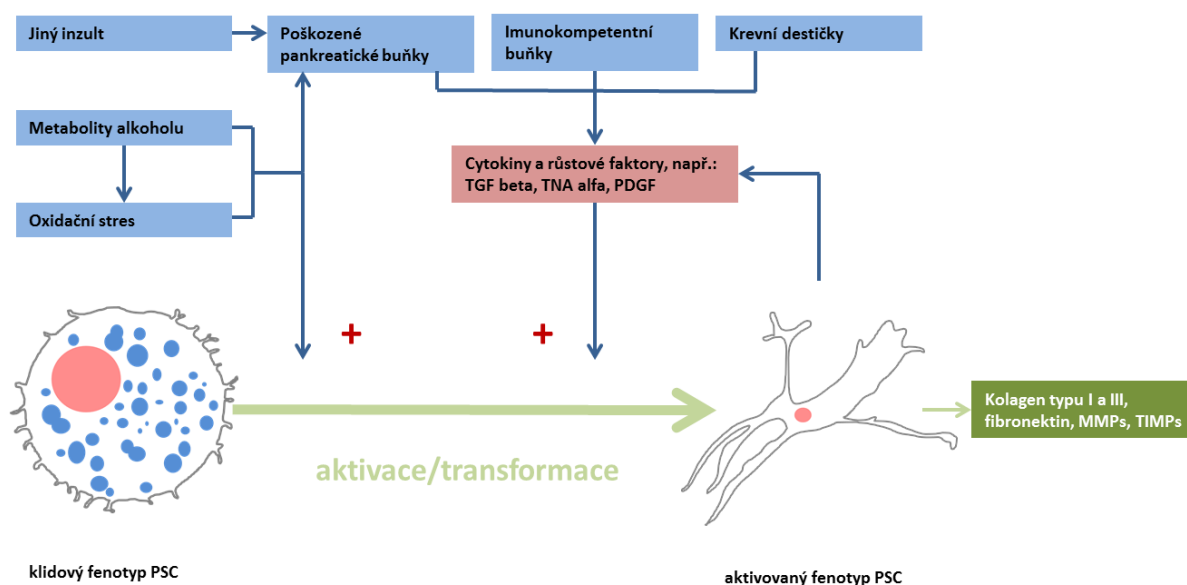
Pankreatické stelární buňky

Zásadním poznatkem je identifikace a charakterizace pankreatických stelárních buněk (pankreatické hvězdicovité buňky) a objasnění jejich úlohy v syntéze proteinů extracelulární matrix (obrázek č. 4).

Poprvé byla přítomnost lipocytů (fat-storing cells) s vysokým obsahem retinoidů v pankreatu demonstrována v roce 1982 (99). Možný podíl tohoto buněčného subtypu v remodelaci pankreatu byl zvažován již v roce 1990 (100), nicméně trvalo dalších osm let, než byly tyto buňky poprvé izolovány a charakterizovány (101, 102). Vzhledem k jejich morfologické podobnosti s hepatickými stelárními buňkami a obdobnému metabolismu retinoidů byly pojmenovány jako pankreatické stelární buňky. Stelární buňky jsou lokalizovány v interlobulární a interacinární části lidského pankreatu a vykazují některé vlastnosti myofibroblastů, jako například schopnost exprese alfa-aktinu hladkého svalu, syntézy kolagenu a fibronektinu a formace mikrofilament, dále mají omezený potenciál migrace, proliferace a fagocytózy (33). Hvězdicovité buňky se vyskytují ve dvou základních fenotypech - (i.) klidovém a (ii.) aktivovaném, přičemž klidové buňky mohou být aktivovány přímým působením některých nox (alkohol a jeho metabolity, tabák) a jimi indukovaného oxidačního stresu (103), nebo prostřednictvím prozánětlivých cytokinů jako např. TGF beta (transforming growth factor beta), TNF alfa (tumor necrosis factor alpha), PDGF (platelet derived growth factor) a dalších, které jsou emitovány v průběhu prozánětlivé fázi akutní pankreatitidy. Proces transformace stelárních buněk je charakteristický změnou tvaru buňky z kulaté na hvězdicovitou, ztrátou tukových kapének obsahujících retinoidy a navýšením exprese alfa-aktinu hladkého svalu a syntézy proteinů extracelulární matrix (104). Jedním z nejvíc prozkoumaných cytokinů, které mají vliv na biosyntézu a obrat extracelulární matrix je TGF beta (transforming growth factor beta), který je uvolňován různými buněčnými typy včetně aktivovaných makrofágů a krevních destiček.

Experimenty na zvířecích modelech prokázaly paralelní alteraci exprese genů kolagenu a TGF beta u potkanů s ceruleinem indukovanou pankreatitidou (105). Maximální navýšení TGF beta mRNA bylo detekováno dva dny po infuzi ceruleinu a in-situ hybridizace prokázala, že tyto transkripty byly produkovány zejména stromálními a acinárními buňkami. Inhibice TGF beta neutralizujícími protilátkami v průběhu regenerační fáze po ceruleinem indukované pankreatitidě byla asociována se snížením hladiny jak kolagenu 1. typu, tak i TGF beta. Tento fenomén byl přisuzován autokrinní kličce, kterou TGF beta indukuje svou vlastní syntézu.

Důležitou roli v procesu pankreatické fibrogeneze mají i matrixové metaloproteinázy (MMP), které ovlivňují fyziologickou resorpci extracelulární matrix (106). Matrixové metaloproteinázy jsou zinek-dependentní proteolytické enzymy, které jsou schopny štěpit prakticky všechny extracelulární matrixové proteiny. MMP jsou syntetizovány jako proenzymy, které jsou následně aktivovány proteolytickým štěpením aminoterminálního propeptidu například plazminem, katepsinem G, trypsinem anebo alfa chymotrypsinem (106). Jejich aktivita je dále regulována prostřednictvím různých proteinázových inhibitorů, jako alfa2 mikroglobulin a zejména rodinou tkáňových inhibitorů metaloproteináz (TIMP 1-4). Alterace v rovnováze mezi expresí MMP a TIMP je popisována u různých zánětlivých onemocnění. U chronické pankreatitidy byly detekovány vyšší hladiny MMP-2 a TIMP-1 a -2, nicméně nebyla prokázána zvýšená míra transkripce proteináz se substrátovou specificitou pro komponenty intersticiální extracelulární matrix - MMP-1 a MMP-3 (107). S daným faktem koreluje i schopnost produkce některých subtypů matrixových metaloproteináz (MMP-2) a jejich inhibitorů (TIMP-2) stelárními buňkami (108). Lze se tedy domnívat, že neadekvátní exprese MMP-1 a MMP-3 u chronické pankreatitidy se může také podílet na zvýšené depozici komponentů extracelulární matrix v intersticiálním prostoru.



Obrázek č. 4

Shrnutí

Chronická pankreatitida je charakterizovaná jako progresivní a ireverzibilní onemocnění pankreatu, které se klinicky manifestuje poruchou jeho exokrinních a

endokrinních funkcí. Prvním krokem k indukci zánětu je často autodigestce žlázy indukovaná předčasnou aktivací pankreatických enzymů. Exokrinní pankreas má proto k dispozici abundantní regulační systém, jehož úkolem je eliminace tohoto rizika. Na narušení regulačních funkcí a následné předčasné aktivaci proenzymů se mimo jiné podílí toxicita etanolu a jeho metabolitů, porucha homeostázy kalcia (hyperkalcémie), geneticky podmíněná přítomnost defektních proteinů (jak regulačních, tak enzymů), či duktální dysfunkce při obstrukci nebo narušené sekreci duktálních buněk. Většina pacientů je však vystavena vlivu vícečetných rizikových faktorů, což implikuje multifaktoriální náhled na původ nemoci s komplexním mechanismem genových a environmentálních interakcí. V průběhu let vzniklo několik modelů patogeneze chronické pankreatitidy, přičemž ústřední myšlenky většiny z nich jsou podnětné dodnes, navzdory jejich neúplnosti. Se zřetelem na aktuální znalosti byl definován nový pohled na molekulární patogenezi pankreatické fibrózy. Depozice extracelulární matrix se jeví být následkem dynamického procesu, zahrnujícího poškození acinárních buněk a předčasnou aktivaci digestivních enzymů s následnou nekrózou a indukci zánětu, aktivaci makrofágů a agregaci krevních destiček, uvolnění cytokinů a růstových faktorů a aktivaci pankreatických stelárních buněk, který v konečném důsledku vede k nerovnováze mezi syntézou a degradací proteinů matrixu a vzniku pankreatické fibrózy. Navzdory těmto pokrokům v našem chápání příčin a mechanismů chronického poškození pankreatu jsou naše terapeutické možnosti stále omezené na léčbu symptomů.

KARCINOM PANKREATU

Epidemiologie

Duktální adenokarcinom pankreatu je nejčastějším představitelem nádorů pankreatu. Ostatní nádory jako například acinární karcinom, pankreatoblastom či neuroendokrinní nádory tvoří menšinu nádorů a mají odlišnou etiopatogenezi, manifestaci, diagnostiku a léčbu (109). Karcinom pankreatu je devastující onemocnění s dlouhodobě omezenými možnostmi léčby a špatnou prognózou. Výskyt tohoto onemocnění v posledních desetiletích jednoznačně narůstá a dosahuje průměrné incidence v západním světě kolem 8/100 000 obyvatel za rok. V ČR je incidence dokonce vyšší a pohybuje se mezi 15 a 19/100 000. V průměru se jedná o čtvrtou nejčastější příčinu úmrtí na nádorová onemocnění. Odhaduje se, že na karcinom pankreatu umírá ve světě 250 000 pacientů za rok. Incidence onemocnění je téměř totožná s prevalencí, neboť pětileté přežití pacientů je menší než 5 %. Hlavní příčinou nepříznivé prognózy je fakt, že onemocnění je v době diagnózy generalizované až u 85 % pacientů (110).

Nejčastěji se jedná o onemocnění sporadické bez známé dominantní příčiny. Mezi rizikové faktory jeho vzniku patří kouření, obezita s nadměrným příjmem tuků, vysoký věk, mužské pohlaví, etnický původ, chronická pankreatitida, diabetes mellitus či expozice některým karcinogenům v zaměstnání (110). Kouření představuje nejvýznamnější preventabilní rizikový faktor. Zvyšuje riziko vzniku karcinomu asi dvakrát a je zodpovědné za asi jednu čtvrtinu nádorů. Kouření je asociované s nízkým věkem v době diagnózy. Riziko také koreluje s dobou trvání a intenzitou kouření. Ze studií posledních let je patrné, že pasivní kouření, nejvíce v dětství a mezi matkou a dítětem, taktéž zvyšuje riziko. Přerušování kouření má pozitivní efekt, který se však dostaví až po několika letech. Navíc u kuřáků, jejichž rodinná anamnéza je pozitivní ve smyslu karcinomu pankreatu, riziko stoupá nebo se onemocnění projeví o 1–2 dekády dříve. Na rozdíl od kouření nebyla jednoznačná role abúzu alkoholu prokázána. Výrazný příjem může riziko vzniku karcinomu mírně zvyšovat, je však obtížné odlišit působení současně se vyskytujícího kouření či chronické pankreatitidy (110, 111). Riziko vzniku karcinomu pankreatu stoupá s věkem. Absolutní většina pacientů s karcinomem pankreatu je starších 60 let. 80 % pacientů je starších 60 let a jen 10 % mladších 50 let. Karcinom pankreatu je o něco častější u mužů a v afroamerické populaci. Dlouhotrvající zánět slinivky představuje riziko vzniku karcinomu, avšak pouze velmi malé procento pacientů s karcinomem pankreatu má chronickou pankreatitidu. Kumulativní riziko vzniku karcinomu se odhaduje pouze na 4 % (112).

Diabetes mellitus se vyskytuje v asi 5–10 % obecné populace, avšak až u 50% pacientů s karcinomem pankreatu. Dlouhodobý průběh diabetu mellitu zdvojnásobuje riziko vzniku karcinomu, na druhé straně však může být sekundární diabetes časným symptomem nádorového onemocnění. Zdá se, že inzulin v léčbě diabetu může působit kancerogenně, naopak metformin by mohl riziko vzniku nádoru snižovat. Příčiny vzniku diabetu u pacientů s karcinomem jsou nejasné. Nabízející se možnost screeningu pacientů s nově zjištěným diabetem na přítomnost karcinomu pankreatu je neúčelná, neboť karcinom je přítomný pouze u asi 1 % těchto pacientů (113).

Expozice chlorovaným uhlovodíkům, polyaromatickým uhlovodíkům či některým kovům v pracovním prostředí může výskyt karcinomu pankreatu mírně zvyšovat. Obezita a nadměrný příjem živočišných tuků jsou mírnými rizikovými faktory. Efekt diety bohaté na ovoce a zeleninu nebyl v posledních studiích potvrzen. Mezi faktory s doposud nejednoznačně prokázanou souvislostí patří infekce *Helicobacter pylori* a krevní skupiny non-0 (110-112).

Méně často je karcinom pankreatu onemocněním s rodinným výskytem, ať už jako součást některých genetických syndromů či bez doposud známé konkrétní genetické predispozice. Pozitivní rodinnou anamnézu nacházíme u asi 10 % pacientů. V rodinách s familiárním karcinomem pankreatu (dva a více příbuzných prvního stupně) je riziko karcinomu u dalšího člena asi devětkrát zvýšené, v případě postižení ještě dalšího příbuzného riziko stoupá až na 32násobek. U sporadického karcinomu se riziko zvyšuje asi 2–5× v případě, že jeden z příbuzných prvního stupně onemocněl karcinomem. Genetické syndromy způsobené vrozenými mutacemi v *BRCA2*, *PALB2*, *CDKN2A*, *STK11* a genech způsobujících Lynchův syndrom (*HMSH2*, *HMLH1* a *HPMS2*) mají výrazně zvýšené riziko vzniku karcinomu pankreatu. *BRCA2* mutace jsou nejčastější známou příčinou familiárního karcinomu pankreatu a nacházejí se u 5–20 % rodin s familiárním výskytem. Geneticky podmíněná je také hereditární pankreatitida způsobená mutacemi v genu pro kationický trypsinogen *PRSSI*, u které je kumulativní riziko vzniku karcinomu pankreatu až 44 % do 70 let věku (110-112). Přítomnost známé genetické predispozice umožňuje genetické vyšetření rodinných příslušníků, a identifikuje tak pacienty, kteří jsou nejlepšími kandidáty screeningu karcinomu pankreatu.

Patogeneze

Genetické změny

Karcinom pankreatu stejně jako jiná nádorová onemocnění vzniká v důsledku poškození DNA. Toto poškození může být vrozené (vrozené mutace), získané v důsledku působení rizikových faktorů/karcinogenů, či vzniklé náhodně při dělení buněk a replikaci DNA. Mezi nejčastější genetické abnormality u invazivního karcinomu pankreatu patří mutační aktivace *KRAS* onkogenu a inaktivace tumor-supresorových genů *CDKN2A*, *TP53*, *SMAD4* a *BRCA2*, rozsáhlé chromozomální ztráty, genové amplifikace a zkrácení telomer (114-117). Mezi méně často mutované geny patří například *BRAF*, *MYB*, *AKT2* a *STK11* (111, 118, 119). Jones et al provedli kompletní genomovou analýzu u 24 karcinomů pankreatu. V průměru našli 63 genetických alterací na jeden tumor, mutace v jedné z 12 hlavních signálních drah byly přítomny u 63–100 % nádorů (120).

Negenetické změny

Vedle genetických mechanismů mohou funkci genů ovlivnit také epigenetické změny jako například metylace DNA či modifikace histonů. Příkladem může být metylací promotoru navozené potlačení funkce tumor--supresorového genu *CDKN2A* u těch nádorů, které v tomto

geny nenesou mutaci. Jiným příkladem negenetických změn je abnormální exprese. Může se jednat o abnormální expresi některých proteinů, jako např. mezotelinu (121) či některých molekul mikro-RNA. U karcinomu pankreatu se jedná například o zvýšenou expresi miR-21, miR-34, miR-155 či miR-200. Předpokládá se, že tato abnormální exprese může přispět k nádorové progresi. Přítomnost zvýšeného množství proteinů či mikro-RNA ve tkáni či plazmě představuje potenciál jejich užití jako diagnostického markeru (122, 123).

Nádorové mikroprostředí, imunitní systém, kmenové buňky

Pro karcinom pankreatu je charakteristická výrazná přítomnost vazivového stromatu. Interakce mezi stromálními fibroblasty (stelárními buňkami) a neoplastickými buňkami přispívá k nádorové iniciaci, progresi a metastazování. Tato interakce se odehrává na molekulární úrovni. Nádorové stroma může také způsobovat fyzickou bariéru zabraňující chemoterapeutikům dosáhnout k nádorovým buňkám. Potlačení jeho růstu tak může představovat jeden z mechanismů jak zvýšit dostupnost a efektivitu protinádorových léků (124). Předpoklad účasti imunitního systému v progresi karcinomu pankreatu vychází například z pozorování pozitivního terapeutického účinku inhibice T regulačních lymfocytů (buňky potlačující protinádorovou imunitní odpověď). Souhra mezi inhibičními a stimulačními mechanismy je nezbytná pro správnou funkci imunitního systému, jelikož umožní rozeznat a zničit organismu nebezpečné elementy, ale současně brání zdravou tkáň před nepřiměřenou imunitní odpovědí. Jednou ze základních vlastností nádorových buněk je schopnost uniknout imunitnímu dozoru právě využitím inhibičních mechanismů. Imunoterapie je léčebným postupem, který vede k stimulaci imunitního systému, přičemž za efektivní imunoterapeutické cíle jsou považovány kontrolní body imunitní reakce.

V současnosti je značná pozornost věnována inhibiční dráze PD-1/PD-L1, tj. dráze programované buněčné smrti. Blokádou PD-1/PD-L1 dochází k utlumení inhibičního signálu, k obnovení účinnosti imunitních mechanismů a k augmentaci protinádorové imunity (125). Blokáda kontrolního bodu imunitní reakce protilátkami proti PD-1/PD-L1 znamenala revoluci v léčbě některých typů nádorů - kupříkladu nemalobuněčného karcinomu plic nebo melanomu. Bohužel, podobný úspěch imunoterapie nebyl zaznamenán u pacientů s karcinomem pankreatu, vyjma malé skupiny pacientů s defektem MMR (mismatch repair; dMMR) a tedy vysokou mírou MSI (mikrosatelitové nestability; MSI-h) (126). Jiným příkladem potlačení nádorového růstu je použití vakcín obsahujících ozářené nádorové buňky či jejich antigeny (127).

Teorie kmenových buněk předpokládá, že jediným obnovitelným zdrojem nádorových buněk jsou kmenové buňky (nádor iniciující buňky) obsažené v nádoru. U karcinomu pankreatu by měly být charakterizované přítomností CD24, CD44 a CD133. Vedle schopnosti inicializace nádoru a neomezeného dělení jsou nositeli rezistence k léčbě. Jejich existence a role u karcinomu však zůstává nejasná (128).

Signální dráhy

Výše uvedené mechanismy vedou různým způsobem k alteraci buněčných signálních drah, v jejichž důsledku pak dochází ke změně biologického chování buněk. Signální dráha představuje kaskádu reakcí jednotlivých proteinů, která se spouští v reakci na impuls a vede většinou k zajištění základních životních funkcí buňky. Protoonkogeny a tumor supresorové geny jsou součástí signálních drah. Mezi nejdůležitější signální dráhy alterované u karcinomu pankreatu patří ty, které regulují apoptózu, opravu DNA, progresi buněčného cyklu, adhezi, invazi či konkrétně signální dráhy KRAS, CDKN2A, P-53, TGF- β , Wnt/Notch, NF-kappa B, AKT1-PI3K-MTOR, Fanconiho anémie či Hedgehog. Některé z těchto signálních drah jsou předmětem cílené protinádorové léčby (123). Aktivace jedné signální dráhy může zajišťovat interakci mezi nádorovými buňkami a nenádorovým stromatem. Hedgehog ligandy pocházející z nádorových buněk stimulují stromální fibroblasty exprimující receptory Hedgehog signální dráhy (SMO). Fibroblasty s aktivovanou Hedgehog signální dráhou pak tvoří vazivo a parakrině stimulují nádorové buňky k růstu (129).

Prekurzory karcinomu pankreatu

Molekulární evoluce karcinomu pankreatu je postupná a poslední studie potvrzují, že trvá mnoho let (130). V důsledku postupně přibývajících alterací genetického materiálu a abnormální aktivace signálních drah dochází k patologicko-anatomickým změnám buněk.

Preneoplastické prekurzory, ze kterých vzniká většina nádorů, se nazývají pankreatické intraepiteliální neoplazie (PanIN) a představují postupnou progresi normálního duktálního epitelu v invazivní karcinom. PanIN jsou mikroskopické léze do 5mm velikosti detekovatelné pouze histologicky (131). Mezi další preneoplastické prekurzory patří intraduktální papilární mucinózní neoplazie (IPMN) a mucinózní cystické nádory (MCN). Tyto léze jsou již přístupné detekci zobrazovacími metodami, a jejich nalezení tak umožňuje pravidelné sledování či preventivní chirurgické odstranění (132). PanIN bývají nejčastěji lokalizovány v hlavě pankreatu, vznikají především v menších pankreatických vývodech do 5 mm a jsou klasifikovány do tří stupňů. Nejnižším a relativně častou je PanIN-1, její výskyt se

popisuje až u poloviny starých osob a přibližně 1 z 500 dospěje do stadia invaze. PanIN-1A je charakterizována náhradou kuboidních buněk pankreatických vývodů vysokými protáhlými buňkami s malými jádry lokalizovanými při bázi. V případě, že tyto buňky vytvoří papilární strukturu, hodnotí se jako PanIN-1B. PanIN-2 jsou méně časté, nalézané asi u 10 % starých osob, mají však vyšší maligní potenciál a typické jsou pro ně abnormality jader jako např. ztráta polarity, zvětšení či kondenzace chromatinu. U PanIN-3 lézí nacházíme kribriformní shluky epiteliálních buněk oddělující se do lumen společně s nekrózami a těžšími jadernými atypii. PanIN-3 léze se většinou vyskytují společně s jednoznačným invazivním karcinomem (131, 132). Progrese morfologická odpovídá s narůstajícími abnormalitami progresi genetické. Chromozomální nestabilita je považována za časné poškození v průběhu tumorogeneze. Je přítomná téměř u všech PanIN-1, jedná se o zkrácení telomer, které je výsledkem dysfunkce enzymu telomerázy. Mutace *KRAS* protoonkogenu se vyskytuje u poloviny PanIN-1 lézí. Tato frekvence se zvyšuje u PanIN-2, kdy se navíc přidávají *CDKN2A* (p16) abnormality. Inaktivace proteinu p53 je považována za pozdější a objevuje se u vyšších stadií PanIN. Ztráta *MADH4* genu je charakteristická pro PanIN-3 léze. Tato uspořádaná progrese intraduktální neoplazie vede k takové konstelaci genetického poškození, které je nakonec odpovědné za invazivní a metastatický charakter tumoru (131, 132).

Jinou abnormalitou pankreatických vývodů s maligním potenciálem jsou IPMN (Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms). IPMN vycházející z hlavního pankreatického vývodu (Main Duct Type) mají větší maligní potenciál ve srovnání s IPMN z větví pankreatického vývodu (Branch Duct Type). Morfologicky je lze rozdělit mezi žaludeční, intestinální, pankreatobiliární a onkocytické.

Mucinózní cystické nádory (MCN) tvoří 40–50 % všech cystických lézí pankreatu a nekomunikují s pankreatickými vývody. Jsou nejčastěji lokalizované v těle a ocasu, obsahují stroma ovariálního typu a vyskytují se především u žen. Většina z nich obsahuje adenomové struktury a až u jedné třetiny je přítomen duktální adenokarcinom.

Přirozený vývoj cystických neoplastických lézí, IPMN a MCN, jejich maligní potenciál, naše schopnost tento potenciál predikovat, indikace k chirurgickému řešení či sledování včetně jeho časové strategie nejsou dokonale známé. Hlavní indikace k chirurgickému řešení zahrnují přítomnost symptomů, velikost nad 30 mm, původ z hlavního vývodu a přítomnost solidní nodulární složky. Rozhodnutí o léčbě cystických neoplázií pankreatu může však být komplikované dalšími faktory jako např. klinickým stavem pacienta, jeho věkem a komorbiditami (132, 133). Doporučení k jejich diagnostice, sledování a indikace k chirurgické léčbě jsou součástí pravidelně publikovaných doporučených postupů

odborných společností, poslední evropské byly publikovány v roce 2018 v časopise Gut (134).

VZTAH CHRONICKÉ PANKREATITIDY A KARCINOMU PANKREATU

Přibližně před 150 lety vyslovil německý patolog Rudolf Virchow na základě pozorování přítomnosti bílých krvinek v nádorové tkáni hypotézu, že benigní zánětlivé procesy mohou vést k rakovině. Tato hypotéza byla následně potvrzena mnoha studiemi, které prokázali, že chronický zánět zvyšuje riziko vzniku malignity, urychluje progresi nádoru a podporuje metastatické šíření (135). Kupříkladu parazitické onemocnění schistosomiáza vede ke vzniku karcinomu močového měchýře, *H. pylori* zvyšuje riziko vzniku karcinomu žaludku, infekce virem hepatitidy B a C vede k vzniku cirhózy a hepatocelulárního karcinomu; chronické zánětlivé onemocnění způsobené environmentálními faktory jako je například kouření nebo azbest vede k vzniku karcinomu plic. Z dalších příkladů lze uvést asociaci mezi Barretovým jícnem a adenokarcinomem jícnu nebo zvýšené riziko kolorektálního karcinomu u pacientů s ulcerózní kolitidou. Ve všech případech je riziko vzniku karcinomu závislé na době trvání nemoci a u každého uvedeného onemocnění je perioda mezi diagnózou zánětlivého onemocnění a rozvojem malignity jiná. Otázkou je, jakým způsobem akceleruje chronický zánět proces onkogeneze, a taky čím je ovlivněná doba, než se vyvine nádor u nemocných s chronickým zánětlivým onemocněním (a navíc pouze u části z nich).

Vzhledem k výše uvedenému není překvapivé, že asociaci chronický zánět – karcinom, lze pozorovat i chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu. Referenční mezinárodní studie odhadla kumulativní riziko karcinomu pankreatu u pacientů s chronickou pankreatitidou (zejména etylické etiologie) na 1,8% při trvání nemoci 10 let a 4% při době sledování 20 let (136). Riziko bylo nezávislé na věku, pohlaví a etiologii pankreatitidy. Tato studie byla ale posléze kritizována pro svůj retrospektivní charakter a heterogenitu. V roce 2002 publikoval Malka výsledky prospektivní, single centre studie, která prosta limitací předchozí práce prokázala jednoznačnou souvislost mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu s kumulativním rizikem malignity 1,1% po 5 letech a 1,7% po deseti letech sledování (55). V další prospektivní studii s velkým počtem pacientů byla incidence karcinomu pankreatu u pacientů s chronickou pankreatitidou stanovena na 4% (137).

Někteří autoři hodnotili tuto asociaci jako zavádějící vzhledem k přítomnosti společných rizikových faktorů u obou nemocí, příkladem je nadměrná konzumace alkoholu, kouření cigaret a sdílení některých environmentálních faktorů (138). Navzdory těmto

pochybnostem řada dalších studií jasně prokázala asociaci chronické pankreatitidy s vyšším rizikem karcinomu pankreatu. Toto spojení mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu se jeví být silnější u některých podtypů chronické pankreatitidy, jako je například tropická nebo hereditární pankreatitida.

Tropická pankreatitida je specifický podtyp chronické pankreatitidy diagnostikován téměř zpravidla pouze u pacientů v rozvojových zemích. Je charakterizovaný mladším věkem nástupu nemoci, přítomností velkých intraduktálních koncrementů, rychlou progresí do exokrinní pankreatické insuficience a zejména vysokým rizikem rozvoje karcinomu pankreatu s incidencí až 8,3% (139, 140). Karcinom pankreatu u pacientů s tropickou pankreatitidou byl navíc diagnostikován v mladším věku a měl horší prognózu ve srovnání s obecnou populací. Podobné výsledky publikoval i Chari, riziko vzniku karcinomu pankreatu u pacientů s tropickou pankreatitidou bylo stonásobně vyšší než v běžné populaci (141). Recentně byla u pacientů s tropickou pankreatitidou popsána nižší incidence karcinomu, navíc ve vyšším věku pacientů, což může svědčit pro změnu v charakteristice pacientů s tropickou pankreatitidou, jako je například zlepšený socioekonomický status (137).

U pacientů s hereditární pankreatitidou bylo popsáno 40-55% celoživotní riziko vzniku karcinomu pankreatu (142). Podobné výsledky byly publikovány v EUROPAC studii, kde bylo kumulativní riziko vzniku karcinomu pankreatu 1,5% v odstupu 20 let od nástupu symptomů až 44% při době trvání nemoci 70 let (43).

Zjištění že karcinom pankreatu může způsobit pankreatitidu útlakem vývodů, což je pozorováno zejména u akutní pankreatitidy (ale možné i u chronické pankreatitidy), vedlo k úvaze o reverzní kauzalitě. To vedlo k zpochybnění historického vnímání asociace mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu na základě předpokladu, že mnozí pacienti měli spíše pankreatitidu asociovanou s tumorem, nežli karcinom vzniklý v chronické pankreatitidě. Tento fenomén byl dále zkoumán PanC4 konsorciem (International Pancreatic Cancer Case-control Consortium), kdy výsledky spojené analýzy 10 case control studií naznačily, že až u 38% případů mohl karcinom pankreatu předcházet rozvoji chronické pankreatitidy, popřípadě byl karcinom falešně diagnostikován jako pankreatitida. Nicméně i přes odečtení těchto pacientů bylo riziko rozvoje karcinomu pankreatu u pacientů s chronickou pankreatitidou třináásobné (143). Poslední metaanalýza z roku 2017 rovněž prokázala zvýšené riziko karcinomu pankreatu u pacientů s chronickou pankreatitidou, tato asociace ale slábla s dobou sledování. Nejvyšší bylo riziko vzniku karcinomu do dvou let od diagnózy pankreatitidy (16-násobné), po pěti letech sledování bylo ale riziko 8-násobně a po devíti letech téměř 4-násobně vyšší než u obecné populace (144).

Přesný mechanismus vzniku karcinomu pankreatu v terénu chronické pankreatitidy nebyl jasně definován, přepokládá se ale kaskáda změn které vedou k akumulaci poškození DNA, vzniku dysplázie a rozvoji PAnIN jako prekursoru karcinomu. Předtím, než dojde k vzniku malignity, musí být narušena řada ochranných mechanismů organismu. V kontextu chronického zánětu jsou buňky parenchymu pankreatu exponovány růstovým faktorům a dalším agens, které mohou způsobit poškození DNA (145), přičemž kupříkladu kouření tento proces podporuje. Ochranným mechanismem je oprava DNA, která musí selhat alespoň u části buněk, aby došlo k akumulaci mutací DNA. Neschopnost opravit DNA by měla v buňce spustit apoptózu, přežití mutovaných klonů předpokládá selhání tohoto procesu. Další překonanou bariérou před vznikem karcinomu je selhání imunitního systému, který nerozpozná dysplastické buňky. Chronický zánět zjevně tento proces urychluje, nicméně nejsou známy přesné mechanismy, kofaktory nebo základní genetické defekty, které umožňují klonům premaligních buněk překonat výše zmíněné ochranné bariéry. S ohledem na asociaci alterace některých genů se vznikem chronické pankreatitidy na jedné straně a chronickou pankreatidou jako rizikovým faktorem karcinomu pankreatu na druhé straně, lze uvažovat o spojení mezi geny podmiňujícími chronickou pankreatitidu a karcinomem pankreatu.

Závěrem lze říct, že chronická pankreatitida, nezávisle na etiologii, zvyšuje riziko vzniku karcinomu pankreatu. Toto riziko je dále modifikováno kofaktory jako je například kouření a pravděpodobně i společnými, prozatím neidentifikovanými genetickými vlivy.

HYPOTÉZY:

- A. Autoimunitní pankreatitida je rizikovým faktorem rozvoje karcinomu pankreatu.
- B. Genetická predispozice k chronické pankreatitidě přispívá ke zvýšené susceptibilitě vzniku karcinomu pankreatu.

CÍLE PRÁCE:

- A. Objasnit vztah mezi autoimunitní pankreatitidou a karcinomem pankreatu a to jak retrospektivním zhodnocením koincidence autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu u pacientů s autoimunitní pankreatitidou podstoupivších resekci pankreatu, tak i prospektivním sledováním kohorty pacientů s autoimunitní pankreatitidou a analýzou všech publikovaných případů koincidence autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu.
- B. K posouzení možné společné genetické susceptibility chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu provést case-control analýzu vybraných rizikových loci pro chronickou pankreatitidu u pacientů s chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu.

METODY

1. AUTOIMUNITNÍ PANKREATITIDA A KARCINOM PANKREATU

1A. Retrospektivní analýza

Provedli jsme retrospektivní analýzu údajů všech pacientů, kteří od ledna 2000 do července 2013 podstoupili v Institutu klinické a experimentální medicíny resekci pankreatu pro fokální expanzi pankreatu. Indikací k chirurgickému zákroku bylo podezření na nádor pankreatu založené na klinickém obrazu, nálezů zobrazovacích metod a laboratorním vyšetření. Mnozí pacienti byli odesláni na naše (terciární) pracoviště přímo k resekčnímu výkonu s tím, že diagnostický proces byl proveden pouze v referujícím centru.

Diagnóza AIP byla založena na histologickém nálezů. V případě podezření na AIP vyjádřené patologem vyšetřujícím resekát bylo provedeno druhé čtení patologem specializujícím se na onemocnění pankreatu. Histologická diagnóza AIP byla stanovena na základě ICDC kritérií, podmínkou byla přítomnost storiformní fibrózy, obliterativní flebitidy a abundantní zastoupení IgG4+ plasmocytů u AIP 1. typu, pro AIP 2. typu byla patognomická přítomnost granulocytárních epiteloïdních lézí (GEL)(82).

K statistické analýze kvantitativních údajů byl použit Mann-Whitneyův U test, k posouzení nezávislosti kvalitativních znaků pak Fisherův exaktní test, obojí s hladinou významnosti $p=0,05$. Data byla analyzována statistikem IKEM využívajícím JMP 10 software (SAS Institute Inc., Cary, NC)

1B. Prospektivní sledování

Do studie byli zahrnuti všichni pacienti s diagnózou AIP sledování na klinice hepatologie IKEM. Diagnóza byla stanovena na základě ICDC kritérií. Pacienti byli sledování prospektivně v 6 měsíčních intervalech, zaznamenali jsme symptomy, biometrii a laboratorní nález včetně Ca19-9. Jednou ročně, či v případě potíží, byla u pacientů provedena ultrasonografie břicha.

1C. Systematické scoping review

Analýzu jsme provedli v souladu s platnými pokyny k tvorbě scoping review (146). Review otázka „Výskyt karcinomu pankreatu u pacientů s autoimunitní pankreatitidou“ byla vytvořena pomocí nástroje PEO.

Zahrnující kritéria:

P (population/problem) – dospělá populace

E (exposure) – autoimunitní pankreatitida (diagnóza stanovena na základě obecně platných kritérií; tzn. ICDC, HISORt, Japan Pancreas Society, Asian diagnostic criteria); u pacientů se synchronním výskytem autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu byla vyžadována specifikace odlišení autoimunitní pankreatitidy od nespecifické peritumorózní pankreatitidy

O (outcome) – výskyt karcinomu pankreatu v sledované populaci

Vylučující kritéria:

P (population/problem) – děti do 18 let

E (exposure) – nejasné kritéria pro stanovení diagnózy autoimunitní pankreatitidy; nespecifikovaný způsob odlišení peritumorózní pankreatitidy od autoimunitní pankreatitidy u případů se synchronní diagnózou autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu

O (outcome) – chybějící údaj o výskytu karcinomu pankreatu v sledované populaci pacientů s autoimunitní pankreatitidou

Klíčová slova použitá pro vyhledávací strategii byla upravena podle odborných termínů a tezurů použitých databází, vyhledávání bylo provedeno v dubnu 2016, použité databáze byly MEDLINE, EMBASE, Scopus and Web of Science. Vyhledávací strategie je uvedena v schématu č. 1. Vyhledány byly všechny typy studií, do analýzy byly zahrnuty recenzované originální práce v anglickém jazyce. Vyhledávání v databázích bylo doplněno o manuální vyhledávání v referencích získaných článků. Relevance vyhledaných studií byla hodnocena dvěma nezávislými gastroenterology (PM a TH). První fáze hodnocení relevance vyhledaných vědeckých prací byla založena na analýze názvu a abstraktu. Pokud nebylo možné v první fázi určit relevantnost studie k review otázce, byl v druhé fázi hodnocen celý text. Z každého článku způsobilého k zařazení do analýzy extrahovali a kategorizovali oba recenzenti relevantní data o případech koincidence autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu a zadávali je do předem připraveného formuláře vytvořeného v Microsoft Excel. Zaznamenávali jsme informace o autorech, charakteru studie, roku publikace, použitých diagnostických kritériích a typu autoimunitní pankreatitidy, o průběhu onemocnění (postižení jiných orgánů, léčba, relaps), věku a pohlaví pacientů, v longitudinálních studiích o počtu sledovaných pacientů a době sledování, dále informace o přítomnosti jiných rizikových faktorů karcinomu pankreatu (kouření, abúzus alkoholu) a charakteristice karcinomů

pankreatu (lokalizace, velikost, přežití pacientů). Všichni autoři relevantních studií byli následně kontaktováni elektronickou cestou a požádáni o zaslání chybějících/nepublikovaných údajů formou předpřipravených dotazníků – viz příloha č. 1 a č. 2. V případě že nebylo možné vyloučit duplicitní publikaci případů, byli tito pacienti ze studie vyloučení.

Schéma č. 1: vyhledávací strategie.

1	autoimmune pancreatitis
2	AIP
3	lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis
4	LPSP
5	Idiopathic duct-centric pancreatitis
6	IDCP
7	1 OR 2 OR 3 OR 4 OR 5 OR 6
8	cancer
9	carcinoma
10	pancreatic cancer
11	pancreatic carcinoma
12	neoplasm
13	neoplasia
14	malignancy
15	malignity
16	8 OR 9 OR 10 OR 11 OR 12 OR 13 OR 14 OR 15
17	7 AND 16

2. SPOLEČNÁ GENETICKÁ PREDISPOZICE CHRONICKÉ PANKREATITIDY A KARCINOMU PANKREATU

Studovaná populace

Konsorcium PANDoRA je v detailu popsáno v publikaci Daniela Campu z roku 2013 (147). Pro účely této studie bylo retrospektivně shromážděno 3165 pacientů s karcinomem pankreatu (KP), 365 pacientů s chronickou pankreatitidou (CHP) a 5787 zdravých kontrol z devíti států (Itálie, Řecko, Německo, Česká republika, Spojené Království, Litva, Polsko, Nizozemí, Japonko). V tabulce 1 je shrnuta charakteristika populace. Případy byly definovány jako pacienti s potvrzenou diagnózou KP nebo CHP. Kontroly byly rekrutovány v těch samých centrech nebo lokalitách jako případy. Britské a nizozemské kontroly (N=176 a 102) byly vybrány ze zdravých dobrovolníků rekrutovaných z obecné populace v rámci „European Prospective Investigation on Cancer (EPIC)“, což je kohorta generována v rámci běžící mezinárodní studie (148). Všechny subjekty podepsali informovaný souhlas se zařazením do studie, ta byla schválena etickou komisí Univerzity v Heidelbergu (Medizinische Fakultät Universität Heidelberg). Studie byla provedena v souladu s etickými principy dle Helsinské deklarace.

Selekce SNP

Studováno bylo pět běžných jednonukleotidových polymorfismů (SNPs), které byly identifikovány pomocí celogenomové asociační studie (GWAS) jako alely predisponující k rozvoji CHP (17). Jiné rizikové alely nejsou toho času dle GWAS katalogu (<https://www.ebi.ac.uk/gwa>) známé. Specificky byly vybrány: MUM1-like 1 (MUM1L1-CXorf57)-rs379742 na chromozomu X (Xq22.3), Protease, Serine 1/2 (PRSS1-PRSS2)-rs10273639 na chromozomu 7 (7q34), KIAA1462- mitochondrial poly(A) polymerase (MTPAP)-rs2995271 na chromozomu 10 (10p11.23), sterile alpha motif domain containing 12 - TNF receptor superfamily member 11b (SAMD12-TNFRSF11B)-rs11988997 na chromozomu 8 (8q24) a Claudin 2 (CLDN2)-rs12688220 na chromozomu X (Xq22.3-q23). Genotypizace pro poslední z těchto SNP nebyla úspěšná, proto byl vybrán SNP MORC family CW-type zinc finger 4 (MORC4)-rs12837024 jako „proxy“ funkční varianty, s kterou je v těsné vazebné nerovnováze ($r^2=0.951$ v HapMap release 21).

Příprava vzorku a genotypizace

Genomová DNA byla extrahována z leukocytů periferní krve pomocí QiaCube HT s použitím QIAamp® 96 DNA kitu. DNA bylo kvantifikováno pomocí přístroje NanoDrop a uchovávána při -20 °C až do použití.

Genotypizace byla provedena technologií TaqMan (ABI, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) za využití 384 jamkových destiček. Detekce byla provedena nástrojem Viia7 a Viia7 softwarem (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Pořadí případů a kontrol bylo v genotypizačních destičkách randomizováno, aby se předešlo analýze destiček obsahujících pouze případy nebo pouze kontroly. Statut vzorku (případ KP, případ CHP nebo zdravá kontrola) byl osobě provádějící genotypizaci neznámý. K zajištění kvality genotypizace bylo 10% ze všech vzorků duplikováno a genotypováno současně. Poté byla kontrolována míra shody mezi vzorky a jejich duplikáty. Genotypizace nizozemských a britských kontrol byla prováděna pomocí Human 660W-Quad BeadChip systému dle doporučení výrobce (Illumina, San Diego, CA, USA).

Tabulka č. 1. Studovaná populace

	případy KP	případy CHP	kontroly
Země/region			
Německo	1,083	148	1,802
Itálie	963	89	1,657
Řecko	99	0	205
Česká republika	256	25	494
Polsko	89	91	269
Litva	57	0	185
Nizozemsko	113	3	102
Spojené království	94	0	176
Japonsko	160	0	706
Celkem	2,914	356	5,596
Pohlaví			
Muži	57.2%	71.2%	52.4%
Ženy	42.8%	28.8%	47.6%
Medián věku	51	66	58
(25. – 75. percentil)	42-62	58-72	49-66

Statistická analýza

Hardy-Weinbergova rovnováha (HWE) byla kontrolována u kontrolních subjektů studie pro každou zemi zvlášť. Pro posouzení vlivu polymorfni varianty na riziko vzniku KP a CHP byla použita logistická regresní analýza k výpočtu poměru šancí (OR), 95% intervalů spolehlivosti (95% CI) a hodnoty p. Použit byl kodominantní model dědičnosti, častější alela u kontrol byla stanovena jako referenční. Kavkazská a japonská populace byly v analýze odděleny. Všechny analýzy byly přizpůsobeny věku, pohlaví a geografickému původu (Kavkazské populace). Rovněž byla provedena stratifikovaná analýza podle země původu.

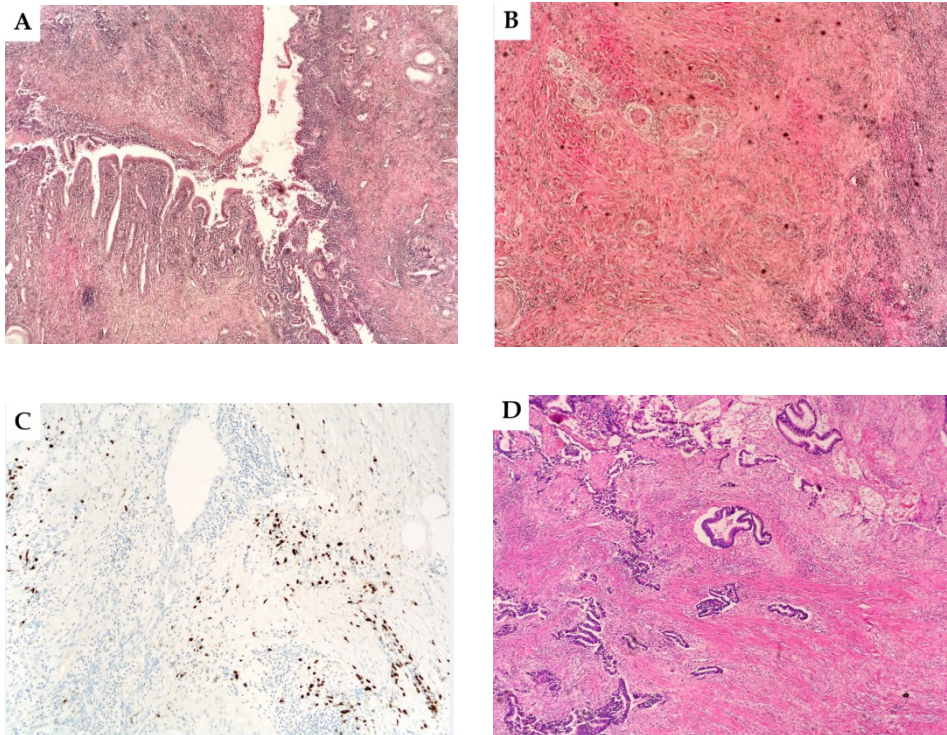
VÝSLEDKY

1. AUTOIMUNITNÍ PANKREATITIDA A KARCINOM PANKREATU

1A. Retrospektivní analýza

Ve sledovaném období bylo na našem pracovišti provedeno celkem 295 resekcí pankreatu u 201 mužů (68%) a 94 žen (32%) s mediánem věku 61 (36-78) let. U 15 pacientů (5,1%, 12 mužů, 3 ženy, věkový medián 57 (35-67) let) byla na základě histologického nálezu stanovena diagnóza AIP. U dvou z těchto pacientů byla diagnóza AIP zvažována předoperačně, nicméně nebyla definitivně potvrzena. Indikací k výkonu byla u 13 pacientů (87%) suspektní léze v oblasti hlavy pankreatu, u dvou pacientů byla expanze v oblasti kaudy. Šest pacientů (40%) bylo diagnostikovaných jako AIP 1. typu (všichni muži, medián věku 53 (46-67) let), devět pacientů (60%) mělo v resekátu nález charakteristický pro AIP 2. typu (6 mužů, 3 ženy, medián věku 58 (35-64) let).

U šesti pacientů (40%) s AIP (2 s AIP 1. typu, 4 s AIP 2. typu) byl v resekované tkáni rovněž přítomen duktální adenokarcinom pankreatu (obrázek č. 5 A-D). U pěti z nich byl nádor lokalizovaný v hlavě pankreatu, u jednoho byla postižená kauda. Charakteristika pacientů s AIP s a bez KP je shrnuta v tabulce 2. Všichni pacienti s AIP a KP byli muži s věkovým mediánem 60,5 (54-67) let. Všichni pacienti s AIP a KP měli v anamnéze výrazný váhový úbytek (medián 15,5 (8-50) kg), který byl signifikantně větší, nežli váhový úbytek zaznamenaný u šesti z devíti pacientů s AIP bez KP (medián 8,5 (3-12) kg, $p=0,03$). Pacienti s karcinomem byly signifikantně starší (medián věku 60,5 vs 49 let, $p=0,045$) a častěji byl u nich recentně (do 6 měsíců před resekcí) diagnostikován diabetes mellitus (67% vs 11%, $p=0,09$). Anamnéza kouření se u obou skupin významně nelišila (56% u pacientů s AIP bez KP, 67% pacientů s AIP a KP), stejně tak nebyl nalezen rozdíl v přítomnosti ikteru. Histologické vyšetření u pacientů s AIP a KP je popsáno v tabulce 3 a tabulce 4.



Obrázek č. 5: Histologický nález v resekátu pankreatu u pacienta s karcinomem pankreatu v terénu autoimunitní pankreatitidy (AIP + KP): A – AIP, barvení hematoxylin- eozin (HE), zvětšení 40×; B – AIP, storiformní fibróza, barvení HE, zvětšení 40×; C – AIP, imunohistochemický průkaz IgG4+ plasmocytů; D – CP, barvení HE, zvětšení 40×.

Tabulka č. 2: Charakteristika pacientů s autoimunitní pankreatitidou s a bez karcinomu pankreatu

	AIP bez KP	AIP s KP	P hodnota
Celkem	9 (60)	6 (40)	
AIP 1. typu	4 (44)	2 (33)	
AIP 2. typu	5 (56)	4 (67)	
Pohlaví (muži)	6 (67)	6 (100)	
Věk	49 (35-64)	60.5 (54-67)	0.045
Kouření	5 (56)	4(67)	
Recentně diagnostikovaný diabetes	1 (11)	4 (67)	0.09
Jiné autoimunitní onemocnění	4 (44) ¹	0	
Předchozí anamnéza onemocnění pankreatu	5 (56) ²	1 (17) ³	
Ikterus	3 (33)	4 (67)	
Úbytek hmotnosti	6 (67)	6 (100)	
- v kilogramech	8.5 (3-12)	15.5 (8-50)	0.03
Lokalizace fokální léze (hlava pankreatu)	8 (89)	5 (83)	
Ca 19-9 (norma 0-27 kU/l)	35.2 (2.5-300)	89.8 (19.8-110)	

Kvantitativní údaje jsou vyjádřené jako medián (rozsah), kvalitativní údaje jako absolutní hodnota s procenty. ¹1× IgG4-asociovaná sklerozující cholangitida, 1× IgG4-asociovanásialadenitida, 1×M. Crohn, 1× autoimunitní tyroiditida; ²2×chronická pankreatitida, 3×akutní pankreatitida; ³1×chronická pankreatitida; AIP: autoimunitní pankreatitida; KP: karcinom pankreatu

Tabulka č. 3: Histopatologické nálezy u pacientů s autoimunitní pankreatitidou 1. typu a karcinomem pankreatu

Pacient č.	Pohlaví	Věk	Periduktální lymfoplazmocytární			IgG4- pozitivní plazmocyty
			infiltrát bez granulocytární infiltrace	Obliterativní flebitida	Storiformní fibróza	
2	M	67	Ano	Ano	Ano	47/HPF
6	M	61	Ano	Ano	Ano	58/HPF

HPF: High-power field.

Tabulka č. 4: Histopatologické nálezy u pacientů s autoimunitní pankreatitidou 2. typu a karcinomem pankreatu

Pacient č.	Pohlaví	Věk	Granulocytárních epiteloidní léze (GEL)	Granulocytární a lymfoplazmocytární acinární infiltrát	IgG4-pozitivní plazmocyty
			1	M	54
3	M	63	Ano	N/A	2/HPF
4	M	58	Ano	N/A	7/HPF
5	M	60	Ano	N/A	4/HPF

HPF: High-power field; N/A: při nálezu GEL není relevantní

Šest pacientů s AIP mělo v anamnéze onemocnění pankreatu, tři chronickou pankreatitidu (u dvou pacientů s AIP bez KP a jednoho pacienta s AIP a KP) a tři ataku akutní pankreatitidy neurčené etiologie (všichni s AIP bez KP). Anamnézu jiných autoimunitních onemocnění měli pozitivní pouze čtyři pacienti s AIP bez KP - dva pacienti s AIP 1. typu (22%) měli postižení jiných orgánů (IgG4 sklerozující cholangitida a sialoadenitida), které se ale manifestovalo až v pooperačním období. Jeden pacient s AIP 1. typu měl autoimunitní tyroiditidu a jedna pacientka s AIP 2. typu měla v anamnéze Crohnovu chorobu.

U jedenácti pacientů (7 s AIP a 3 s AIP a KP) byla provedena endosonograficky navigovaná biopsie suspektní pankreatické léze tenkou jehlou (FNAB). Cytologické vyšetření aspirátu u pacientů s AIP a KP bylo správně pozitivní u tří pacientů, u jednoho nevýtěžné. U pacientů s AIP bez KP bylo vyšetření správně negativní u čtyř z nich, falešně pozitivní u dvou a nekonkluzivní u jednoho (tabulka 5).

Se znalostí definitivní histologické diagnózy jsme retrospektivně znovu hodnotili anamnézu, nálezy zobrazovacích metod a laboratorní výsledky u pacientů s AIP a KP k posouzení možnosti stanovení předoperační diagnózy AIP. Žádný s pacientů by na základě dostupných znalostí nesplnil aktuální konsenzuální kritéria AIP (ICDC). Hladiny sérové IgG4 nebyly u dvou pacientů s AIP 1. typu stanoveny a histologické vyšetření pankreatické tkáně nebylo provedeno u žádného z pacientů s AIP 2. typu. Pouze jeden pacient (s AIP 2. typu) měl CT nález typický pro AIP, indikací k resekci byl u něj nález maligních elementů ve FNAB cytologii. U zbylých pěti pacientů jejich nález na CT nebudil podezření na AIP. Předoperační nálezy u obou skupin (AIP s KP a AIP bez KP) jsou popsány v tabulce 5.

Tabulka č. 5: Hodnoty IgG4 v séru, nálezy zobrazovacích metod a výsledky aspirační biopsie u pacientů s autoimunitní pankreatitidou bez a s karcinomem pankreatu.

			IgG4 v séru (mg/dL)	CT	ERCP	EUS	EUS-FNA
AIP 1. typu + KP	M	67	N/A	A	N/A	N/A	N/A
	M	61	N/A	A	stenóza choledochu	susp. M	inkonkluzivní
AIP 1. typu	M	46	81.5	L2	stenóza choledochu	nejednoznačný	negativní
	M	57	81.5	A	stenóza choledochu	N/A	N/A
	M	49	N/A	A	neúspěšná wirsungografie	známky CHP	inkonkluzivní
	M	48	23.1	L2	N/A	susp M	negativní
AIP 2. typu + KP	M	54	NR	L2	N/A	nejednoznačný	susp M
	M	63	NR	A	N/A	nejednoznačný	susp M
	M	58	NR	A	wirsungolitiáza	N/A	N/A
	M	60	NR	A	N/A	nejednoznačný	susp M
AIP 2. typu	Ž	61	NR	L2	N/A	susp M	susp M
	Ž	64	NR	A	dilatace wirsungu; sekrece mucínu	susp. MD-IPMN	negativní
	M	35	NR	L2	N/A	nejednoznačný	susp M
	Ž	47	NR	L2	N/A	nejednoznačný	negativní
	M	53	NR	A	N/A	N/A	N/A

L2: Level 2 průkaznosti zobrazení parenchymu dle ICDC kritérií; M: muž; Ž: žena; NR: irelevantní; N/A: výsledky nejsou k dispozici nebo vyšetření nebylo provedeno; A: atypický nález nesvědčící pro AIP; susp. M: nález suspektní z malignity; CHP: chronická pankreatitida; EUS: endoskopická ultrasonografie; EUS-FNA: EUS-navigovaná aspirační biopsie tenkou jehlou; CT: počítačová tomografie; AIP: autoimunitní pankreatitida; KP: karcinom pankreatu

1B. Prospektivní sledování

Prospektivně bylo sledováno 12 pacientů (8 mužů, 4 ženy) s mediánem věku v době diagnózy nemoci 51 let (36-70). Deset pacientů podstoupilo před stanovením diagnózy resekci pankreatu. Postižení jiného orgánu bylo zaznamenáno u 7 pacientů. U poloviny pacientů byla podávána imunosupresivní léčba. Při mediánu sledování 93 měsíců (14-124) nebyl zaznamenán ani jeden případ karcinomu pankreatu. Soubor pacientů je charakterizován v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6: Charakteristika souboru prospektivně sledovaných pacientů s autoimunitní pankreatitidou.

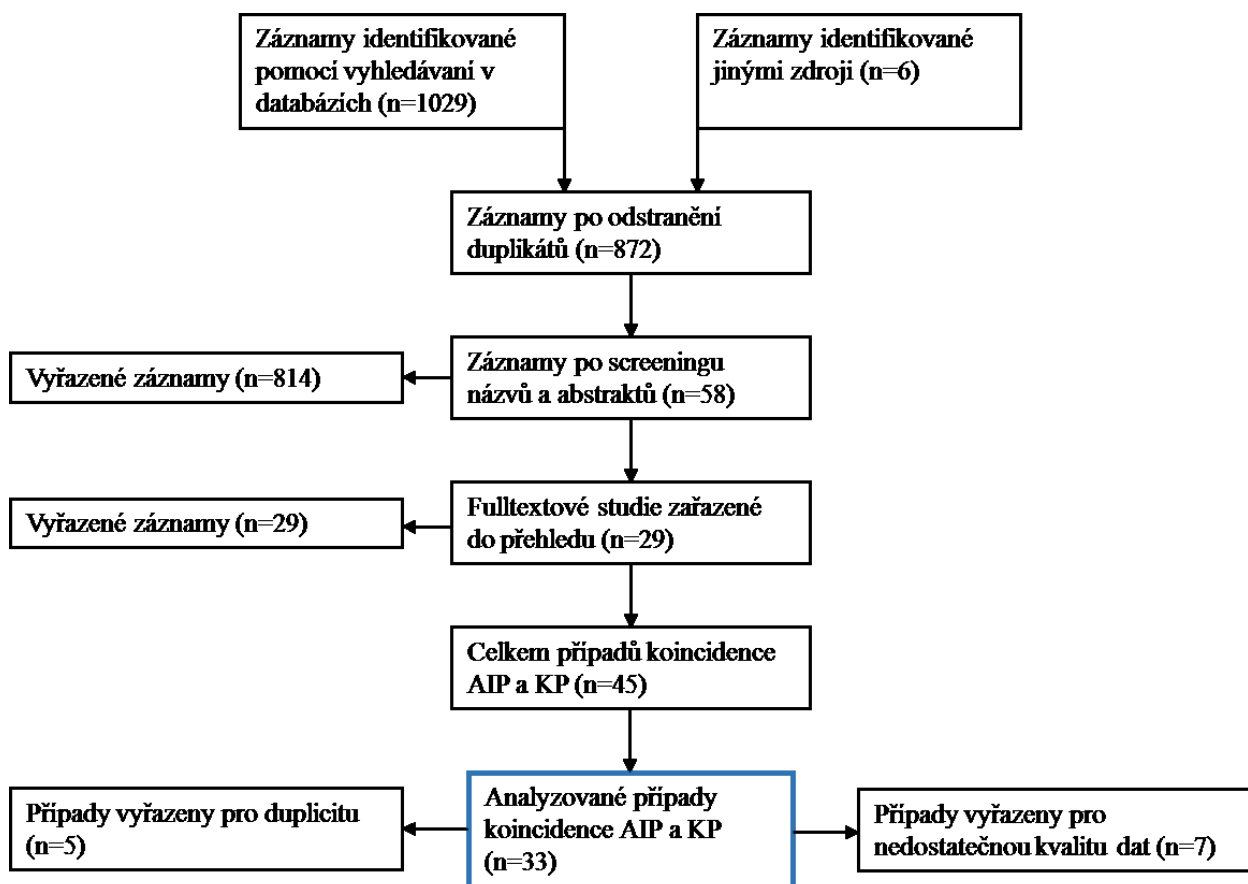
#	Pohlaví	Věk v době diagnózy	Typ AIP	Resekce pankreatu	Postižení jiného orgánu	Imunosupresivní léčba	Doba sledování (měsíce)	Výskyt karcinomu pankreatu
1	Ž	61	2	ST	MC	KS	99	ne
2	Ž	65	1	ST	ne	ne	88	ne
3	M	47	1	ST	SC	KS, AZA	113	ne
4	M	61	1	ST	SC	KS, AZA	117	ne
5	Ž	43	2	DP	ne	KS	102	ne
6	M	50	1	TP	ne	ne	120	ne
7	M	23	1	DP	ne	ne	35	ne
8	M	52	2	TP	SC	ne	37	ne
9	Ž	36	1	SF	ne	ne	124	ne
10	M	45	1	ST	UC	ne	14	ne
11	M	53	1	ne	SC	KS, AZA	21	ne
12	M	70	1	ne	SC	KS	59	ne

Ž: žena; M: muž; ST: resekce dle Traversa; DP: distální pankreatektomie; TP: totální pankreatektomie; SF: resekce dle Freye; MC: Crohnova choroba; SC: sklerozující cholangitida; UC: ulcerózní kolitida; KS: kortikosteroidy; AZA: azathioprine

1C. Systematické scoping review

Celkem bylo na základě vyhledávacího algoritmu nalezeno 1035 článků, po vyloučení 163 duplikátů jsme prozkoumali názvy a abstrakta 872 unikátních článků, 814 článků jsme vyřadili, neboť se jejich abstrakty nezabývali námi studovaným problémem. Po získání a přezkoumání celého textu zbývajících 58 článků jsme vyřadili 29 studií, v kterých nebyl nalezen údaj o výskytu karcinomu pankreatu v studované populaci. K analýze jsme použili 29 článků (10 popisů případu, 1 série případů, 1 studie případů a kontrol, 12 retrospektivních a 5 prospektivních longitudinálních studií), ve kterých jsme identifikovali 45 případů koincidence karcinomu pankreatu a autoimunitní pankreatitidy. Pro podezření na duplicitu 5 případů ve více studiích jsme tyto případy vyřadili. Dalších 7 případů bylo vyřazeno z podrobnější analýzy pro absenci dodatečných informací (vyjma údaje o koincidenci karcinomu s autoimunitní pankreatitidou). Detailní proces vyhledávání a výběru studií je znázorněn v schématu č. 2.

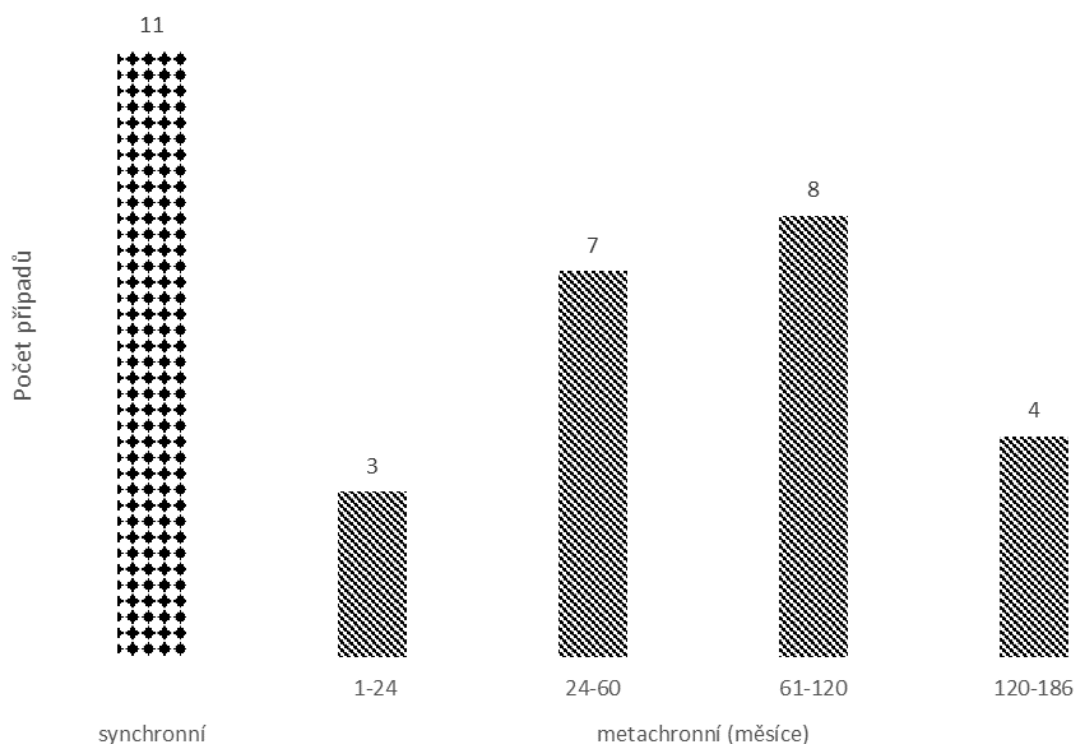
Schéma č. 2: diagram vyhledávání literatury



Celkem bylo tedy analyzováno 33 případů koincidence karcinomu pankreatu a autoimunitní pankreatitidy a charakteristika pacientů je shrnutá v tabulce č 7. Údaj o věku a pohlaví pacientů byl znám u 28 z 33 případů. Karcinomu pankreatu se vyskytnul u 23 mužů (82%) mužů a 5 žen (18%) s autoimunitní pankreatitidou, medián věku byl 69.5 let (52-83). Většina pacientů měla AIP 1. typu, jeden pacient měl AIP 2. typu, u jednoho pacienta byla diagnóza stanovena jako AIP-NOS. Jedna třetina pacientů měla difuzní formu AIP, zbylí pacienti byli diagnostikováni s fokální formou onemocnění (75% z nich mělo postižení hlavy pankreatu).

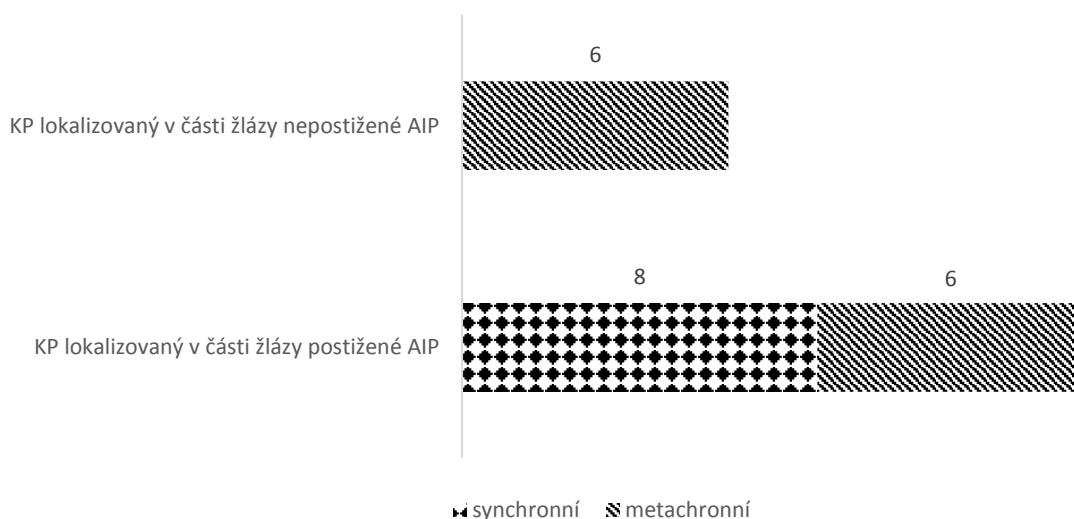
Synchronní diagnóza AIP a KP byla stanovena u 11 pacientů, u 22 pacientů byl zaznamenán metachronní výskyt onemocnění. V metachronní skupině byl medián intervalu mezi diagnózou AIP a KP 66,5 měsíců (2-186). U většiny pacientů (86%) byl karcinom diagnostikován po více než dvou letech sledování s AIP, u více než poloviny (55%) byla malignita zaznamenána až po pěti letech (graf č. 1).

Graf č. 1: histogram intervalů mezi diagnózou KP a AIP



Lokalizace karcinomu byla stejná v hlavě a těle pankreatu (po 8 případech), u jednoho pacienta byl lokalizován karcinom v kaudě. U většiny pacientů (70%) vyvstal karcinom v části pankreatu postižené AIP (graf č 2.).

Graf č. 2: lokalizace karcinomu pankreatu ve vztahu k rozsahu AIP



Vedle charakteristiky pacientů s koincencí AIP a KP jsme sledovali i četnost karcinomu pankreatu v dlouhodobě sledovaných souborech pacientů s AIP. Do analýzy bylo zahrnuto 18 studií (12 retrospektivních a 5 prospektivních studií a jedna studie případů a kontrol). Tři studie (1 retrospektivní, 1 prospektivní a studie případů a kontrol) byly vyloučeny pro podezření na duplicitu souboru, jelikož se jednalo o práce od stejných autorů na obdobné téma. Do analýzy byla od stejného autora vybrána studie publikovaná později, nebo s větším počtem pacientů. Po této korekci bylo v longitudinálních studiích zaznamenáno 29 případů karcinomu pankreatu u 2616 sledovaných osob. Průměrná doba sledování na 1 pacienta byla 57 měsíců (tabulka č. 8). To znamená, že do pěti let sledování vyvinulo 1,1% pacientů s AIP karcinom pankreatu. V případě další korekce analýzy spočívající v odstranění mezinárodních nebo národních multicentrických studií (kde je opět vysoké riziko duplicity pacientů) – tzn. studií od Harta z roku 2013 a Kamisawu z roku 2009 by byl celkový počet případů karcinomu pankreatu 21 na 989 dlouhodobě sledovaných pacientů s AIP (2,1%) za průměrnou dobu sledování 57 měsíců.

Tabulka č. 7: charakteristika analyzovaných případů koincidence KP a AIP

#	PUBLIKACE	VĚK	POHLAVÍ	DIAGNOSTICKÁ KRITÉRIA	TYP AIP	FORMA	SEROVÉ IgG4 (mg/dl)			IS LÉČBA	RELAPS	ZNÁMKY CHP	KOUŘENÍ	ABÚZUS ALKOHOLU	KARCINOM PANKREATU			
							vstupní	při diagnóze KP	OOI						interval mezi AIP a KP (měsíce)	velikost (mm)	lokalizace	přežití (měsíce)
1	Ikeura et al, 2014	64	Ž	ICDC	Typ 1	F (hlava)	338	290	No	prednison	Ne	Ne	Ne	Ne	31	48	hlava	15
2	Fukui et al, 2008	54	Ž	ICDC	Typ 1	F (kauda)	N/A	N/A	No	prednison	Ne	Ne	Ne	Ne	186	35	tělo	51
3	Uchida et al, 2009	80	M	ICDC	Typ 1	F (hlava)	154	N/A	No	prednison	Ne	Ne	Ne	Ne	67	20	tělo	31
4	Gupta et al, 2013	73	M	N/A	Typ 1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	120	20	kauda	N/A
5		69	M	N/A	Typ 1	F (hlava)	147	N/A	N/A	prednison	N/A	N/A	N/A	N/A	96	N/A	hlava	N/A
6	Ghazale et al, 2007	77	M	HISORt	Typ 1	F (hlava)	N/A	N/A	plicní	Ne	Ano (1)	Ne	Ano	Ne	60	50	tělo	1
7	Iida et al, 2008	59	M	JDC	Typ 1	F (hlava)	334	N/A	N/A	prednison	N/A	N/A	N/A	N/A	6	N/A	kauda	N/A
8	Shimizu et al, 2015	70	Ž	ICDC	Typ 1	D	298	196	No	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	54	N/A	tělo	20
9	Kubota et al, 2007	59	M	JDC	Typ 1	D	N/A	334	sialdenitida	prednison	Ano (2)	Ano (atrofie)	Ano	Ne	66	20	kauda	12
10		73	M	JDC	Typ 1	F (hlava)	210	30	cholangitida	prednison	Ano (2)	Ano (atrofie)	Ano	N/A	48	30	hlava	6
11	Frulloni et al, 2009	79	M	ICDC	Typ 2	F (hlava)	N/A	N/A	ulcerózní kolitida	Ne	Ne	Ano (atrofie)	Ne	Ne	136	N/A	tělo	N/A
12	Hirano et al, 2014	68	M	ICDC	Typ 1	N/A	220	N/A	N/A	prednison	N/A	N/A	N/A	N/A	119	N/A	N/A	N/A
13		83	M	ICDC	Typ 1	N/A	875	N/A	N/A	Ne	N/A	N/A	N/A	N/A	162	N/A	N/A	N/A
14	Hart et al, 2013	65	M	ICDC	Typ 1	F	506	262	N/A	prednisolon	N/A	N/A	N/A	N/A	75	N/A	N/A	N/A
15		77	M	ICDC	Typ 1	D	637	200	N/A	prednisolon	N/A	N/A	N/A	N/A	9	N/A	N/A	N/A
16		65	M	ICDC	Typ 1	F (tělo)	147	N/A	N/A	prednisolon	N/A	N/A	N/A	N/A	84	N/A	N/A	N/A
17		80	M	ICDC	Typ 1	F (hlava)	154	N/A	No	prednisolon	N/A	Ne	N/A	N/A	67	N/A	tělo	N/A
18	Matsubayashi et al, 2016	73	Ž	ICDC	Typ 1	D	1240	N/A	Mikuliczova nemoc	prednison	Ne	Ne	N/A	N/A	12	20	hlava	12
19	Kamisawa et al, 2009	N/A	N/A	ADC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	36	N/A	N/A	N/A
20		N/A	N/A	ADC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	42	N/A	N/A	N/A
21		N/A	N/A	ADC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	60	N/A	N/A	N/A
22	Yurci et al, 2013	N/A	N/A	HISORt	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	168	N/A	N/A	N/A
23	Matsubayashi et al, 2016	80	Ž	ICDC	Typ 1	F (kauda)		560	N/A	prednison		Ne	N/A	N/A	S	42	kauda	19
24	Inoue et al, 2006	62	M	N/A	Typ 1	N/A		138	No	Ne		Ne	Ano	Ne	S	20	tělo	N/A
25	Motosugi et al, 2009	59	M	N/A	Typ 1	F (tělo, kauda)		N/A	N/A	Ne		Ne	N/A	N/A	S	10	tělo	N/A
26	Witkiewicz et al, 2008	80	M	N/A	N/A	D		N/A	N/A	Ne		Ne	N/A	N/A	S	N/A	N/A	N/A
27	Chandrasegaram et al, 2013	53	M	N/A	Typ 1	D		31	No	Ne		Ne	Ano	Ne	S	45	hlava	N/A
28	Pezzilli et al, 2011	70	M	ICDC	NOS	F (hlava)		19	No	azathioprin		Ne	N/A	Ne	S	50	hlava	20
29	Matsubayashi et al, 2009	65	M	N/A	N/A	D		334	No	Ne		Ne	N/A	Ne	S	N/A	D	6
30	Bojkova et al, 2015	52	M	N/A	Typ 1	F (hlava)		514	No	prednison		N/A	Ano	Ne	S	N/A	hlava	N/A
31		65	M	N/A	Typ 1	F (hlava)		487	No	Ne			N/A	Ano	Ne	S	N/A	hlava
32	Sakashita et al, 2006	72	M	HISORt	N/A	D		N/A	No	prednison		Ne	N/A	N/A	S	N/A	kauda	N/A
33	Huggett et al, 2014	N/A	N/A	ICDC	Typ 1	N/A		>x4 normy	sialdenitida	N/A		N/A	N/A	N/A	S	N/A	N/A	N/A

M: muž; Ž: žena; N/A: výsledky nejsou k dispozici; F: fokální forma; D: difuzní forma; OOI: postižení jiných orgánů; S: synchronní diagnóza

Tabulka č. 8: výskyt karcinomu pankreatu v souborech dlouhodobě sledovaných pacientů s autoimunitní pankreatitidou

# AUTOR	NÁZEV PRÁCE	JOURNAL	ROK VYDÁNÍ	TYP STUDIE	POČET PŘÍPADŮ KP	POČET SLEDOVANÝCH PACIENTŮ s AIP	MEDIÁN SLEDOVÁNÍ (měsíce)
1 Ikeura T	Relationship between autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer: a single-center experience.	Pancreatology	2014	retrospektivní	3	63	62,4 (12-195)
2 Gupta R	Does autoimmune pancreatitis increase the risk of pancreatic carcinoma?: a retrospective analysis of pancreatic resections	Pancreas	2013	retrospektivní	2	84	49 (2-172)
3 Shimizu S	Correlation between long-term outcome and steroid therapy in type 1 autoimmune pancreatitis: relapse, malignancy and side effect of steroid	Scand J Gastroenterol.	2015	retrospektivní	1	84	54 (6-178)
4 Kubota K	Clinical factors predictive of spontaneous remission or relapse in cases of autoimmune pancreatitis	Gastrointest Endosc	2007	retrospektivní	2	20	22 (4-49)
5 Frulloni L	Autoimmune pancreatitis: differences between the focal and diffuse forms in 87 patients	Am J Gastroenterol.	2009	prospektivní	1	87	89±66
6 Hirano K	Incidence of malignancies in patients with IgG4-related disease	Intern Med.	2014	prospektivní	2	113	73 (7-204)
7 Inoue D	IgG4-related disease: dataset of 235 consecutive patients	Medicine (Baltimore).	2015	retrospektivní	1	142	37 (2-105)
8 Matsubayashi H	Pancreatic cystic lesions with atypical steroid response should be carefully managed in cases of autoimmune pancreatitis	J Gastroenterol Hepatol.	2016	retrospektivní	1	47	51,5 (9-118)
9 Uchida K	Long-term outcome of autoimmune pancreatitis	J Gastroenterol.	2009	prospektivní	1	21	40,8 (18-130)
10 Yurci A	Evolution in the diagnosis and treatment of autoimmune pancreatitis: experience from a single tertiary care center	Int J Clin Exp Pathol.	2013	retrospektivní	1	47	79 (1-198)
11 Asano J	Association Between Immunoglobulin G4-related Disease and Malignancy within 12 Years after Diagnosis: An Analysis after Longterm Followup	J Rheumatol.	2015	retrospektivní	4	109	72±54
12 Clark CJ	Short-term and long-term outcomes for patients with autoimmune pancreatitis after pancreatectomy: a multi-institutional study	J Gastrointest Surg.	2013	retrospektivní	1	66	58,5 (27-100)
13 Huggett MT	Type 1 Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Sclerosing Cholangitis Is Associated With Extrapancreatic Organ Failure, Malignancy, and Mortality in a Prospective UK Cohort	Am J Gastroenterol.	2014	prospektivní	1	106	33 (1-107)
celkem pacientů					21 (2,1%)	989	57,1
14 Kamisawa T	Standard steroid treatment for autoimmune pancreatitis	Gut	2009	retrospektivní	3	563	N/A
15 Hart PA	Long-term outcomes of autoimmune pancreatitis: a multicentre, international analysis	Gut	2013	retrospektivní	5	1064	N/A
celkem pacientů					29 (1,1%)	2616	57,1

2. SPOLEČNÁ GENETICKÁ PREDISPOZICE CHRONICKÉ PANKREATITIDY A KARCINOMU PANKREATU

Kontrola kvality a filtrování dat

Všechny polymorfní varianty byly v Hardy-Weinbergově rovnováze (HWE), s výjimkou MORC4-rs12837024 v jednom z italských center (Padova). Vzorky z Padovy byly tudíž z asociační analýzy pro tento konkrétní SNP vyřazeny. Celkem bylo po genotypizaci odstraněno 442 subjektů (251 případů KP a 191 kontrol), pro míru odezvy (call rate) < 75%. Po odstranění těchto subjektů byla průměrná míra odezvy SNP 94,43% s minimem 90,84% (rs12837024) a maximem 96,12% (rs11988997). Analýza kontroly kvality ukázala míru shody mezi duplikáty a vzorky 99,29%. Po odstranění výše uvedených subjektů bylo pro statistické analýzy použito 2914 případů KP, 356 případů CHP a 5596 kontrol.

Efekt SNPs na susceptibilitu ke KP

U kavkazského obyvatelstva jsme zjistili, že nosiči minor alely PRSS1-PRSS2-rs10273639 mají zvýšené riziko vzniku KP (OR heterozygotní = 1,13, 95% CI 1,01-1,27, $p = 0,039$ a OR homozygotní = 1,19, 95% CI 1,02 až 1,38, $p = 0,023$). Pro ostatní vybrané SNP nebyla prokázána statisticky významná asociace. Výsledky těchto analýz jsou uvedeny v tabulce č. 9. Při stratifikované analýze zvláště pro jednotlivé země nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly ani asociace. U japonské populace nebyly pozorovány žádné signifikantní asociace (tabulka č. 10).

Efekt SNPs na susceptibilitu k CHP

Všechny vybrané SNPs byly asociovány s chronickou pankreatitidou, s výjimkou KIAA1462-MTPAP-rs2995271. Nejsilnější asociace byly pozorovány u minor alely PRSS1-PRSS2-rs10273639 se snížením rizika CHP (OR heterozygotní = 0,51, 95% CI 0,39-0,67, $p = 1,10 \times 10^{-6}$, OR homozygotní = 0,60, 95% CI 0,42-0,85, $p = 0,004$ a $p_{trend} = 0,0009$) a u MORC4-rs12837024 se zvýšeným rizikem CHP (OR heterozygotní = 1,78, 95% CI 1,20-2,64, $p = 0,0049$, OR homozygotní = 2,07, 95% CI 1,55-2,77, $p = 7,00 \times 10^{-7}$ a $p_{trend} = 9,68 \times 10^{-11}$). Výsledky těchto analýz jsou uvedeny v tabulce č. 11.

Tabulka č. 9. Asociace mezi vybranými SNPs a KP v kavkazské populaci.

SNP	Gen	Chr.	Alely(M/m) ^a	Případy/Kontroly ^b			Mm vs. MM ^c	P _{het} ^d	mm vs. MM	P _{hom} ^e	P _{trend}
rs379742	<i>MUMIL1-CXorf57</i>	X	G/A	1925/3277	364/680	309/512	0.98 (0.84-1.15)	0.816	0.98 (0.83-1.15)	0.803	0.84
rs2995271	<i>KIAA1462-MTPAP</i>	10	T/C	1610/2847	890/1499	121/223	1.05(0.95-1.18)	0.324	0.97 (0.76-1.24)	0.824	0.66
rs10273639	<i>PRSSI-PRSS2</i>	7	C/T	823/1555	1251/2182	505/843	1.13 (1.00-1.27)	0.039	1.19 (1.02-1.38)	0.023	0.06
rs11988997	<i>SAMD12-TNFRSF11B</i>	8	C/T	2296/3907	352/665	9/26	0.89 (0.76-1.03)	0.113	0.48 (0.22-1.06)	0.068	0.06
rs12837024	<i>MORC4</i>	X	C/T	1577/2866	346/750	404/691	0.94 (0.80-1.11)	0.502	1.01 (0.87-1.17)	0.886	0.96

^a M: major alela; m: minor alela

^b Čísla nemusí odpovídat celkovému počtu dostupných subjektů kvůli chybám v genotypizaci

^c OR: odds ratio; CI: confidence interval. Všechny analýzy byly upraveny dle věku, pohlaví a geografického původu. Výsledky **tučně** jsou statisticky signifikantní (p<0.05)

^d U kodominantního modelu dědičnosti jsou P hodnoty vztaženy na **Mm vs. MM**

^e U kodominantního modelu dědičnosti jsou P hodnoty vztaženy na **mm vs. MM**

Tabulka č. 10. Asociace mezi vybranými SNPs a KP v japonské populaci.

SNP	Gen	Chr.	Alely (M/m) ^a	Případy/Kontroly ^b			Mm vs. MM ^c	P _{het} ^d	mm vs. MM	P _{hom} ^e	P _{trend}
rs379742	<i>MUMIL1-CXorf57</i>	<i>X</i>	G/A	84/419	16/87	47/171	0.99 (0.50-1.99)	0.988	1.34 (0.90-2.02)	0.145	0.15
rs2995271	<i>KIAA1462-MTPAP</i>	<i>10</i>	C/T	87/391	47/256	10/43	0.83 (0.56-1.22)	0.341	1.04 (0.50-2.16)	0.909	0.59
rs10273639	<i>PRSS1-PRSS2</i>	<i>7</i>	T/C	91/392	49/257	16/52	0.81 (0.56-1.20)	0.307	1.33(0.72-2.42)	0.360	0.94
rs11988997	<i>SAMD12-TNFRSF11B</i>	<i>8</i>	C/T	130/553	24/132	4/9	0.77 (0.48-1.05)	0.287	1.88 (0.57-6.22)	0.298	0.73
rs12837024	<i>MORC4</i>	<i>X</i>	C/T	71/330	25/95	46/198	1.44 (0.73-2.85)	0.291	1.06(0.71-1.62)	0.752	0.67

^a M: major alela; m: minor alela

^b Čísla nemusí odpovídat celkovému počtu dostupných subjektů kvůli chybám v genotypizaci

^c OR: odds ratio; CI: confidence interval. Všechny analýzy byly upraveny dle věku a pohlaví.

^d U kodominantního modelu dědičnosti jsou P hodnoty vztaženy na **Mm vs. MM**

^e U kodominantního modelu dědičnosti jsou P hodnoty vztaženy na **mm vs. MM**

Tabulka č. 11. Asociace mezi vybranými SNPs a CHP v kavkazské populaci.

SNP	Gen	Chr.	Alely (M/m) ^a	Případy/Kontroly ^b			Mm vs. MM ^c	P _{het} ^d	mm vs. MM	P _{hom} ^e	P _{trend}
rs379742	<i>MUMILI1-CXorf57</i>	<i>X</i>	G/A	240/3277	52/680	56/512	1.33 (0.89-1.97)	0.161	1.19 (0.84-1.69)	0.317	0.0188
rs2995271	<i>KIAA1462-MTPAP</i>	<i>10</i>	T/C	206/2847	120/1499	18/223	1.19 (0.91-1.55)	0.201	0.87 (0.48 -1.59)	0.654	0.3959
rs10273639	<i>PRSSI-PRSS2</i>	<i>7</i>	C/T	157/1555	130/2182	58/843	0.51 (0.39-0.67)	1.10x10⁻⁶	0.60 (0.42-0.85)	0.004	0.0009
rs11988997	<i>SAMD12-TNFRSF11B</i>	<i>8</i>	C/T	283/3907	57/665	0/26	1.43 (1.03-1.99)	0.031	nd	nd	0.5813
rs12837024	<i>MORC4</i>	<i>X</i>	C/T	181/2866	56/750	103/691	1.78 (1.20-2.64)	0.0049	2.07 (1.55-2.77)	7.00x10⁻⁷	9.68x10⁻¹¹

^a M: major alela; m: minor alela

^b Čísla nemusí odpovídat celkovému počtu dostupných subjektů kvůli chybám v genotypizaci

^c OR: odds ratio; CI: confidence interval. Všechny analýzy byly upraveny dle věku, pohlaví a geografického původu. Výsledky **tučně** jsou statisticky signifikantní (p<0.05)

^d U kodominantního modelu dědičnosti jsou P hodnoty vztaženy na **Mm vs. MM**

^e U kodominantního modelu dědičnosti jsou P hodnoty vztaženy na **mm vs. MM**

DISKUZE

Autoimunitní pankreatitida a karcinom pankreatu

AIP a KP mají v řadě případů podobnou klinickou manifestaci, jejich léčba se ale dramaticky liší. Typicky je u staršího pacienta s bolestí břicha prokázána fokální expanze pankreatu způsobující obstrukční ikterus. Pacient, u kterého prokážeme AIP, je léčen kortikosteroidy s následným ústupem expanze a symptomů. Tato léčba pacienta ušetří náročné a rizikové operace zatížené vysokou morbiditou a nezanedbatelnou mortalitou. Naopak pacient, u kterého je příčinou KP, má jedinou šanci na přežití při promptní chirurgické léčbě. Takový případ tak představuje komplexní diagnostické dilema. Přesná diferenciální diagnostika AIP a KP je pro léčbu a prognózu pacientů zásadní, v řadě případů je ale mimořádně obtížná až nemožná. Sérové markery AIP (zejména hladina IgG4) může být nápomocná v odlišení těchto patologií (149), nicméně zvýšené hladiny sérového IgG4 (i přes dvounásobek normy) byly prokázány u nezanedbatelného procenta pacientů s KP (150). Tento marker tak nelze s jistotou použít k vyloučení malignity.

V případě, že nelze s jistotou vyloučit přítomnost karcinomu pankreatu, je indikována resekce pankreatu. Pětiprocentní zastoupení AIP na celkovém počtu resekcí v našem souboru dobře koreluje s údaji publikovanými v minulosti. Výskyt AIP byl prokázán v 6-8% pacientů po resekci pankreatu (83). Toto vysoké zastoupení je způsobené výše popsanou podobností obou onemocnění a často obtížnou diagnostikou AIP. Relativně vyšší počet pacientů s AIP 2. typu (60%) v našem souboru lze vysvětlit jednak častějším zastoupením tohoto typu v naší geografické oblasti, jednak také častější manifestací tohoto podtypu fokální pankreatickou lézí, která navíc vzhledem k absenci sérového markeru či nepřítomnosti typického extrapancreatického postižení představuje obtížnější diagnostický problém (151). Dá se tedy předpokládat, že tento podtyp bude ve skupině nerozpoznaných pacientů četnější a nebude zcela odpovídat běžné populační charakteristice pacientů s AIP. Dále je pravděpodobné, že by řada pacientů s AIP-NOS (hojně zastoupená skupina v západních zemích) byla po vyšetření histologického materiálu překlasifikována na AIP 2. typu.

Zásadním nálezem v naší studii je vysoký výskyt adenokarcinomu pankreatu u pacientů s AIP, který dosáhl 40%. Dle našeho názoru se tak jedná o doposud největší publikovaný soubor pacientů s KP v terénu AIP. Karcinom pankreatu byl prozatím u pacientů s AIP dokumentován pouze v jednotlivých případech (150, 152-154). U žádného z našich pacientů nebyla diagnóza AIP stanovena předoperačně a žádný z pacientů nepodstoupil

imunosupresivní léčbu. Na základě retrospektivní analýzy dostupných údajů by tito pacienti nesplnili ICDC kritéria, nicméně diagnostický algoritmus nebyl při absenci několika sledovaných parametrů kompletní. Dále je nutno poznamenat že řada z našich pacientů podstoupila resekci pankreatu dříve, než byla ICDC kritéria vytvořena.

Hlavním nedostatkem naší studie je stanovení koincidence AIP a KP na základě histologie resektátů. Jsme si vědomi toho, že v okolí pankreatických neoplázií může být přítomná nespecifická peritumorózní pankreatitida sdílející některé histologické charakteristiky s AIP 1. typu – například abundanci IgG4+ plazmatických buněk, přítomnost venulitidy nebo peridukálního zánětu (155). Nicméně v případě nespecifické peritumorózní pankreatitidy je distribuce IgG4+ plazmatických buněk fokální, na rozdíl od AIP 1. typu kde jsou tyto buněčné elementy zastoupeny difuzně (156, 157). K vyloučení falešného hodnocení byly všech případy simultánního výskytu AIP a KP revidovány patologem specializujícím se na onemocnění pankreatu. Do studie jsme zahrnuli pouze případy, kde byla distribuce IgG4 plazmocyty difuzní s hustotou $> 50/HPF$ a kde byly zastoupeny i zbylé morfologické znaky AIP 1. typu. U takového postupu byla prokázána excelentní specifická odlišnost AIP 1. typu a peritumorózní pankreatitidy (155). Pro AIP 2. typu byla nozognostická přítomnost granulocytárních epiteloidních lézí.

Navzdory malému počtu pacientů jsme byli schopni identifikovat tři významné rozdíly mezi pacienty s AIP bez KP a pacienty s koincidencí onemocnění, z nichž dva byly statisticky významné. Signifikantně vyšší věk pacientů s AIP a KP lze vzhledem k předpokládanému mechanismu vzniku (dlouhodobý zánětlivý proces) očekávat a je v souladu s popisovaným výskytem KP jako pozdní komplikace chronické pankreatitidy jiné etiologie či kolorektálního karcinomu jako komplikace ulcerózní kolitidy. Zajímavé je vyšší zastoupení recentně zjištěného diabetu u pacientů s AIP a KP při jeho téměř absenci ve skupině AIP. Literárně se diabetes mellitus může vyskytnout u 42-78% pacientů s akutním vzplanutím AIP, nicméně přetrvává pouze u 10% po jeho залéčení kortikoidy (158). V našem souboru byl recentně zjištěný diabetes přítomný pouze u 11% pacientů s AIP bez KP. Nově zjištěný diabetes mellitus jako příznak karcinomu pankreatu byl bohatě doložen v řadě studií [24], jeho užití v diferenciální diagnostice karcinomu a chronické pankreatitidy však bylo doposud obtížné, neboť je častou komplikací pokročilé pankreatitidy jiné než autoimunitní etiologie.

V našem souboru jsme zaznamenali váhový úbytek pouze u šesti pacientů s AIP bez KP (67%) ve srovnání se skupinou s KP, kde byl váhový úbytek přítomen u všech pacientů. Ztráta hmotnosti byla navíc signifikantně vyšší, než tomu bylo u pacientů bez nádoru (15.5 kg vs 8.5 kg, $p = 0,03$). Pankreatická exokrinní insuficience a následný úbytek tělesné

hmotnosti není u pacientů s AIP neobvyklý (159), nicméně výrazný váhový úbytek měl vzbudit podezření na možnou přítomnost karcinomu pankreatu.

Vztah mezi AIP a karcinomem pankreatu byl doposud zcela nejasný. Existuje pouze několik málo kazuistik koincidence těchto dvou onemocnění. Naše pozorování a potažmo i souvislost mezi onemocněními může mít trojí vysvětlení:

Ad I

AIP lze považovat za prekursor karcinomu pankreatu v důsledku chronického zánětu, který vede k akumulaci mutací a v průběhu času k rozvoji nádoru. Chronická pankreatitida jako taková je rizikovým faktorem karcinomu pankreatu, třináctinásobně zvyšujícím riziko rozvoje onemocnění, a s 4% odhadovaným kumulativním rizikem (136, 160). Obdobná asociace u pacientů s AIP prozatím nebyla prokázána, nicméně existují práce, které tento předpoklad nepřímou podporují. Kupříkladu Gupta a kol. na základě retrospektivní analýzy resekátů pankreatů pacientů s AIP potvrdil minimálně stejnou či dokonce vyšší (byť ne signifikantně) prevalenci premaligních lézí (PanIN-1-2) v terénu AIP jako u pacientů s jinak nespecifikovanou chronickou pankreatitidou (161). Navíc zaznamenal rozvoj karcinomu pankreatu u dvou pacientů v prospektivně sledované (medián 49 měsíců) kohortě 84 pacientů s AIP. Pro asociaci AIP s karcinomem pankreatu svědčí i vysoká frekvence K-ras mutací v pankreatické tkáni u pacientů s AIP (162).

V prospektivně sledovaných kohortách pacientů s AIP byla prozatím zaznamenána vyšší prevalence karcinomu pankreatu pouze v jedné práci (163). Populační studie jsou ale vzhledem k nízkému výskytu onemocnění limitovány malým počtem pacientů a obvykle i kratší dobou sledování. Rovněž je nutno vzít v úvahu, že prospektivně sledovaní pacienti s AIP jsou na rozdíl od pacientů s nerozpoznanou AIP a od pacientů s jinou etiologií pankreatitidy adekvátně a kauzálně léčeni. Nabízí se, že potlačení zánětlivé aktivity může riziko rozvoje malignity snižovat, jak je tomu kupříkladu u idiopatických střevních zánětů (164). Zvýšený výskyt karcinomu pankreatu by se tedy nabízel zejména u pacientů neléčených, nebo nedostatečně reagujících na imunosupresivní léčbu. V takovém případě by pak bylo možné spekulovat, že jednou z indikací imunosupresivní léčby u AIP je prevence vzniku karcinomu pankreatu. Doba sledování pacientů je rovněž důležitý faktor. Vyvinou-li totiž pacienti s chronickou pankreatitidou jiné etiologie karcinom pankreatu, pak obvykle s odstupem jedné až dvou dekad od stanovení diagnózy chronické pankreatitidy (160). Existují pacienti, kteří léta stonají s nerozpoznanou AIP při absenci kardinálních symptomů (jako např. ikterus) nebo typických radiologických nálezů. Až třetina pacientů sledovaných s AIP

může vyvinout známky typické pro pokročilou chronickou pankreatitidu (atrofie parenchymu, kalcifikace, litiáza) (165, 166).

Ad II

Jedno z možných vysvětlení předpokládá AIP 1. typu jako paraneoplastický fenomén. Tato hypotéza je postavena na základě pozorování signifikantně vyšší incidence malignit v průběhu prvního roku od stanovení diagnózy IgG4 sklerozujícího systémového onemocnění v porovnání s následujícími roky (167, 168). Nepoznaná malignita může alterovat buněčnou imunologickou odpověď a tím vytvořit prozánětlivé mikroprostředí umožňující rozvoj autoimunitního onemocnění; v tomto případě AIP 1. typu nebo některého z jiných IgG4 asociovaných onemocnění. Tyto pozorování Japonských autorů nebyla doposud podpořena západními studii (169, 170).

Ad III

Je nutné připustit, že žádná příčinná souvislost neexistuje a může se tudíž jednat o náhodný úkaz u malé skupiny pacientů.

K objasnění vztahu mezi autoimunitní pankreatitidou a karcinomem pankreatu jsme provedli systematické review, jehož cílem bylo definovat všechny publikované případy současného výskytu těchto dvou nemocí. Vzhledem k výše uvedeným hypotézám jsme se soustředili na interval mezi diagnózou AIP a karcinomu pankreatu, u fokální formy AIP pak lokalizaci karcinomu. V literatuře bylo popsáno celkem 45 případů koincidence těchto nemocí, analyzováno bylo 33 z nich (5 bylo vyřazeno pro podezření na duplicitu a 7 pro nedostatek informací o případech).

Koincidence onemocnění byla synchronní v 11 případech, z 22 případů metachronního výskytu byl karcinom diagnostikován s odstupem dvou a více let u 86% pacientů. Karcinom vyvstal v části žlázy postižené autoimunitním procesem v 70% případů. Toto zjištění je v rozporu s hypotézou o paraneoplastickým fenoménu, kde by byl maximální výskyt karcinomu očekáván do dvou let od stanovení diagnózy AIP.

Při analýze incidence karcinomu pankreatu v longitudinálních studiích jsme zaznamenali 21 případů karcinomu pankreatu u 989 pacientů (při odstranění studií s možnou duplicitou pacientů), tzn. u 2,1% pacientů sledovaných s AIP, při střední době sledování 57 měsíců. Jelikož se nejedná o case-control analýzy, nelze přímo na jejich základě usuzovat na vyšší riziko karcinomu pankreatu u pacientů s AIP v porovnání s obecnou populací. Zaznamenaná incidence ale byla vyšší než u pacientů s jinou chronickou pankreatitidou (2,1%

při 57 měsících sledování vs. 1,1% při 5 letech (55) a 1,8% při 10 letech trvání nemoci (136)), přičemž chronická pankreatitida je známým rizikovým faktorem karcinomu pankreatu.

Na základě výše uvedeného naše výsledky nepřímo podporují hypotézu o AIP jako rizikovém faktoru karcinomu pankreatu cestou chronického zánětu (incidence karcinomu je obdobná až vyšší jako u jiné chronické pankreatitidy, většina nádorů byla zaznamenána po dvou a více letech sledování a karcinom pankreatu byl většinou lokalizován v části žlázy postižené autoimunitním procesem).

K definitivnímu vysvětlení vztahu mezi autoimunitní pankreatitidou a karcinomem pankreatu je ale nezbytná robustní studie případů a kontrol zohledňující mj. i aktivitu nemoci a eliminující zavádějící faktory jako je kouření, konzumace alkoholu a přítomnost diabetu u všech sledovaných případů a kontrol.

Společná genetická predispozice chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu

Karcinom pankreatu a chronická pankreatitida sdílejí několik rizikových faktorů, jako je například kouření tabáku nebo nadužívání alkoholu. Méně je ale známo o jakémkoli možném vztahu mezi rizikovými alelami těchto dvou onemocnění. Navíc se sama CHP považuje za rizikový faktor pro KP. Vzhledem k nezbytnosti identifikace nových markrů genetické susceptibilitu ke KP jsme zkoumali, zda jsou rizikové alely pro CHP identifikované celogenomovou asociační studií (GWAS) rovněž rizikovými alelami pro rozvoj KP. Spojení CHP a KP z genetického hlediska by bylo mimořádně užitečným nástrojem pro identifikaci pacientů s CHP, kteří jsou ve zvýšeném riziku vzniku KP. Vybrali jsme 5 SNPs, které byly studovány a validovány u pacientů s CHP a testovali jsme je v rozsáhlé case-control studii v kontextu mezinárodního PANDORA konsorcia.

Naše výsledky nenaznačují významný vliv těchto 5 vybraných SNPs na susceptibilitu k rozvoji KP, i když u jedné z variant, PRSS1-PRSS2-rs10273639, byla pozorována tendence ke zvýšení rizika u nosičů minor alely ($p = 0,023$). Taky jsme použili relativně malou skupinu pacientů s CHP k testování asociace v naší populaci, přičemž jsme pozorovali statisticky signifikantní asociace pro všechny SNPs s výjimkou KIAA1462-MTPAP-rs2995271. U všech polymorfizmů byla riziková alela stejná jako ta, která byla identifikována v původní publikaci. Tím jsme potvrdili vliv vybraných variant na susceptibilitu k CHP. U varianty KIAA1462-MTPAP-rs2995271 je nejpravděpodobnější příčinou naší neschopnosti replikovat výsledky nedostatek statistické síly (<76%) při relativně malém počtu pacientů s CHP zařazených do studie.

Asociace mezi PRSS1-PRSS2-rs10273639 a rizikem KP je zajímavá vzhledem k významu genu ve fyziologii a funkci pankreatu. Geny PRSS1/2 kódují kationický a anionický trypsinogen, trávicí enzymy produkované acinárními buňkami pankreatu. Předčasná aktivace těchto enzymů zvyšuje riziko rozvoje pankreatitidy. Na tomto lokusu bylo identifikováno několik genetických variant s nízkou a vysokou penetrancí, zvyšujících nebo snižujících susceptibilitu k rozvoji CHP (171-175). Obecným konsenzem je, že získání funkčních mutací a polymorfizmů toto riziko zvyšují a naopak ztrátové riziko snižují. U minor alely varianty identifikované GWAS se předpokládá snížení produkce trypsinogenu, což koreluje s výsledky naší studie i původní GWAS, kde snižuje riziko rozvoje CHP. Vliv přítomnosti této SNP na KP se ale jeví být opačný, a sice že minor alela zvyšuje riziko rozvoje KP. Toto zjištění je obtížné vysvětlit, nicméně obdobné výsledky byly pozorovány i u zbylých SNPs, které se jeví mít, byť ne signifikantně, opačný efekt na susceptibilitu ke KP a CHP. To by mohlo naznačovat různé mechanismy v etiologii těchto dvou onemocnění. Vysvětlením těchto výsledků by ale jednoduše mohli být i statistické fluktuace, které jsou vlastní vrtošivé povaze genetických asociací. Navíc, po aplikaci korekční procedury pro násobné testování Bonferroniho metodou již není tato asociace statisticky signifikantní.

V recentní GWAS identifikoval Weiss a kol. fukosyltransferázu 2 (FUT2) a ABO krevní skupinu jako potenciální rizikový faktor pro CHP (176). Rozhodli jsme se ale negenotypovat tyto SNP v případech KP a kontrol, protože ABO je dobře známý rizikový lokus (177-180) a polymorfismus FUT2 se nejeví mít významnější roli v etiologii KP (180).

Zjevnou silou této studie je velikost souboru. S téměř 3000 případy a 5000 kontrolami se řadí mezi největší práce zaměřené na susceptibilitu ke KP. Vzhledem k OR a frekvenci minor alel v původním GWAS jsme měli víc než 93% sílu k detekci asociací rizikových lokusů asociovaných s CHP u KP s alfa nastavením na 0,01 k umožnění vícečetného srovnání. Omezením studie je absence klinické charakteristiky pacientů s CHP, jelikož nejsou dostupné informace o etiologii jejich pankreatitidy. Vybrané SNP ale byly v naší studii u pacientů s CHP replikovány, což zdůrazňuje význam těchto lokusů v patogenezi onemocnění. Další limitací je fakt, že jsme do studie nezařadili vzácné varianty *SPINK*, *CFTR* a *CTRC*, které jsou asociovány s vysokou penetrancí k riziku rozvoje CHP. Tudíž nemůžeme vyloučit, že se mohou podílet na riziku vzniku KP.

Závěrem jsme potvrdili význam rs379742, rs10273639, rs2995271 a rs12688220 (ačkoli použitím rs12837024 jako proxy) v susceptibilitě vzniku CHP a dokázali jsme vyloučit významné překrytí běžných (tzn. lokusů s vysokou frekvencí v běžné populaci) rizikových lokusů (bez ohledu na ABO) mezi KP a CHP.

ZÁVĚRY

Vztah autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu

V retrospektivní studii jsme jako jedni z prvních na světě popsali výskyt karcinomu pankreatu u pacientů s autoimunitní pankreatitidou a jako prozatím jediní jsme definovali charakteristiku těchto pacientů. Možná koincidence onemocnění s velmi podobnou klinickou manifestací dramaticky mění zažité diagnostické postupy. K posouzení asociace těchto onemocnění jsme provedli systematické review, kde jsme identifikovali všechny publikované případy koincidence karcinomu pankreatu a autoimunitní pankreatitidy. Většina metachronních karcinomů vznikla v odstupu delším než dva roky od stanovení diagnózy autoimunitní pankreatitidy a většina nádorů vyvstala v části žlázy postižené zánětem, což je v kontradikci s paraneoplastickou hypotézou. Naopak, incidence karcinomu pankreatu v populaci pacientů s autoimunitní pankreatitidou byla obdobná jako u pacientů s chronickou pankreatitidou jiné etiologie. Na základě těchto znalostí lze usuzovat na autoimunitní pankreatitidu jako rizikový faktor karcinomu pankreatu.

Společná genetická predispozice chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu

K posouzení možné společné genetické susceptibility chronické pankreatitidy a karcinomu pankreatu jsme provedli case-control analýzu 5 vybraných (známých) rizikových lokusů pro chronickou pankreatitidu u pacientů s chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu. U 4 z 5 studovaných variant jsme potvrdili jejich význam v susceptibilitě vzniku chronické pankreatitidy a dokázali jsme vyloučit významné překrytí běžných (tzn. lokusů s vysokou frekvencí v běžné populaci) rizikových lokusů mezi chronickou pankreatitidou a karcinomem pankreatu.

REFERENCE

1. Lin Y, Tamakoshi A, Matsuno S, Takeda K, Hayakawa T, Kitagawa M, et al. Nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol.* 2000;35(2):136-41.
2. Tinto A, Lloyd DA, Kang JY, Majeed A, Ellis C, Williamson RC, et al. Acute and chronic pancreatitis--diseases on the rise: a study of hospital admissions in England 1989/90-1999/2000. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(12):2097-105.
3. Dite P, Stary K, Novotny I, Precechtelova M, Dolina J, Lata J, et al. Incidence of chronic pancreatitis in the Czech Republic. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001;13(6):749-50.
4. Rinderknecht H, Stace NH, Renner IG. Effects of chronic alcohol abuse on exocrine pancreatic secretion in man. *Dig Dis Sci.* 1985;30(1):65-71.
5. Liu JH, Wang ZX. Kinetic analysis of ligand-induced autocatalytic reactions. *Biochem J.* 2004;379(Pt 3):697-702.
6. Bennett WS, Huber R. Structural and functional aspects of domain motions in proteins. *CRC Crit Rev Biochem.* 1984;15(4):291-384.
7. Nemoda Z, Sahin-Toth M. The tetra-aspartate motif in the activation peptide of human cationic trypsinogen is essential for autoactivation control but not for enteropeptidase recognition. *J Biol Chem.* 2005;280(33):29645-52.
8. Nair S, Yadav D, Pitchumoni CS. Association of diabetic ketoacidosis and acute pancreatitis: observations in 100 consecutive episodes of DKA. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(10):2795-800.
9. Lerch MM, Gorelick FS. Early trypsinogen activation in acute pancreatitis. *Med Clin North Am.* 2000;84(3):549-63, viii.
10. Szmola R, Sahin-Toth M. Chymotrypsin C (caldecrin) promotes degradation of human cationic trypsin: identity with Rinderknecht's enzyme Y. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(27):11227-32.
11. Beer S, Zhou J, Szabo A, Keiles S, Chandak GR, Witt H, et al. Comprehensive functional analysis of chymotrypsin C (CTRC) variants reveals distinct loss-of-function mechanisms associated with pancreatitis risk. *Gut.* 2013;62(11):1616-24.
12. Whitcomb DC, Lowe ME. Human pancreatic digestive enzymes. *Dig Dis Sci.* 2007;52(1):1-17.

13. Laskowski M, Wu FC. Temporary inhibition of trypsin. *J Biol Chem.* 1953;204(2):797-805.
14. Steward MC, Ishiguro H. Molecular and cellular regulation of pancreatic duct cell function. *Curr Opin Gastroenterol.* 2009;25(5):447-53.
15. Schneider A, Lohr JM, Singer MV. The M-ANNHEIM classification of chronic pancreatitis: introduction of a unifying classification system based on a review of previous classifications of the disease. *J Gastroenterol.* 2007;42(2):101-19.
16. Sarner M, Cotton PB. Classification of pancreatitis. *Gut.* 1984;25(7):756-9.
17. Etemad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology.* 2001;120(3):682-707.
18. Frulloni L, Gabbriellini A, Pezzilli R, Zerbi A, Cavestro GM, Marotta F, et al. Chronic pancreatitis: report from a multicenter Italian survey (PanCroInfAISP) on 893 patients. *Dig Liver Dis.* 2009;41(4):311-7.
19. Whitcomb DC, Yadav D, Adam S, Hawes RH, Brand RE, Anderson MA, et al. Multicenter approach to recurrent acute and chronic pancreatitis in the United States: the North American Pancreatitis Study 2 (NAPS2). *Pancreatol.* 2008;8(4-5):520-31.
20. Peter M. Etiopatogeneze chronické pankreatitidy. *Gastroent Hepatol.* 2013;67(4):275-88.
21. Yadav D, Hawes RH, Brand RE, Anderson MA, Money ME, Banks PA, et al. Alcohol consumption, cigarette smoking, and the risk of recurrent acute and chronic pancreatitis. *Arch Intern Med.* 2009;169(11):1035-45.
22. Kristiansen L, Gronbaek M, Becker U, Tolstrup JS. Risk of pancreatitis according to alcohol drinking habits: a population-based cohort study. *Am J Epidemiol.* 2008;168(8):932-7.
23. Irving HM, Samokhvalov AV, Rehm J. Alcohol as a risk factor for pancreatitis. A systematic review and meta-analysis. *JOP.* 2009;10(4):387-92.
24. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A, Arico S. Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions: a meta-analysis. *Addiction.* 1999;94(10):1551-73.
25. Lankisch PG, Lowenfels AB, Maisonneuve P. What is the risk of alcoholic pancreatitis in heavy drinkers? *Pancreas.* 2002;25(4):411-2.
26. Yadav D, Eigenbrodt ML, Briggs MJ, Williams DK, Wiseman EJ. Pancreatitis: prevalence and risk factors among male veterans in a detoxification program. *Pancreas.* 2007;34(4):390-8.

27. Deng X, Wang L, Elm MS, Gabazadeh D, Diorio GJ, Eagon PK, et al. Chronic alcohol consumption accelerates fibrosis in response to cerulein-induced pancreatitis in rats. *Am J Pathol.* 2005;166(1):93-106.
28. Singh M, LaSure MM, Bockman DE. Pancreatic acinar cell function and morphology in rats chronically fed an ethanol diet. *Gastroenterology.* 1982;82(3):425-34.
29. Witt H, Luck W, Becker M, Bohmig M, Kage A, Truninger K, et al. Mutation in the SPINK1 trypsin inhibitor gene, alcohol use, and chronic pancreatitis. *JAMA.* 2001;285(21):2716-7.
30. Rosendahl J, Witt H, Szmola R, Bhatia E, Ozsvari B, Landt O, et al. Chymotrypsin C (CTRC) variants that diminish activity or secretion are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet.* 2008;40(1):78-82.
31. Apte MV, Wilson JS, McCaughan GW, Korsten MA, Haber PS, Norton ID, et al. Ethanol-induced alterations in messenger RNA levels correlate with glandular content of pancreatic enzymes. *J Lab Clin Med.* 1995;125(5):634-40.
32. Haber PS, Wilson JS, Apte MV, Korsten MA, Pirola RC. Chronic ethanol consumption increases the fragility of rat pancreatic zymogen granules. *Gut.* 1994;35(10):1474-8.
33. Apte MV, Phillips PA, Fahmy RG, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, et al. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology.* 2000;118(4):780-94.
34. Pandol SJ, Raraty M. Pathobiology of alcoholic pancreatitis. *Pancreatology.* 2007;7(2-3):105-14.
35. Talamini G, Bassi C, Falconi M, Frulloni L, Di Francesco V, Vaona B, et al. Cigarette smoking: an independent risk factor in alcoholic pancreatitis. *Pancreas.* 1996;12(2):131-7.
36. Chowdhury P, Bone RC, Louria DB, Rayford PL. Effect of cigarette smoke on human serum trypsin inhibitory capacity and antitrypsin concentration. *Am Rev Respir Dis.* 1982;126(1):177-9.
37. Bynum TE, Solomon TE, Johnson LR, Jacobson ED. Inhibition of pancreatic secretion in man by cigarette smoking. *Gut.* 1972;13(5):361-5.
38. Crowley-Weber CL, Dvorakova K, Crowley C, Bernstein H, Bernstein C, Garewal H, et al. Nicotine increases oxidative stress, activates NF-kappaB and GRP78, induces apoptosis and sensitizes cells to genotoxic/xenobiotic stresses by a multiple stress inducer, deoxycholate: relevance to colon carcinogenesis. *Chem Biol Interact.* 2003;145(1):53-66.

39. Cavallini G, Talamini G, Vaona B, Bovo P, Filippini M, Rigo L, et al. Effect of alcohol and smoking on pancreatic lithogenesis in the course of chronic pancreatitis. *Pancreas*. 1994;9(1):42-6.
40. Tolstrup JS, Kristiansen L, Becker U, Gronbaek M. Smoking and risk of acute and chronic pancreatitis among women and men: a population-based cohort study. *Arch Intern Med*. 2009;169(6):603-9.
41. Lindkvist B, Appelros S, Manjer J, Berglund G, Borgstrom A. A prospective cohort study of smoking in acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2008;8(1):63-70.
42. Stevens T, Conwell DL, Zuccaro G. Pathogenesis of chronic pancreatitis: an evidence-based review of past theories and recent developments. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(11):2256-70.
43. Howes N, Lerch MM, Greenhalf W, Stocken DD, Ellis I, Simon P, et al. Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(3):252-61.
44. Rebours V, Boutron-Ruault MC, Schnee M, Ferec C, Le Marechal C, Hentic O, et al. The natural history of hereditary pancreatitis: a national series. *Gut*. 2009;58(1):97-103.
45. Joergensen MT, Brusgaard K, Cruger DG, Gerdes AM, Schaffalitzky de Muckadell OB. Genetic, epidemiological, and clinical aspects of hereditary pancreatitis: a population-based cohort study in Denmark. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(8):1876-83.
46. Sahin-Toth M, Toth M. Gain-of-function mutations associated with hereditary pancreatitis enhance autoactivation of human cationic trypsinogen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;278(2):286-9.
47. Teich N, Rosendahl J, Toth M, Mossner J, Sahin-Toth M. Mutations of human cationic trypsinogen (PRSS1) and chronic pancreatitis. *Hum Mutat*. 2006;27(8):721-30.
48. Teich N, Le Marechal C, Kukor Z, Caca K, Witzigmann H, Chen JM, et al. Interaction between trypsinogen isoforms in genetically determined pancreatitis: mutation E79K in cationic trypsin (PRSS1) causes increased transactivation of anionic trypsinogen (PRSS2). *Hum Mutat*. 2004;23(1):22-31.
49. Kereszturi E, Szmola R, Kukor Z, Simon P, Weiss FU, Lerch MM, et al. Hereditary pancreatitis caused by mutation-induced misfolding of human cationic trypsinogen: a novel disease mechanism. *Hum Mutat*. 2009;30(4):575-82.
50. Nemoda Z, Sahin-Toth M. Chymotrypsin C (caldecrin) stimulates autoactivation of human cationic trypsinogen. *J Biol Chem*. 2006;281(17):11879-86.

51. Whitcomb DC. Genetic predisposition to alcoholic chronic pancreatitis. *Pancreas*. 2003;27(4):321-6.
52. Witt H, Luck W, Becker M. A signal peptide cleavage site mutation in the cationic trypsinogen gene is strongly associated with chronic pancreatitis. *Gastroenterology*. 1999;117(1):7-10.
53. Masson E, Le Marechal C, Chandak GR, Lamoril J, Bezieau S, Mahurkar S, et al. Trypsinogen copy number mutations in patients with idiopathic chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6(1):82-8.
54. Lowenfels AB, Maisonneuve P, DiMagno EP, Elitsur Y, Gates LK, Jr., Perrault J, et al. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(6):442-6.
55. Malka D, Hammel P, Maire F, Rufat P, Madeira I, Pessione F, et al. Risk of pancreatic adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut*. 2002;51(6):849-52.
56. Witt H, Sahin-Toth M, Landt O, Chen JM, Kahne T, Drenth JP, et al. A degradation-sensitive anionic trypsinogen (PRSS2) variant protects against chronic pancreatitis. *Nat Genet*. 2006;38(6):668-73.
57. Witt H, Luck W, Hennies HC, Classen M, Kage A, Lass U, et al. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet*. 2000;25(2):213-6.
58. Ohmuraya M, Hirota M, Araki M, Mizushima N, Matsui M, Mizumoto T, et al. Autophagic cell death of pancreatic acinar cells in serine protease inhibitor Kazal type 3-deficient mice. *Gastroenterology*. 2005;129(2):696-705.
59. Yadav D, Timmons L, Benson JT, Dierkhising RA, Chari ST. Incidence, prevalence, and survival of chronic pancreatitis: a population-based study. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(12):2192-9.
60. Threadgold J, Greenhalf W, Ellis I, Howes N, Lerch MM, Simon P, et al. The N34S mutation of SPINK1 (PSTI) is associated with a familial pattern of idiopathic chronic pancreatitis but does not cause the disease. *Gut*. 2002;50(5):675-81.
61. Whitcomb DC. Genetic risk factors for pancreatic disorders. *Gastroenterology*. 2013;144(6):1292-302.
62. Kuwata K, Hirota M, Shimizu H, Nakae M, Nishihara S, Takimoto A, et al. Functional analysis of recombinant pancreatic secretory trypsin inhibitor protein with amino-acid substitution. *J Gastroenterol*. 2002;37(11):928-34.

63. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med.* 1998;339(10):653-8.
64. Sharer N, Schwarz M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med.* 1998;339(10):645-52.
65. Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, Derichs N, Dodge J, Girodon E, et al. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros.* 2011;10 Suppl 2:S86-102.
66. Chen JM, Ferec C. Genetics and pathogenesis of chronic pancreatitis: the 2012 update. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2012;36(4):334-40.
67. LaRusch J, Whitcomb DC. Genetics of pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2011;27(5):467-74.
68. Felderbauer P, Klein W, Bulut K, Ansorge N, Dekomien G, Werner I, et al. Mutations in the calcium-sensing receptor: a new genetic risk factor for chronic pancreatitis? *Scand J Gastroenterol.* 2006;41(3):343-8.
69. Muddana V, Lamb J, Greer JB, Elinoff B, Hawes RH, Cotton PB, et al. Association between calcium sensing receptor gene polymorphisms and chronic pancreatitis in a US population: role of serine protease inhibitor Kazal 1 type and alcohol. *World J Gastroenterol.* 2008;14(28):4486-91.
70. Chen JM, Ferec C. Chronic pancreatitis: genetics and pathogenesis. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2009;10:63-87.
71. Spicak J, Pulkertova A, Kralova-Lesna I, Suchanek P, Vitaskova M, Adamkova V. Alcoholic chronic pancreatitis and liver cirrhosis: coincidence and differences in lifestyle. *Pancreatology.* 2012;12(4):311-6.
72. Lohr JM, Dominguez-Munoz E, Rosendahl J, Besselink M, Mayerle J, Lerch MM, et al. United European Gastroenterology evidence-based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis (HaPanEU). *United European Gastroenterol J.* 2017;5(2):153-99.
73. Sarles H, Sarles JC, Camatte R, Muratore R, Gaini M, Guien C, et al. Observations on 205 confirmed cases of acute pancreatitis, recurring pancreatitis, and chronic pancreatitis. *Gut.* 1965;6(6):545-59.

74. Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality. Proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 1995;40(7):1561-8.
75. Nishimori I, Tamakoshi A, Otsuki M, Research Committee on Intractable Diseases of the Pancreas MoHL, Welfare of J. Prevalence of autoimmune pancreatitis in Japan from a nationwide survey in 2002. *J Gastroenterol.* 2007;42 Suppl 18:6-8.
76. Kanno A, Nishimori I, Masamune A, Kikuta K, Hirota M, Kuriyama S, et al. Nationwide epidemiological survey of autoimmune pancreatitis in Japan. *Pancreas.* 2012;41(6):835-9.
77. Pickartz T, Mayerle J, Lerch MM. Autoimmune pancreatitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2007;4(6):314-23.
78. Hart PA, Kamisawa T, Brugge WR, Chung JB, Culver EL, Czako L, et al. Long-term outcomes of autoimmune pancreatitis: a multicentre, international analysis. *Gut.* 2013;62(12):1771-6.
79. Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Naruse S, Tanaka S, Nishimori I, et al. Clinical diagnostic criteria of autoimmune pancreatitis: revised proposal. *J Gastroenterol.* 2006;41(7):626-31.
80. Kim KP, Kim MH, Kim JC, Lee SS, Seo DW, Lee SK. Diagnostic criteria for autoimmune chronic pancreatitis revisited. *World J Gastroenterol.* 2006;12(16):2487-96.
81. Chari ST, Smyrk TC, Levy MJ, Topazian MD, Takahashi N, Zhang L, et al. Diagnosis of autoimmune pancreatitis: the Mayo Clinic experience. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(8):1010-6; quiz 934.
82. Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L, Kamisawa T, Kawa S, Mino-Kenudson M, et al. International consensus diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: guidelines of the International Association of Pancreatology. *Pancreas.* 2011;40(3):352-8.
83. Sugumar A, Chari S. Autoimmune pancreatitis: an update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009;3(2):197-204.
84. Clark CJ, Morales-Oyarvide V, Zaydfudim V, Stauffer J, Deshpande V, Smyrk TC, et al. Short-term and long-term outcomes for patients with autoimmune pancreatitis after pancreatectomy: a multi-institutional study. *J Gastrointest Surg.* 2013;17(5):899-906.
85. Boerma D, Straatsburg IH, Offerhaus GJ, Gouma DJ, van Gulik TM. Experimental model of obstructive, chronic pancreatitis in pigs. *Dig Surg.* 2003;20(6):520-6.
86. Madsen P, Winkler K. The intraductal pancreatic pressure in chronic obstructive pancreatitis. *Scand J Gastroenterol.* 1982;17(4):553-4.

87. Reber HA, Karanjia ND, Alvarez C, Widdison AL, Leung FW, Ashley SW, et al. Pancreatic blood flow in cats with chronic pancreatitis. *Gastroenterology*. 1992;103(2):652-9.
88. Sahel J, Sarles H. Modifications of pure human pancreatic juice induced by chronic alcohol consumption. *Dig Dis Sci*. 1979;24(12):897-905.
89. Bockman DE, Kennedy RH, Multigner L, DeCaro A, Sarles H. Fine structure of the organic matrix of human pancreatic stones. *Pancreas*. 1986;1(3):204-10.
90. Multigner L, De Caro A, Lombardo D, Campese D, Sarles H. Pancreatic stone protein, a phosphoprotein which inhibits calcium carbonate precipitation from human pancreatic juice. *Biochem Biophys Res Commun*. 1983;110(1):69-74.
91. Multigner L, Sarles H, Lombardo D, De Caro A. Pancreatic stone protein. II. Implication in stone formation during the course of chronic calcifying pancreatitis. *Gastroenterology*. 1985;89(2):387-91.
92. Bimmler D, Graf R, Scheele GA, Frick TW. Pancreatic stone protein (lithostathine), a physiologically relevant pancreatic calcium carbonate crystal inhibitor? *J Biol Chem*. 1997;272(5):3073-82.
93. Mahurkar S, Bhaskar S, Reddy DN, Rao GV, Chandak GR. Comprehensive screening for reg1alpha gene rules out association with tropical calcific pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2007;13(44):5938-43.
94. Hawrami K, Mohan V, Bone A, Hitman GA. Analysis of islet regenerating (reg) gene polymorphisms in fibrocalculous pancreatic diabetes. *Pancreas*. 1997;14(2):122-5.
95. Kloppel G, Maillet B. The morphological basis for the evolution of acute pancreatitis into chronic pancreatitis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992;420(1):1-4.
96. Bordalo O, Goncalves D, Noronha M, Cristina ML, Salgado A, Dreiling DA. Newer concept for the pathogenesis of chronic alcoholic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 1977;68(3):278-85.
97. Braganza JM. Pancreatic disease: a casualty of hepatic "detoxification"? *Lancet*. 1983;2(8357):1000-3.
98. Schneider A, Whitcomb DC. Hereditary pancreatitis: a model for inflammatory diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002;16(3):347-63.
99. Watari N, Hotta Y, Mabuchi Y. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration. *Okajimas Folia Anat Jpn*. 1982;58(4-6):837-58.
100. Ikejiri N. The vitamin A-storing cells in the human and rat pancreas. *Kurume Med J*. 1990;37(2):67-81.

101. Bachem MG, Schneider E, Gross H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology*. 1998;115(2):421-32.
102. Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, et al. Peri-acinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut*. 1998;43(1):128-33.
103. Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Battle-scarred pancreas: role of alcohol and pancreatic stellate cells in pancreatic fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21 Suppl 3:S97-S101.
104. Yokota T, Denham W, Murayama K, Pelham C, Joehl R, Bell RH, Jr. Pancreatic stellate cell activation and MMP production in experimental pancreatic fibrosis. *J Surg Res*. 2002;104(2):106-11.
105. Menke A, Yamaguchi H, Gress TM, Adler G. Extracellular matrix is reduced by inhibition of transforming growth factor beta1 in pancreatitis in the rat. *Gastroenterology*. 1997;113(1):295-303.
106. Woessner JF, Jr. The family of matrix metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci*. 1994;732:11-21.
107. Ishihara T, Hayasaka A, Yamaguchi T, Kondo F, Saisho H. Immunohistochemical study of transforming growth factor-beta 1, matrix metalloproteinase-2,9, tissue inhibitors of metalloproteinase-1,2, and basement membrane components at pancreatic ducts in chronic pancreatitis. *Pancreas*. 1998;17(4):412-8.
108. Phillips PA, McCarroll JA, Park S, Wu MJ, Pirola R, Korsten M, et al. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover. *Gut*. 2003;52(2):275-82.
109. Hucl T. Karcinom pankreatu. *Gastroent Hepatol*. 2012;66(5):350-6.
110. Lowenfels AB, Maisonneuve P. Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2006;20(2):197-209.
111. Ságlová A ŠJ, Hucl T. Karcinom pankreatu: Molekulární biologie a časná diagnostika. *Prak Léč*. 2010(90):489-93.
112. Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009;6(12):699-708.
113. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Timmons LJ, Ransom J, de Andrade M, et al. Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology*. 2008;134(1):95-101.

114. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell*. 1988;53(4):549-54.
115. Caldas C, Hahn SA, da Costa LT, Redston MS, Schutte M, Seymour AB, et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet*. 1994;8(1):27-32.
116. Schutte M, Hruban RH, Geradts J, Maynard R, Hilgers W, Rabindran SK, et al. Abrogation of the Rb/p16 tumor-suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas. *Cancer Res*. 1997;57(15):3126-30.
117. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, Moskaluk CA, da Costa LT, Rozenblum E, et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science*. 1996;271(5247):350-3.
118. Goggins M, Shekher M, Turnacioglu K, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE. Genetic alterations of the transforming growth factor beta receptor genes in pancreatic and biliary adenocarcinomas. *Cancer Res*. 1998;58(23):5329-32.
119. Hucl T. Molekulární patogeneze karcinomu pankreatu. *Čes a Slov Gastroent a Hepatol*. 2009;63(2):58–64.
120. Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science*. 2008;321(5897):1801-6.
121. Hucl T, Brody JR, Gallmeier E, Iacobuzio-Donahue CA, Farrance IK, Kern SE. High cancer-specific expression of mesothelin (MSLN) is attributable to an upstream enhancer containing a transcription enhancer factor dependent MCAT motif. *Cancer Res*. 2007;67(19):9055-65.
122. Zavoral M, Minarikova P, Zavada F, Salek C, Minarik M. Molecular biology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2011;17(24):2897-908.
123. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2011;378(9791):607-20.
124. Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D, et al. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*. 2009;324(5933):1457-61.
125. Zatloukalova P, Pjehova M, Babcanova S, Hupp TR, Vojtesek B. [The Role of PD-1/PD-L1 Signaling Pathway in Antitumor Immune Response]. *Klin Onkol*. 29 Suppl 4(Suppl 4):72-7.

126. Macherla S, Laks S, Naqash AR, Bulumulle A, Zervos E, Muzaffar M. Emerging Role of Immune Checkpoint Blockade in Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11).
127. Thomas AM, Santarsiero LM, Lutz ER, Armstrong TD, Chen YC, Huang LQ, et al. Mesothelin-specific CD8(+) T cell responses provide evidence of in vivo cross-priming by antigen-presenting cells in vaccinated pancreatic cancer patients. *J Exp Med.* 2004;200(3):297-306.
128. Kern SE, Shibata D. The fuzzy math of solid tumor stem cells: a perspective. *Cancer Res.* 2007;67(19):8985-8.
129. Hidalgo M, Maitra A. The hedgehog pathway and pancreatic cancer. *N Engl J Med.* 2009;361(21):2094-6.
130. Yachida S, Jones S, Bozic I, Antal T, Leary R, Fu B, et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature.* 2010;467(7319):1114-7.
131. Hruban RH, Adsay NV, Albores-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(5):579-86.
132. Hruban RH, Maitra A, Kern SE, Goggins M. Precursors to pancreatic cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* 2007;36(4):831-49, vi.
133. Canto MI, Goggins M, Hruban RH, Petersen GM, Giardiello FM, Yeo C, et al. Screening for early pancreatic neoplasia in high-risk individuals: a prospective controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(6):766-81; quiz 665.
134. European Study Group on Cystic Tumours of the P. European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms. *Gut.* 2018;67(5):789-804.
135. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008;454(7203):436-44.
136. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med.* 1993;328(20):1433-7.
137. Balakrishnan V, Unnikrishnan AG, Thomas V, Choudhuri G, Veeraraju P, Singh SP, et al. Chronic pancreatitis. A prospective nationwide study of 1,086 subjects from India. *JOP.* 2008;9(5):593-600.
138. Karlson BM, Ekblom A, Josefsson S, McLaughlin JK, Fraumeni JF, Jr., Nyren O. The risk of pancreatic cancer following pancreatitis: an association due to confounding? *Gastroenterology.* 1997;113(2):587-92.

139. Balakrishnan V, Nair P, Radhakrishnan L, Narayanan VA. Tropical pancreatitis - a distinct entity, or merely a type of chronic pancreatitis? *Indian J Gastroenterol.* 2006;25(2):74-81.
140. Augustine P, Ramesh H. Is tropical pancreatitis premalignant? *Am J Gastroenterol.* 1992;87(8):1005-8.
141. Chari ST, Mohan V, Pitchumoni CS, Viswanathan M, Madanagopalan N, Lowenfels AB. Risk of pancreatic carcinoma in tropical calcifying pancreatitis: an epidemiologic study. *Pancreas.* 1994;9(1):62-6.
142. Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology.* 2013;144(6):1252-61.
143. Duell EJ. Epidemiology and potential mechanisms of tobacco smoking and heavy alcohol consumption in pancreatic cancer. *Mol Carcinog.* 2012;51(1):40-52.
144. Kirkegaard J, Mortensen FV, Cronin-Fenton D. Chronic Pancreatitis and Pancreatic Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(9):1366-72.
145. Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. *Surg Oncol.* 2002;10(4):153-69.
146. Levac D, Colquhoun H, O'Brien KK. Scoping studies: advancing the methodology. *Implement Sci.* 2010;5:69.
147. Campa D, Rizzato C, Capurso G, Giese N, Funel N, Greenhalf W, et al. Genetic susceptibility to pancreatic cancer and its functional characterisation: the PANcreatic Disease ReseArch (PANDoRA) consortium. *Dig Liver Dis.* 2013;45(2):95-9.
148. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, Ferrari P, Norat T, Fahey M, et al. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutr.* 2002;5(6B):1113-24.
149. 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.
150. Bojkova M, Dite P, Dvorackova J, Novotny I, Floreanova K, Kianicka B, et al. Immunoglobulin G4, autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer. *Dig Dis.* 2015;33(1):86-90.
151. Sah RP, Chari ST, Pannala R, Sugumar A, Clain JE, Levy MJ, et al. Differences in clinical profile and relapse rate of type 1 versus type 2 autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology.* 2010;139(1):140-8; quiz e12-3.

152. Fukui T, Mitsuyama T, Takaoka M, Uchida K, Matsushita M, Okazaki K. Pancreatic cancer associated with autoimmune pancreatitis in remission. *Intern Med.* 2008;47(3):151-5.
153. Loos M, Esposito I, Hedderich DM, Ludwig L, Fingerle A, Friess H, et al. Autoimmune pancreatitis complicated by carcinoma of the pancreatobiliary system: A case report and review of the literature. *Pancreas.* 2011;40(1):151-4.
154. Chandrasegaram MD, Chiam SC, Nguyen NQ, Ruszkiewicz A, Chung A, Neo EL, et al. A case of pancreatic cancer in the setting of autoimmune pancreatitis with nondiagnostic serum markers. *Case Rep Surg.* 2013;2013:809023.
155. Dhall D, Suriawinata AA, Tang LH, Shia J, Klimstra DS. Use of immunohistochemistry for IgG4 in the distinction of autoimmune pancreatitis from peritumoral pancreatitis. *Hum Pathol.* 2010;41(5):643-52.
156. Deshpande V, Chiocca S, Finkelberg D, Selig MK, Mino-Kenudson M, Brugge WR, et al. Autoimmune pancreatitis: A systemic immune complex mediated disease. *American Journal of Surgical Pathology.* 2006;30(12):1537-45.
157. Zhang L, Notohara K, Levy MJ, Chari ST, Smyrk TC. IgG4-positive plasma cell infiltration in the diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Modern Pathology.* 2007;20(1):23-8.
158. Nishimori I, Tamakoshi A, Kawa S, Tanaka S, Takeuchi K, Kamisawa T, et al. Influence of steroid therapy on the course of diabetes mellitus in patients with autoimmune pancreatitis: findings from a nationwide survey in Japan. *Pancreas.* 2006;32(3):244-8.
159. Buijs J, Cahen DL, van Heerde MJ, Rauws EA, de Buy Wenniger LJ, Hansen BE, et al. The Long-Term Impact of Autoimmune Pancreatitis on Pancreatic Function, Quality of Life, and Life Expectancy. *Pancreas.* 2015;44(7):1065-71.
160. Raimondi S, Lowenfels AB, Morselli-Labate AM, Maisonneuve P, Pezzilli R. Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24(3):349-58.
161. Gupta R, Khosroshahi A, Shinagare S, Fernandez C, Ferrone C, Lauwers GY, et al. Does autoimmune pancreatitis increase the risk of pancreatic carcinoma?: A retrospective analysis of pancreatic resections. *Pancreas.* 2013;42(3):506-10.
162. Kamisawa T, Tsuruta K, Okamoto A, Horiguchi S, Hayashi Y, Yun X, et al. Frequent and significant K-ras mutation in the pancreas, the bile duct, and the gallbladder in autoimmune pancreatitis. *Pancreas.* 2009;38(8):890-5.
163. Ikeura T, Miyoshi H, Uchida K, Fukui T, Shimatani M, Fukui Y, et al. Relationship between autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer: a single-center experience.

Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology. 2014;14(5):373-9.

164. Velayos FS, Terdiman JP, Walsh JM. Effect of 5-aminosalicylate use on colorectal cancer and dysplasia risk: a systematic review and metaanalysis of observational studies. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(6):1345-53.

165. Maire F, Le Baleur Y, Rebours V, Vullierme MP, Couvelard A, Voitot H, et al. Outcome of patients with type 1 or 2 autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(1):151-6.

166. Maruyama M, Watanabe T, Kanai K, Oguchi T, Asano J, Ito T, et al. Autoimmune pancreatitis can develop into chronic pancreatitis. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:77.

167. Shiokawa M, Kodama Y, Yoshimura K, Kawanami C, Mimura J, Yamashita Y, et al. Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(4):610-7.

168. Asano J, Watanabe T, Oguchi T, Kanai K, Maruyama M, Ito T, et al. Association between immunoglobulin G4-related disease and malignancy within 12 years after diagnosis: An analysis after longterm followup. *Journal of Rheumatology.* 2015;42(11):2135-42.

169. Hart P, Dierkhising R, Law R, Smyrk T, Takahashi N, Chari S. Risk of pancreatic and extrapancreatic malignancy in autoimmune pancreatitis. *Pancreatology.* 2013;13(2):e31.

170. Huggett MT, Culver EL, Kumar M, Hurst JM, Rodriguez-Justo M, Chapman MH, et al. Type 1 autoimmune pancreatitis and IgG4-related sclerosing cholangitis is associated with extrapancreatic organ failure, malignancy, and mortality in a prospective UK cohort. *Am J Gastroenterol.* 2014;109(10):1675-83.

171. Larusch J, Whitcomb DC. Genetics of pancreatitis with a focus on the pancreatic ducts. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2012;58(4):299-308.

172. Whitcomb DC, LaRusch J, Krasinskas AM, Klei L, Smith JP, Brand RE, et al. Common genetic variants in the CLDN2 and PRSS1-PRSS2 loci alter risk for alcohol-related and sporadic pancreatitis. *Nat Genet.* 2012;44(12):1349-54.

173. Howes N, Greenhalf W, Stocken DD, Neoptolemos JP. Cationic trypsinogen mutations and pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2004;33(4):767-87.

174. Liu QC, Gao F, Ou QS, Zhuang ZH, Lin SR, Yang B, et al. Novel mutation and polymorphism of PRSS1 gene in the Chinese patients with hereditary pancreatitis and chronic pancreatitis. *Chin Med J (Engl).* 2008;121(2):108-11.

175. Weiss FU. Pancreatic cancer risk in hereditary pancreatitis. *Front Physiol.* 2014;5:70.

176. Weiss FU, Schurmann C, Guenther A, Ernst F, Teumer A, Mayerle J, et al. Fucosyltransferase 2 (FUT2) non-secretor status and blood group B are associated with elevated serum lipase activity in asymptomatic subjects, and an increased risk for chronic pancreatitis: a genetic association study. *Gut*. 2015;64(4):646-56.
177. Amundadottir L, Kraft P, Stolzenberg-Solomon RZ, Fuchs CS, Petersen GM, Arslan AA, et al. Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer. *Nat Genet*. 2009;41(9):986-90.
178. Rizzato C, Campa D, Giese N, Werner J, Rachakonda PS, Kumar R, et al. Pancreatic cancer susceptibility loci and their role in survival. *PLoS One*. 2011;6(11):e27921.
179. Rizzato C, Campa D, Pezzilli R, Soucek P, Greenhalf W, Capurso G, et al. ABO blood groups and pancreatic cancer risk and survival: results from the PANcreatic Disease ReseArch (PANDoRA) consortium. *Oncol Rep*. 2013;29(4):1637-44.
180. Wolpin BM, Rizzato C, Kraft P, Kooperberg C, Petersen GM, Wang Z, et al. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pancreatic cancer. *Nat Genet*. 2014;46(9):994-1000.

SEZNAM PŘÍLOH DISERTAČNÍ PRÁCE

Příloha č. 1: dotazník k případu pacienta se synchronní diagnózou autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu.

Příloha č. 2: dotazník k případu pacienta s metachronní diagnózou autoimunitní pankreatitidy a karcinomu pankreatu.

Příloha č. 3: 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(12):2185-2193. **IF 3.3**

Příloha č. 4: Campa D, Pastore M, Capurso G, et al. Do pancreatic cancer and chronic pancreatitis share the same genetic risk factors? A PANcreatic Disease ReseArch (PANDoRA) consortium investigation. *Int J Cancer.* 2017. **IF 7.36**