

FACTORII GENETICI ÎN PANCREATOLOGIA CONTEMPORANĂ

**Rodica Bugai - dr. șt. med., asist. univ.,
Ion Țîbîrnă - dr. hab. șt. med., prof. univ.
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
Departamentul Medicină Internă, Disciplina de medicină internă-semiologie
or. Chișinău, str. Ștefan cel Mare și Sfânt nr.165
tel. +373 687 62 166, +393 794 33 028
e-mail rodica.bugai @usmf.md., ion.tibirna@usmf.md**

Rezumat.

În ultimele decenii există dovezi tot mai mari care sugerează o predispoziție sau o bază genetică pentru majoritatea patologiilor pancreatice. Datorită localizării sale retroperitoneale, pancreasul este un organ relativ protejat de factorii de mediu direcți. Studiile recente demonstrează că pancreatita acută idiopatică și alcoolică, în special diferitele forme de pancreatită cronică, sunt adesea tulburări complexe care apar la persoanele sensibile cu factori de risc multipli, care contribuie la dezvoltarea bolii prin căi patologice activate de factorii de declanșare. Identificarea acestor factori și înțelegerea interacțiunii acestora vor contribui la elaborarea de noi măsuri pentru profilaxia și tratamentul tulburărilor pancreatice.

Cuvinte cheie: factori genetici, patologie pancreatică, tratament.

Summary. Genetic factors in contemporary pancreatology.

In recent decades there is growing evidence that suggests a predisposition or genetic basis for most pancreatic pathologies. Due to its retroperitoneal location pancreas is an relatively protected from direct environmental factors organ. Recent studies demonstrate that idiopathic and alcoholic acute pancreatitis, especially the various forms of chronic pancreatitis, are often complex disorders that occur in susceptible individuals with multiple risk factors, which contribute to disease development by pathological pathways activated by trigger factors. Identifying these factors and understanding their interaction will help to develop new measures for the prophylaxis and treatment of pancreatic disorders.

Key words: genetic factors, pancreatic pathology, treatment.

Резюме. Генетические факторы в современной панкреатологии.

В последние десятилетия все больше доказательств, указывающих на предрасположенность или генетиче-

скую основу для большинства патологий поджелудочной железы. В силу своего забрюшинного положения поджелудочная железа является относительно защищенным органом от прямого воздействия факторов окружающей среды. Недавние исследования показывают, что идиопатический и алкогольный панкреатит, особенно различные формы хронического панкреатита, часто являются сложными расстройствами, которые возникают у восприимчивых людей с множественными факторами риска, которые вместе способствуют развитию болезни через различные патологические пути, вызванные факторами запуска. Выявление этих факторов и понимание их взаимодействия помогут разработать новые меры по профилактике и лечению заболеваний поджелудочной железы.

Ключевые слова: генетические факторы, патология поджелудочной железы, лечение.

Afecțiunile pancreasului sunt patologii multifactoriale, cu un impact sever asupra calității vieții pacienților și o rată înaltă de deces. În ultimele decenii există tot mai multe dovezi, care sugerează o predispoziție sau o bază genetică pentru majoritatea patologiilor pancreasului. În virtutea localizării sale retroperitoneale, pancreasul este un organ relativ protejat de acțiunea directă a factorilor de mediu. Studiile recente demonstrează că pancreatita acută (PA) idiopatică și alcoolică, în special diferitele forme de pancreatită cronică (PC), sunt de cele mai multe ori tulburări complexe, care apar la persoanele susceptibile, cu factori de risc multipli, care, împreună, contribuie la dezvoltarea bolii prin căi patologice activate de factorii de declanșare. Depistarea acestor factori și înțelegerea interacțiunii dintre ei v-a contribui la elaborarea unor noi măsuri de profilaxie și tratament a afecțiunilor pancreatice.

Mutațiile genice joacă un rol important în susceptibilitatea față de agresiunile pancreatice, severitatea și evoluția procesului inflamator. Factorii de risc genetici, candidați în patogeniza pancreatitelor sunt: genele implicate în mecanismul intrapancreatic de reglare a tripsinei la nivelul celulelor acinare – gena tripsinogenului cationic (PRSS1), gena tripsinogenului anionic (PRSS2), gena inhibitorului pancreatic de tripsină (PSTI/SPINK1), gena chimotripsinei C (CTRC), Cathepsina B (CTSB), receptorul de sesizare al calciului (CASR), Uridin 5'-difosfoglucuroniltransferaza-1A7 (UGDT1A7); la nivelul celulelor ductale-gena proteinei reglatoare a conductibilității transmembranare a fibrozei chistice (CFTR); genele ce participă în metabolismul alcoolului: alcooldehidrogenaza 2, aldehyddehidrogenaza 2, P450-2E1 (CYP2E1), Glutathion-S-transferaza M1 și T1 (GSTM1, GSTT1); genele ce reglează răspunsul imun (TNF-238A, TNF- α , IL-1, IL-1RN, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, proteina 1 chemoatractantă a monocitelor (Monocyte chemoattractant protein 1-MCP-1), factorul de inhibiție al migrării macrofagilor (Macrophage migration inhibitory factor-MIF) ș.a.[4].

În 1896, Chiara H. [15] a emis ipoteza, potrivit căreia pancreatita s-ar dezvolta în rezultatul activării neadecvate a zimogenilor pancreatici, iar Comfort V. și Steinberg A. în 1952, au determinat, că această

patologie poate avea un fundal genetic [18]. În 1996 mai multe grupuri de savanți au trasat simultan o genă pentru pancreatita ereditară (PE) în brațul lung al cromozomului 7 (7q35): prin analiza legăturilor familiale. LeBodic ș.a. [45] au reușit cartografierea unui defect genetic pe cromozomul 7q35, care a fost confirmat ulterior de alte 2 grupuri de cercetători [58, 95]. În același an Whitcomb D.C. ș.a. au identificat mutația R117H în exonul 3 al tripsinogenului cationic (PRSS1) [95], care a fost independent confirmată de Férec C. ș.a. [24], iar a doua mutație a genei PRSS1-N21I a fost localizată în exonul 2 în an. 1997 [31]. În 1998, conform noii clasificări a mutațiilor genice umane, mutațiile R117H și N21I au fost denumite în R122H și N29I [8]. Mutațiile R122H și N29I ale genei PRSS1 au fost apreciate ca fiind cele mai frecvente mutații asociate cu PC în Franța, Germania, Marea Britanie, Japonia, Polonia, Australia, America de Nord [56, 65, 68, 85, 97] și nici un caz de PE nu a fost raportat din Africa [85].

Rolul principal în patogeniza pancreatitei umane îi revine tripsinogenului. Este cunoscut faptul, că sucul pancreatic uman conține 3 izoforme ale tripsinogenului, care sunt codificate de gene separate, PRSS1 (protează, serina 1; OMIM+276000), PRSS2 (OMIM*601564) și PRSS3 [85]. În baza mobilității lor electroforetice ele sunt numite: tripsinogenul cationic (PRSS1), care reprezintă aproximativ 2/3 din tripsinogenul total, tripsinogenul anionic (PRSS2)- 1/3 și mezotripsinogenul (PRSS3) cu mai puțin de 5%. Acești trei tripsinogeni reprezintă 23,1%, 16% și 0,5% din proteinele totale secretoare ale pancreasului [65]. Tripsinogenii sunt sintetizați sub formă de pre-pro-enzime în celulele acinare pancreatice în ribozomii atașați de reticulul endotelial (RE) și conțin o peptidă de semnalizare compusă din 15 aminoacizi, urmată de o pro-peptidă constituită din 8 aminoacizi, numită peptida de activare a tripsinogenului (TAP). Peptida de semnalizare este eliminată la intrarea în RE, iar pro-enzimele (zimogenii) sunt ambalate în granule zimogenice și secretate în suc pancreatic [85]. După activarea în intestinul subțire tripsina convertește alți zimogeni pancreatici, așa ca proelastaza, procarboxipeptidaza, profosfolipaza A în formele lor active. Molecula de tripsină este o serin protează con-

stituită din 2 subunități, unite cu un lanț polipeptidic, numită buclă de autoliză „autolysis loop” [94], ce conține un reziduu de arginină la aminoacidul R122 și care este ținta de atac pentru alte enzime ale tripsinei, fiind capabile de a recunoaște arginina și lizina și a liza succesibilitatea polipeptidică în locul de inserție al acestor aminoacizi. Tripsinogenul cationic uman, precursorul tripsinei, poate fi ușor degradat pentru a proteja pancreasul în condiții patologice amenințătoare, pe când tripsina este foarte rezistentă la degradare. Pentru fiecare formă degradarea este controlată de două evenimente proteolitice inițiale: scindarea legăturii peptidice Leu81-Glu82 de către CTRC și scindarea legăturii peptidice Arg122-Val123 de către tripsină [4, 80]. Există mutații și la nivelul TAP-K23R (c.68A>G), D22G (c.65A>G), D19A (c.56A>G), care conduc la creșterea autoactivării tripsinogenului cationic [24]. În condiții fiziologice tripsinogenul se autoactivează de către tripsină într-o cantitate neînsemnată, cca 5%, în țesutul pancreatic și în mare parte este activat de către enterochinaza intestinală în duoden, asigurând formarea de tripsină care, fiind o endopeptidază, inițiază activarea altor enzime pancreatice, inclusiv și a tripsinogenului; acesta este un proces fiziologic în duoden, care, dacă se produce excesiv în țesutul pancreatic rezultă în autodigestia lui [4,65]. Un alt mecanism, paralel cu autoactivarea tripsinogenului, este activarea lui de către catepsina B modificată genetic, o hidrolază lizozomală importantă, care are 25,6 kb și 12 exoni [40]. Activarea prematură a tripsinogenului are loc în compartimente membrana-re, așa ca veziculele autofagice, unde sunt localizați zimogenii și substanțele lizosomale [70]. Un studiu efectuat în 2010 [90] a relevat, că eliminarea de catepsină L reduce severitatea afectării pancreasului. În cazul apariției disbalanței între catepsina B, care activează tripsinogenul și catepsina L, care scindează tripsina, se produce o disfuncție lizozomală cu dereglarea autofagiei, ce rezultă în acumularea în exces a tripsinei în celulele acinare [33]. Mecanismul de acțiune al mutațiilor asociate cu PE implică autoactivarea exagerată a tripsinogenilor mutanți, care rezultă în creșterea nivelului de activitate al tripsinogenului [52, 81].

A fost demonstrat, că mutațiile PRSS1 cu o penetranță înaltă alterează reglarea activității și degradarea tripsinogenului cationic și prin intermediul altei enzime, de ex. CTRC [52, 74]. În condițiile unor situații de risc tripsinogenul cationic poate fi rapid degradat pentru a proteja pancreasul, pe când tripsina este foarte rezistentă la degradare [80]. Apariția mutațiilor la nivelul CTRC conduc la pierderea funcției acestei enzime și creșterea riscului de PC [82]. CTRC este o protează digestivă, sintetizată și secretată de celu-

lele pancreatice ca o proenzimă neactivă (zimogen), devine activă în duoden și protejează de PC prin degradarea tripsinogenului, limitând, astfel, efectul dăunător al activării intrapancreatice a tripsinogenului [83, 102]. CTRC stimulează activarea tripsinogenului prin procesarea peptideide activare la o formă mai scurtă, care este mai ușor scindată de către tripsină și favorizează degradarea tripsinogenului prin scindarea buclei delegare a Ca [81, 83]. Mutațiile genice asociate cu pancreatita induc rezistența tripsinogenului la degradarea dependentă de CTRC [81]. Zhou J. și Sahin-Tóth M. [102] au înaintat trei mecanisme, prin intermediul cărora mutațiile CTRC ar putea provoca PC: afectarea tripsinogenului și/sau degradarea tripsinei, dereglarea activării carboxipeptidazei de tip A, inducerea stresului reticulului endoplasmatic. Consorțiul Studiului II Pancreatic din America de Nord, care a durat 12 ani și a fost finalizat în 2015, a descoperit o variantă a genei CTRC (C.180T), despre care se crede că ar fi purtată de cca 10% de caucazieni și care s-a dovedit a fi un factor puternic de risc în pancreatitele asociate cu alcoolul și tabagismul [44]. Geisz A. și coautorii în 2013 [30] au concluzionat, că mutațiile D19A, D22G, K23R și K23_I24insIDK ale tripsinogenului cationic formează un subset mecanic distinct de mutații asociate cu PE, care exercită efectul lor în primul rând prin stimularea directă a autoactivării, independent deCTRC.

Mutația R122H/PRSS₁ este localizată în brațul lung al cromosomului 7 (7q35) și conține două substituții nucleotidice (c.365G>A și c.365-366GC>AT), reprezentate prin tranziția adeninei cu guanina (CGC→CAC); în rezultat are loc substituția argininei cu histidina în poziția 122 (R122H) în succesiunea aminoacidică a enzimei [38]. Această mutație este cauza dezvoltării rezistenței tripsinogenului la hidroliză, creșterea stabilității zimogenice și autoactivării necontrolate în cascada a tripsinogenului, cu activarea ulterioară de către ultimul a altor proenzime și autoliza țesutului pancreatic [97]. Merită a fi subliniat faptul, că toate mutațiile asociate cu pancreatita sunt grupate în partea N-terminală a moleculei, codificată de exonii 2 și 3 [68, 85]. Mutația N29I/PRSS1 a fost decelată primar în 1997 de către Gorry M. ș.a. [31], dar mecanismul prin intermediul căruia această mutație conduce la dezvoltarea PE rămâne deocumdată incert. Se presupune că ea contribuie la autoactivarea tripsinogenului, dereglând interrelația cu inhibitorul pancreatic de secreție al tripsinei [29] sau împiedică inactivarea tripsinei, prin modificarea structurii tripsinei, diminuând accesibilitatea sectorului inițial al hidrolizei sale.

Mutațiile R122H și N29I sunt autosomal-dominante și determină dezvoltarea PE cu o penetranță

fenotipică de 80-90% și afectare preponderentă a familiilor de culoare albă [38, 61, 64, 68, 85, 95, 97]. La nivel global PE este asociată cu aceste două mutații ale PRSS1 în cca 90% din familiile afectate, inclusiv cu R122H-65% și N29I- 25% cazuri [52].

O altă mutație, R122C a Arg122, c364C>T, la nivelul exonului 3/PRSS1 a fost descoperită în an. 2001 de grupuri independente de cercetători (Pfützer R.H. ș.a., Simon P. ș.a.) și este autosomal-dominantă în dezvoltarea PE, cu o penetranță mai joasă (40,9-67%) decât mutația R122H [21, 49]. Această mutație blochează complet scindarea de către tripsină la nivelul Arg122 și descrește scindarea de către CTSC la nivelul Leu81; are funcția de a reduce activitatea, autoliza și autoactivarea tripsinogenului prin creșterea stabilității tripsinei [38, 81]. Fenotiparea R122C/PRSS1 este dependentă de gen, 53,8% fiind bărbați și 22,2% femei, vârsta medie de instalare a simptomelor -23,5 ani, dintre care la 62,5% primele simptome se instalează la 12±7,6 ani, iar la 37,5%-la 40±9,8 ani. Pacienții, la care primele simptome s-au instalat mai devreme au manifestat PA, iar cei cu o vârstă mai înaintată au fost diagnosticați cu PC. Durerea abdominală a fost cel mai frecvent simptom, prezentă la 75% pacienți, calcifierea pancreasului-la 62,5%, modificări ductale-la 62,5%, DZ- la 62,5% la o vârstă medie de 41,4 ani, CrP-la 37,5% [36]. Alt studiu [56] a depistat mutația R122C la un număr aproape identic de bărbați și femei și a descris două peak-uri de instalare a simptomelor: la 11-15 ani și 26-40 ani. Faptul că R122C/PRSS1 are un nivel scăzut de fenotipare a dat naștere teoriei, care ar explica dezvoltarea pancreatitei în rezultatul eliminării mecanismului protector tripsin-dependent; expresia fenotipică a mutației R122C fiind similară cu cea a mutației R122H, dar mai puțin severă; conform datelor de literatură se întâlnește mai frecvent la heterozigoți [52]. Variantele genice ale PRSS1 au fost identificate la pacienții cu PE, familială sau sporadică, pe când mutațiile PRSS2 sau PRSS3 nu se întâlnesc în pancreatite [13], iar PRSS2 se presupune a avea un rol protector [98]. S-a demonstrat, că 66%–68% din toți pacienții cu PCE au cel puțin o mutație la nivelul PRSS1 [38, 64]. PE clasică se caracterizează printr-o exprimare fenotipică extrem de variabilă a bolii, iar rezultatele cercetărilor efectuate pe parcursul ultimelor decenii implică un model de moștenire mai complex. Un studiu al datelor colectate de către EUROPAC din 14 țări europene [38] a raportat identificarea a 112 familii cu PE, dintre care 58(52%) aveau mutația R122H și 24(21%) mutația N29I, confirmată și prin cercetările efectuate în Japonia [56], mutația R122H/PRSS1 fiind cea mai frecventă modificare genetică asociată cu PE la nivel

mondial. Același studiu a determinat un risc estimat pentru CrP în PCE de 67% (95% CI, 50-82).

Un alt mecanism care poate provoca apariția maldililor genetic-determinate și este valabilă și pentru PC este conversia genică între 2 gene, care controlează activitatea tripsinogenului. În genele tripsinogenului se repetă des locusurile beta ale receptorilor celulelor-T (TCR-beta), care în cazul conversiei pot genera o largă varietate de gene TCR-beta [25].

Pe parcursul ultimelor decenii au fost identificate și alte mutații cu rol în fiziopatologia pancreatitelor genetic-determinate la pacienții cu sau fără anamneză familială (AF) de pancreatită (28delTCC, D19A, D22G, K23R, N29I, N54S, P36R, V39A, G83E, K92N, D100H, L104P, A121T, V123M, C139F, N29T, E79K, R116C, A16V, R122C, C111C, D100H, P36R ș.a.), dar într-un număr mai mic de cazuri, mecanismul lor de acțiune exprimându-se prin creșterea activității tripsinei, prin stimularea autoactivării tripsinogenului și/sau inhibarea degradării tripsinogenului CTSC-dependentă sau plierea defectuoasă a tripsinogenului, care rezultă în retenție întracelulară și degradare cu dezvoltarea stresului RE [24, 38, 74, 81, 85]. La momentul actual baza de date (www.pancreasgenetics.org.) include 64 de variante PRSS1: 34 variante cu sens greșit, 4-sinonime, 1-nonsens, 1-cu microinserție, 1-genă hibrid, 2 mutații legate cu numărul de copii și 21 variante cu regiuni necodificabile; referitor la semnificația clinică: 25 variante sunt patogene, 14-nepatogene, 4-protectoare și 21 variante (preponderent intronice) au o semnificație necunoscută [84]. Un studiu efectuat în 2014 [74] a decelat 13 mutații rare cu rol în dezvoltarea PC și a dovedit că numai mutația D100H crește autoactivarea tripsinogenului, dar această creștere a fost compensată de o reducere marcată a secreției, alte cinci mutații (p.P36R, p.G83E, p.I88N, p.V123M, p.S124F) au demonstrat o scădere a autoactivării datorată creșterii degradării de către CTSC. Alte cinci mutații au fost manifestate prin secreții reduse severe (p.D100H, p.C139F) sau moderat (p.K92N, p.S124F, p.G208A), iar mutația p.K170E-prin secreție crescută moderat; mutația p.I88N crește intens autoactivarea tripsinogenului, dar este rapid degradată de CTSC; alte trei mutații (p.Q98K, p.T137M, p.S181G) nu au avut modificări fenotipice în raport cu tipul sălbatic al tripsinogenului. Mutația A16V sau IVS 2 +56_60 del CC-CAG reprezintă a treia mutație comună după R122H și N29I, fiind depistată predominant la pacienții fără AF de pancreatită [85], este suspectă în cauzarea pancreatitei autoimune tip I, cu creșterea nivelului tripsinogenului activat prin intermediul CTSC [27].

Diagnosticul de PE a fost definit de Studiul EUROPAC în cazul prezenței de pancreatită la două rude

de gradul întâi sau trei sau mai multe rude de gradul doi, în două sau mai multe generații cu PA recurentă și/sau PC, pentru care nu există alți factori de precipitare. Cazurile, în care aceste criterii stricte nu au fost îndeplinite, dar a fost identificat mai mult de un membru afectat, cu preponderență în aceeași generație, au fost clasificate ca PC familială [38]. Cu toate acestea, valoarea de diagnostic a acestei clasificări este discutabilă. PE se manifestă mai des la vârsta de 5-10 ani, cu un debut identic PA: se caracterizează de obicei prin dureri abdominale și dereglări dispeptice, care în timp devin mai frecvente și mai pronunțate, crește gradul de insuficiență funcțională și în final se dezvoltă PC [18, 38, 61]. În pofida faptului că maldia este progresantă, cu complicații dese, ea este diagnosticată tardiv. Consumul regulat de alcool și într-o cantitate mai mare, la vârsta de 20-25 ani, prezența tabagismului induc al doilea peak de îmbolnăvire [97]. Peste 8-10 ani la 20% bolnavi se dezvoltă DZ, la 15-20% bolnavi-steatorea marcată. Cu toate că debutul bolii este până la vârsta de 18 ani, manifestarea maldiei poate surveni și la vârsta de 30 ani [61]. Riscul de dezvoltare al CrP la pacienții cu PE este de cca 50 ori mai mare, în special în primii doi ani de la diagnosticare [91]. Prevalența și incidența PE este greu a fi estimată din cauza dificultății efectuării testelor genetice pe scară largă. Un studiu efectuat în Franța [64] a determinat o prevalență a PE de 0,3/100 000. Mutații ale PRSS1 au fost depistate în 2/3 cazuri (R122H 78%, N29I 12%, 10% alte mutații), cu o penetranță de 93%, fără a fi determinate careva diferențe clinice și morfologice în funcție de statutul genetic.

Una din primele mutații, care s-a dovedit a avea rol de protecție în PC în populația Europeană a fost mutația G191R a tripsinogenului anionic, descoperită în 2006 [98], care atenuiază activitatea tripsinei intrapancreatice prin introducerea unui site nou triptic, care redă enzimei hipersensibilitate la proteoliza autocatalitică și, astfel, previne pancreatita. G191R, prezentă la heterozigoți, micșorează de cca trei ori riscul de a dezvolta PC [26]. Cu rol protectiv în PC s-au dovedit a fi și variațiile c.-408C>T, c.40±1G>A, c.111C>A, c.200±1G>A ale PRSS1 [52].

Implicarea mutațiilor genei SPINK1 în instalarea PC a fost menționat primar în an. 2000. Ulterior au fost efectuate multiple studii, care au demonstrat asocierea între mutațiile genei SPINK1 cu PC. Gena ce codifică SPINK1 este situată pe brațul lung al cromozomului 5:5q32, are o lungime de aproximativ 7,5 Kb, 4 exoni și 3 introni [37] și codifică o polipeptidă, alcătuită din 79 de aminoacizi (AF286028), care formează două compartimente. Primul este constituit din 56 de aminoacizi și conține trei legături disulfidice și un site de legătură tripsin-specific, format din Lys-Ile;

al doilea compartiment este o peptidă de semnalizare, ce conține 23 de aminoacizi [87]. SPINK1 este sintetizată în celulele acinare ale pancreasului, legată cu enzimele digestive în granule secretorii și este capabilă de a lega serina tripsinei cu lizina centrului său activ pentru a forma un complex stabil în raport de 1:1 [22, 65, 87] și asigură o barieră importantă de apărare împotriva activării premature a tripsinogenului în pancreas [35]. Raportul SPINK1/tripsinogen este de 1/20 și SPINK1 poate bloca doar 20% din activitatea tripsinei. În situația când cantitatea sau activitatea SPINK1 este redusă, tripsinogenul se poate activa prematur în tripsină, cu activarea ulterioară a altor enzime și autoliza țesutului pancreatic [37]. În cazul mutației R122H/PRSS1 tripsina și enzimele asemănătoare tripsinei devin inapte de a liza moleculele de tripsinogen și tripsină și, astfel, SPINK1 rămâne unicul mecanism de inactivare. La bolnavii cu PE PSTI continuă să activeze în regim obișnuit, dar capacitatea sa de blocare devine cert insuficientă și, la acțiunea unui factor provocator (de ex. alcoolul), este posibilă activarea în exces a tripsinogenului în tripsină, care nu poate fi inactivată [6].

Sunt cunoscute mai multe mutații ale SPINK1, cea mai frecventă fiind N34S (c.101A>G). Ea reprezintă substituția asparaginei cu serina în codonul 34 [22, 63]. În PE N34S a fost decelată în 13% [63]. În PCI instalată precoce N34S a fost estimată în una sau ambele alele la 9,1-40% [22, 49, 63, 60], iar în cele alcoolice-la 12-15% din pacienți [22, 63]. În România frecvența mutației N34S a fost identificată la 5% din pacienții cu PC alcoolică și la 1,041% din martori [5]. Incidența mutației N34S este de aproximativ 1-4% în populația generală [9, 60], dintre care aproximativ 1% este heterozigotă pentru N34S [48]. Frecvența mutației N34S este considerabil mai mare în rândul pacienților care dezvoltă pancreatite, iar rata asociației pancreatitei este mai mare în tipul homozigot [37, 63]; penetranța mutației N34S la homozigoți este de minimum 25%; 25-40% din pacienții cu PCI sunt purtători ai N34S în una sau ambele alele [1, 63]. Unele studii nu au depistat mutații ale SPINK1 la persoanele sănătoase [60]. N34S/SPINK1 crește riscul PCA de 5 ori, PC I de 15 ori, PC tropicală- de 19 ori [9]. Prevalența și impactul mutațiilor SPINK1 asupra evoluției clinice și a complicațiilor PC rămâne incertă. N34S/SPINK1 are o prevalență mai mare la pacienții caucazieni cu PC (69,2%), de 5,4% în PC și cca 37,1 % în PCI [82], în India-42% în PCI și 17% în PCA vs 4% în LC [50]. Mutația SPINK1/N34S predispune la instalarea precoce a PI și la apariția mai frecventă a recidivelor de pancreatită, care ar putea duce în final la insuficiență pancreatică [72]. Vue P. M. ș.a. au demonstrat, că mutațiile CFTR, SPINK1 sau PRSS1

sunt prezente într-o treime din pacienții pediatrici cu pancreatită acută recurentă sau PC în care lipsesc alte cauze [86].

Mutația N34S/SPINK1 crește riscul de PC de 10-15-20 ori [9, 49, 53, 67]. Riscul de a dezvolta PC la purtătorii variantei heterozigote a N34S este de 10 ori mai mare, iar în varianta homozigotă acest risc se dublează [49]. Spectrul și frecvența mutațiilor SPINK1 diferă geografic între diferite populații: IVS 3+2T>C este mai frecventă în populația chineză, pe când N34S este mai frecventă în populația țărilor Vestice [88]. Mutațiile SPINK1 își exercită acțiunea prin diferite mecanisme: M1T, care distruge codonul de start, are o rată de moștenire ereditară dominantă, N34S/SPINK1 este autosomal-recisivă, având un rol preponderent modificator în dezvoltarea PC [94].

Alte mutații ale genei SPINK1, cu rol în fiziopatologia PC, dar mai puțin frecvente decât N34S, au fost decelate ulterior: N55S, D50E, Y54H, R65Q, R67C, G48E, N64D, K66N, R67H, T69I, C79F, S10N, N37S, Q68R, -53C > T, -142T > C, -147A > G, c.87+1G>A, c.194+2T>C, c.56-62T>C, c.88-352A>G, -215G-A și -215 G-T, M1T ș.a. [1, 10, 35, 63]. SPINK1 este una din cele mai vast studiate gene în PC, cu >100 de variante raportate până în prezent [71], dar s-a dovedit, că nu toate mutațiile au efect patogen în PC. Există ipoteza, conform căreia, mutațiile Q68R și rs10273639 ar avea un rol protector în dezvoltarea PC [10, 11].

Prezintă interes faptul, că mutațiile genei SPINK1 diminuează pragul de dezvoltare al PC în prezența altor factori genetici și ambientali, singure nefiind în stare să dezvolte PC, în pofida faptului, că atribuie o susceptibilitate severă genetică față de această patologie [50]. Studii recente au relatat, că PSTI/SPINK1 este implicat, de asemenea, în autoreglarea fagocitozei celulelor acinare, proliferarea și creșterea unei varietăți de patologii celulare [87].

Mutațiile genei SPINK1 sunt implicate și în PC tropicală, des răspândită în țările tropicale în curs de dezvoltare și care poate fi divizată în 2 unități consecutive: pancreatita calcifiantă tropicală și diabetul pancreatic fibrocalculos. Prima formă afectează persoanele tinere, se caracterizează prin dureri abdominale, calcificări pancreatice, insuficiență pancreatică, iar în a doua formă predomină DZ [6, 12].

PC reprezintă o parte variabilă a sindromului de fibroză chistică (FC), cauzat de mutații în CFTR [14, 54], prevalență înaltă a mutațiilor CFTR la pacienții cu PC de diversă etiologie fiind elucidată în multiple studii. FC este o tulburare autosomal-recisivă, ce afectează preponderent caucazienii, cu o incidență de cca 1:3000 de născuți vii, 1 din 25 de persoane din această populație fiind purtători ai mutațiilor CFTR

[19]. În 1989 CFTR a fost identificată ca genă de bază, iar în 1998 Sharer ș.a. și Cohn ș.a. au prezentat o asociere de mutații CFTR cu PC [17, 77]. Impactul CFTR continuă a fi discutabil, iar rolul unor variante genice în patogenia PC este evident puternic. Varietatea de tulburări pancreatice în mutațiile acestei gene diferă mult, de la pierderea completă a funcției pancreatice până la o funcție pancreatică normală. Gena ce codifică CFTR este localizată pe brațul lung al cromozomului 7:7q31, se întinde pe cca 250 kb și conține 27 exoni de la perechea de baze 116,907,253 la perechea de baze 117,095,955 [66]. CFTR (cunoscut și ca ABCC7) codifică o proteină transmembranară de pe suprafața majorității celulelor epiteliale și funcționează ca un canal AMF-ciclic, ce permite trecerea anumitor anioni prin peretele celular (Cl^- , HCO_3^- ș.a.) datorită gradientului lor electrochimic [42, 47, 78], fiind în același timp reglator al altor canale ionice, de ex. Canalul epitelial de sodiu (ENaC- epitelial sodium channel) și a unui grup de transportori de bicarbonați (SLC26) [41].

A fost demonstrat că CFTR se găsește în celulele epiteliale ale multor organe, inclusiv pulmoni, ficat, pancreas, tractul digestiv, organe reproductive, piele. CFTR transportă în pancreas atât clorurile, cât și bicarbonații, ultimii fiind secretați de către celulele ductale cu ajutorul cotran-transportorului de sodiu-bicarbonat (NBS sau NBSn1-A, NBC3, SLCA7) [47]. HCO_3^- este cel mai important ion în secreția ductală pancreatică; pentru a asigura o digestie normală este necesară prezența lui în lichidul secretat de celulele acinare în concentrație de până la 140 mM [57]. De menționat, că CFTR este un canal reglat anionic, ce se deschide sub influența hormonilor secretați în duoden, a polipeptidei intestinale vasoactive prin creșterea AMF ciclic sau a factorilor, ce cresc nivelul de calciu [47]; reglarea se produce și prin intermediul WNK1, SPAK/OSR1, care inhibă antiporterul clorid-bicarbonat (SLC26a6) [59]. În mod normal, proteina CFTR conduce clorurile și tiocinanurile, încărcate negativ, în afara celulei epiteliale. În rezultat se formează un gradient electric și ionii de sodiu, încărcăți pozitiv, se mișcă în aceeași direcție ca și clorura, printr-o cale paracelulară, cu ieșirea apei din celulă prin osmoză și formarea unui mucus mai lichid. În cazul mutațiilor la nivelul CFTR are loc reducerea fluxului de lichid pancreatic, cu hiperconcentrare de proteine și blocare a ducturilor pancreatice [12, 14, 41, 42, 67, 73, 93], se formează secreții vâscoase, cu obturarea bronhiilor, canalelor pancreatice, căilor biliare, canalelor deferente (structuri prin care circulă lichidul spermatic). Tabloul clinic ale FC include manifestări pulmonare (inflamații ale căilor respiratorii, manifestări bronho-obstructive, bronhopneumopatii

cronice, bronșiectazii, chisturi, abcese și fibroza țesutului pulmonar, afectarea pulmonară fiind cauza decesului la majoritatea bolnavilor), manifestări digestive (ocluzie intestinală prezentă la 15-20% dintre nou-născuți, insuficiență pancreatică), afectarea funcției reproductive.

Consortiul NAPS2 și Studiul Pancreatitei Ereditare din Pittsburgh din 2011 au confirmat, că mutația R75Q conduce la dereglarea selectivă a transportului de bicarbonați și, astfel, crește riscul de pancreatite și nu de afecțiuni pulmonare, iar coexistența acestei mutații cu mutații ale SPINK1 crește semnificativ riscul de PI [73]. Studii mai recente au relevat, că canalul CFTR, modificat genetic, nu transportă nici antioxidanții în interiorul celulei, pentru a contracara SO neutrofil-asociat din PC, fiind implicat și în transportul de glutatation [69].

Actualmente sunt cunoscute peste 2000 de mutații ale CFTR [42], dar majoritatea dintre ele au o frecvență <0,1% și nu sunt asociate cu FC, iar la >85% dintre ele mecanismul de acțiune nu este cunoscut [23]. Aceste mutații pot fi divizate în 6 clase, bazate pe consecințele funcționale ale polimorfismului asupra funcției de canal: clasele I-III sunt considerate severe, clasa IV-de variabilitate medie, V-VI ușoare [40, 94]. Mutațiile CFTR clasele I-III, ce țin de biosinteza (ex. R1162X, F508del, G551D), procesarea defectivă a proteinelor și reglarea defectivă a canalului se manifestă prin insuficiență pancreatică (>95% cazuri), patologii hepatice (3-5% cazuri), diagnosticare la o vârstă tânără (<1 an), meconium ileus (20%); clasa IV (ex. R117H) afectează conductibilitatea; clasa V (ex. C.3737+12191C→T)- sinteza, stabilitatea proteică; clasa VI-abilitatea CFTR de a regla alte canale și sunt asociate cu insuficiența pancreatică în 70-80% cazuri, diagnosticare după vârsta de 10 ani, cu afecțiuni pulmonare ușoare [23, 40, 15]. S-a dovedit, că genotipurile asociate cu efecte fenotipice ușoare au o șansă mai mare de a cauza pancreatite decât genotipurile cu fenotipare moderat-severă [54]. În 2014 La-Rush J. ș.a. în asociere cu Grupul Nord American de Studiu al Pancreasului [43] au demonstrat, că 9 mutații CFTR (R74Q, R75Q, R117H, R170H, L967S, L997F, D1152H, S1235R, D1270N), care dereglează mecanismele de activare WNK1-SPAK, cauzează dereglarea selectivă a canalului ce transportă bicarbonații, astfel, afectând selectiv organele ce utilizează CFTR pentru secreția bicarbonaților (pancreasul, sinusurile nazale, vasul deferent) fără a provoca FC clasică. WNK1 este membră a kinazelor, care servesc ca sensori ai osmolarității, concentrației de cloruri și răspund de activarea kinazelor adiționale legate de canalele ionice, inclusiv și CFTR.

Mutația R117H/CFTR (c.350G>A) se referă la clasa IV, este prezentă în 0,3% din populația caucaziană și se poate manifesta printr-o largă varietate de

manifestări clinice, în funcție de prezența altor variații genetice, de ex. tractul Poly-T, care reprezintă un șir de baze timinice, situate în intronul 8 al genei CFTR (3 forme-5T, 7T, 9T) și tractul TG (3 forme-TG11, TG12, TG13), combinațiile acestor gene rezultând într-o largă varietate de prezentări clinice ale FC [15]. Un studiu a depistat mutația R117H în combinație cu haplotipul IVS8-T5 în 2,3% cazuri de pacienți cu PC și 0,7% în LC (OR=3,49; p=0,0007), iar R117H*T7/T9- în 9 din cele 80 cazuri de mutații severe concurente de FC și nici într-un pacient purtător de FC din LC; asocierea de R117H/CFTR cu N34S/SPINK1 în forma heterozigotă-la 5,5% pacienți cu PC (OR=8,74; p=0,0002) [43].

Cea mai frecventă mutație în FC este F508del (clasa II) și reprezintă cca 70% din toate alelele mutante. Se presupune că pacienții cu PC izolată, în absența altor manifestări clinice ale FC, ar putea fi purtători ai mutațiilor mai ușoare, clasa V-VI, în cel puțin o alelă. La secvențierea completă a ADN 60% din pacienții cu PC au fost diagnosticați cu mutații CFTR [53]. Riscul de dezvoltare al PC printre purtătorii heterozigoți de mutații CFTR, indiferent de severitatea mutației, este de cca 3-4 ori mai mare față de populația normală, iar pentru heterozigoții cu mutații severe este de 100 ori mai mare; cca 8% din populația cu mutații ușoare CFTR poartă un risc crescut pentru PC. Populația de culoare albă are o frecvență mai mare (1/30) vs populația Asiatică (1/90) de a fi purtători ai mutațiilor CFTR; în populația albă purtătorii sănătoși de mutații severe CFTR (cca 5%) sunt considerați a fi cu risc crescut de PC [2, 3, 4, 53]. Riscul de a dezvolta PCI crește de 3,7 ori la purtătorii de mutații ale FC și de 37 de ori în prezența unei mutații a FC plus o alelă ușoară în *trans* [16].

Prezintă interes faptul, că evoluția clinică a FC poate fi variabilă la pacienții care poartă aceleași mutații, indicând influența factorilor de mediu și, posibil, a altor modificări genetice. Până în prezent nu sunt cunoscute toate mecanismele care stau la baza dezvoltării PC în mutațiile genei CFTR. Studiarea patologiilor asociate cu mutațiile CFTR este limitată de imposibilitatea investigării complete a secvenței genomice a genei CFTR pe loturi mari de pacienți, deoarece această genă codifică 1480 aminoacizi. Noone P. G. ș.a. au demonstrat, că pacienții cu PI au o probabilitate de 4-6 ori mai mare de a fi purtători de mutații CFTR, comparativ cu populația generală, iar pacienții heterozigoți au un risc de 40 ori mai mare pentru pancreatită [53]. Rozendahl ș.a. au descoperit prezența mutațiilor trans-heterozigote la 6,5% pacienți cu PC și la 0,2% din LC, iar 48,2% din pacienții cu PC au prezentat un substrat genetic [67]. Există dovezi ample, că mutațiile SPINK1 și CFTR sunt puternic asociate cu PCI la pacienții de diferită etnie [28]. De asemenea, persoane diferite, dar cu aceeași

mutație pot avea grade de afectare diferite, manifestările FC fiind influențate de interacțiunea altor factori genetici cu factorii de mediu și endogeni.

S-a dovedit, că majoritatea pacienților, care dezvoltă pancreatite genetic-determinate sunt purtători ai mai multor variante de gene sau suportă interacțiunea epistatică între mai multe gene. Fenomenul de epistasis reprezintă capacitatea unei gene de a influența efectul altei gene [41]. A fost demonstrat un epistasis semnificativ între mutațiile CFTR și SPINK1 [73], un studiu [53] a elucidat că mutațiile SPINK1 crează condiții pentru mutațiile CFTR heterozigote de a afecta pancreasul. Îmbinarea de 2 mutații CFTR și mutația N34S/SPINK1 crește riscul pentru pancreatite de 900 ori [32]. 2 studii efectuate în SUA și Franța, au demonstrat că riscul de PCI crește de 40 ori la pacienții, care au 2 mutații ale genei CFTR, de 14 ori în prezența N34S/SPINK1, de 500 ori la asocierea lor [16]. Studiul efectuat de Schneider A. ș.a. a dovedit, că atât variantele severe, cât și cele ușoare „benigne” sau neclasificate ale mutațiilor CFTR pot fi asociate cu pancreatite, în special la pacienții cu mutații SPINK1 [73].

Asocierea mutațiilor CFTR cu PA este incertă, fiind absentă în unele studii [76] și prezentă în 23-40% din pacienții Italiani [62]. Depistarea unei mutații CFTR la un pacient cu PI nu deduce că pacientul are FC. Studiile efectuate până în prezent indică, că mutațiile CFTR singure nu sunt suficiente pentru dezvoltarea PC la majoritatea pacienților și sunt necesare studii suplimentare în elucidarea rolului CFTR în patogeneza PC.

În pofida faptului că există multiple date, care demonstrează, că pacienții cu mutații genice au și un risc relativ estimat crescut pentru cancerul pancreatic (CrP) [91], un studiu efectuat de Schubert S. ș.a. în 2013 a arătat, că mutațiile PRSS1, SPINK1, CFTR, CTRC nu cresc semnificativ riscul de CrP [75]. Alte studii au constatat riscul crescut considerabil de CrP la pacienții cu mutații PRSS1 și SPINK1, care pot servi drept predictorii pentru cancer la pacienții cu PC [64, 88]. De aceea, pacienții cu mutații SPINK1 și PRSS1 ar trebui să evite alți factori de risc, de ex. alcoolul, tabagismul, cu monitorizarea clinică și paraclinică.

O altă cauză de afectare a țesutului pancreatic ar fi mutațiile (>200) în CASR, care este un receptor G-cuplat cu proteina plasmatică legată de membrană, ce crește nivelul AMF-ciclic și activează secreția de bicarbonați prin CFTR, detectând și reglând, astfel, nivelul de Ca extracelular, cu micșorarea concentrației de Ca intraacinar și scăderea riscului de autoactivare al tripsinogenului [40, 14, 89, 101]. Pierderea funcției variantelor CASR, în asociere cu mutațiile SPINK1 sau CFTR, afectează funcția celulelor ductale, iar creșterea funcției mutațiilor CASR, asociată cu

PCA, afectează funcția celulelor acinare [93]. Există ipoteza, conform căreia, mutația CASR p.R990G ar facilita fibrozarea țesutului pancreatic prin intermediul unui mecanism neidentificat, care este amplificat de alcool și tabagism [101].

Mutațiile KRAS au rol de driver, în CrP fiind cele mai frecvente [34].

Au fost identificate și alte gene, decât cele implicate în „mecanismul de reglare intrapancreatică a tripsinei”, polimorfismul cărora este asociat cu pancreatita-Claudina 2 (CLDN2) și Carboxipeptidaza A1 (CPA1) [40]. Claudinele participă în transportul lichidului pancreatic, fiind proteine, care formează joncțiuni strânse între membranele apicale și bazolaterale ale celulelor endoteliale și determină rezistența transepitelială și selectivitatea ionică; în țesutul pancreatic fiind întâlnite claudinele -1,-2,-3,-4 [46]. Carboxipeptidaza A crește riscul de PC prin implicarea stresului RE, indus de pliarea defectuoasă [99].

Există date certe, că unele mutații genice cresc susceptibilitatea pentru PC în asociere cu alcoolismul și tabagismul, de ex. varianta C.180T a genei CTRC, care este purtată de cca 10% din caucazieni [44]. Grupul PanEuropean de studiu al PC a demonstrat, că polimorfismele rs10273639 în locusul PRSS1-PRSS2 și rs7057398, rs12688220 în locusul Claudinei-2 (CLDN2-PIPPY1-MORC4) sunt strict asociate cu riscul de PA [20]. Polimorfismul în gena ce codifică fucosil-transferaza 2 (FUT 2) și grupa de sânge B sunt asociate nu numai cu un nivel înalt de lipază serică la sănătoși, dar și cu un risc dublu de PA [92]. Susceptibilitatea pentru PCA este determinată și de polimorfismul alcooldehidrogenazei și aldehyddehidrogenazei [7]. Cercetătorii de la Universitatea Școlii de Medicină din Pittsburgh și alte 25 de centre de sănătate din SUA au demonstrat de ce bărbații purtători severi sunt mai susceptibili pentru PC decât femeile [96]. Ei au decelat prezența unei variante genice pe cromozomul X, lângă gena Claudin-2 (CLDN2), care este prezentă la 26% bărbați fără pancreatită și la cca 50% bărbați cu pancreatită alcoolică. Deoarece femeile au doi cromozomi X, în situația când există mutația respectivă, celălalt cromozom sănătos le protejează de pancreatită, fapt ce le lipsește bărbaților cu un cromozom X modificat genetic și unul Y. Mutația susnumită singură nu dezvoltă pancreatită, doar în condițiile când apar alți factori de risc, de ex. alcoolul, crește susceptibilitatea.

Tabagismul este un factor de risc independent și semnificativ în dezvoltarea PA, a recidivelor de PC, DZ pancreatogen și CrP. Gradul de nocivitate a fumului de tutun asupra pancreasului este determinat și de implicarea unor gene în degradarea carcinogenilor din tutun: variantele genelor CYP1B1-4390-GG și uridine 5'-diphosphoglucuronosiltransferaza reduc riscul de CrP, iar variantele GSTM1 cresc acest risc [39].

Merită a fi menționat faptul, că pacienții, care au susceptibilitate genetică pentru afecțiunile pancreatice necesită consiliere, care este un proces complex cu asistență medicală, psihologică referitor la diagnostic, posibilele probleme de sănătate în viitor, riscurile de recurență și planificarea familiei [20]. Pentru a indica pacienților simptomatici cu pancreatită testarea genetică pentru PRSS1 și SPINK1 este necesară una din următoarele condiții: 1. Pusee acute inexplicabile de PA și AF pozitivă. 2. PC inexplicabilă și AF pozitivă. 3. PC inexplicabilă fără anamnezic de AF, după excluderea altor cauze. 4. Episoade inexplicabile de pancreatită în copilărie [68]. Testarea genetică ar trebui efectuată doar la pacienții atent selecționați.

Concluzie: Rolul variațiilor genice cunoscute în dezvoltarea afecțiunilor pancreasului necesită a fi apreciat în contextul acțiunii factorilor de mediu, metabolici și a altor mutații genice posibile, care pot influența evoluția bolii, iar asocierea acestor factori urmează a fi luată în considerare în identificarea cât mai precoce a persoanelor susceptibile pentru PC, profilaxia, reducerea frecvenței, complicațiilor, elaborarea oportună a tratamentului.

Bibliografie:

1. Bugai R. *Expresia mutației N34S a genei inhibitorului pancreatic de secreție a tripsinei la pacienții cu pancreatită cronică din Republica Moldova*. Sănătate publică, economie și management în medicină. Chișinău, 2016, 4(68), p.10-13.
2. Bugai R., Barbacar N., Țîbîrnă I. *Mutația genică R117H (CFTR) la pacienții cu pancreatită cronică din Republica Moldova*. Sănătate publică, economie și management în medicină. Chișinău, 2016, 2(66), p. 95-98.
3. Bugai R., Țîbîrnă I., Barbacar N. *Relevanța unor factori de risc genetici și stresul oxidativ la pacienții cu pancreatită cronică latentă din Republica Moldova*. Sănătate publică, economie și management în medicină. Chișinău, 2015, 4(61), p. 125-129.
4. Bugai R. *Statutul clinico-paraclinic și polimorfismul genetic în pancreatita cronică*. Teza de dr. șt. med. Chișinău, 2017, 168 p.
5. Diaconu B. L. ș.a. *Rolul mutației N34S în gena inhibitorului tripsinei la pacienții cu pancreatită cronică din România*. Journal of Gastrointestinal and liver diseases, 2008, vol.17, suppl.1, p. 197-198.
6. Țîbîrnă I., Bugai R. *Pancreatita cronică. Actualitate, etiologie și patogenie (I). Sistemul de clasificări. Diagnosticul de laborator și instrumental (II)*. Buletinul Academiei de științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2008, 2(16), p. 144-158.
7. Aghdassi A. A. et al. *Genetic susceptibility factors for alcohol-induced chronic pancreatitis*. Pancreatology, 2015, 15, suppl. 4, S23-31.
8. Antonarakis S. E. *Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations*. Nomenclature Working group. Hum Mutat., 1998, 11, pp. 1-3.
9. Aoun E. et al. *Pathways to injury in chronic pancreatitis: decoding the role of the high-risk SPINK1 N34S haplotype using meta-analysis*. PLoS One, 2008, 3(4), e2003.
10. Boulling A. et al. *Functional analysis of eight missense mutations in the SPINK1 gene*. Pancreas, 2012, 41, pp. 329-30.
11. Boulling A. et al. *Identification of a functional PRSS1 promoter variant in linkage disequilibrium with the chronic pancreatitis-protecting rs10273639*. Gut, 2015, 64, pp. 1837-8.
12. Brock C. et al. *Pathophysiology of chronic pancreatitis*. World J Gastroenterol., 2013, 19, pp. 7231-40.
13. Chen J. M. et al. *Exclusion of anionic trypsinogen and mesotrypsinogen involvement in hereditary pancreatitis without cationic trypsinogen gene mutations*. Scand J Gastroenterol., 1999, 34, pp. 831-832.
14. Chen J. M., Férec C. *Genetics and pathogenesis of chronic pancreatitis*. Clin Res Hepatol Gastroenterol., 2012, 36, pp. 334-40.
15. Chiari H. *Ueber die Selbstverdauung des menschlichen Pankreas*. Zeitschrift für Heilkunde, 1896, 17, pp. 69-96.
16. Cohn J. A. *Reduced CFTR function and the pathobiology of idiopathic pancreatitis*. J Clin Gastroenterol., 2005, 39, 4, suppl. 2, S70-7.
17. Cohn J. A. et al. *Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis*. New Engl J Med., 1998, 339, pp. 653-658.
18. Comfort M. Steinberg A. *Pedigree of a family with hereditary chronic relapsing pancreatitis*. Gastroenterol., 1952, 21, pp. 54-63.
19. Committee on Genetics, American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion. nr. 486, april 2011. Update on carrier screening for cystic fibrosis. Obstet Gynecol. 2011, 117, pp. 1028-1031.
20. Derikx M. H. et al. *Pan-European Working group on Alcoholic Chronic Pancreatitis Members and Collaborators. Polymorphisms at PRSS1-PRSS2 and CLDN2-MORC4 loci associate with alcoholic and non-alcoholic chronic pancreatitis in an European replication study*. Gut, 2015, 64(9), pp. 1426-33.
21. Dong F. et al. *Multiple gene mutations in the patients with type 2 autoimmune pancreatitis and its clinical features*. Centr Eur J Immunol., 2014, 39, pp. 77-82.
22. Drenth J. P. H., TeMorsche R., Jansen J. B. M. J. *Mutations in serine protease inhibitor Kazal type-1 are strong by associated with chronic pancreatitis*. Gut, 2002, 50, pp. 687-692.
23. Férec C., Cutting G. R. *Assessing the Disease-Liability of Mutations in CFTR*. Cold Spring Harb Perspect Med., 2012, 2(12), a009480.
24. Férec C. et al. *Mutations in the cationic trypsinogen gene and evidence for genetic heterogeneity in hereditary pancreatitis*. J Med. Genet., 1999, 36, pp. 228-3.
25. Flajnik M. F. *Comparative analyses of immunoglobulin genes: surprises and portents*. Nat Rev Immunol., 2002, 2, pp. 688-698.
26. Frank U. W., Sahin-Tóth M. *Variations in tryp-*

sinogen expression may influence the pro-protective effect of the p.G191R PRSS2 variant in chronic pancreatitis. *Gut*, 2009, 58, pp. 749–50.

27. Gao F. et al. Identification of a novel frame-shift mutation in PRSS1 gene in patients with autoimmune pancreatitis. *Curr Mol Med.*, 2014, 14, pp. 340–8.

28. Garg P. K. *Chronic Pancreatitis in India and Asia*. Current Gastroenterology Reports, 2012, vol. 14, Issue 2, pp. 118–124.

29. Gasiorowska A. et al. The prevalence of Cationic Trypsinogen (PRSS1) and Serine Protease Inhibitor, Kazal Type 1 (SPINK1) Gene Mutations in Polish Patients with Alcoholic and Idiopathic Chronic Pancreatitis. *Dig Dis Sci.*, 2011, 56(3), pp. 894–901.

30. Geisz A., Hegyi P., Sahin-Tóth M. Robust auto-activation, chymotrypsin C independence and diminished secretion define a subset of hereditary pancreatitis associated cationic trypsinogen mutants. *FEBS J.*, 2013, 280(12), pp. 2888–2899.

31. Gorry M. C. et al. Mutations in the cationic trypsinogen gene are associated with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterol.*, 1997, 113, pp. 1063–1068.

32. Grendell J. H. Genetic factors in pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep.*, 2003, 5, pp. 105–109.

33. Gukovsky I. et al. Impaired autophagy and organellar dysfunction in pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol.*, 2012, 27, suppl. 2, pp. 27–32.

34. Hashimoto D. et al. Heterogeneity of KRAS Mutations in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas.*, 2016, 45(8), pp. 1111–4.

35. Hegyi E. et al. Hungarian Pancreatic Study Group. SPINK1 Promoter Variants in Chronic Pancreatitis. *Pancreas.*, 2016, 45(1), pp. 148–153.

36. Heras-Castaño G. et al. Hereditary Pancreatitis: Clinical Features and Inheritance. Characteristics of the R122C Mutation in the Cationic Trypsinogen Gene (PRSS1) in Six Spanish Families. *JOP*, 2009, 10(3), pp. 249–255.

37. Hirota M., Ohmuraya M., Baba H. Genetic background of pancreatitis. *Postgrad. Med.*, 2006, 82, pp. 775–778.

38. Howes N. et al. European Registry of Hereditary Pancreatitis and Pancreatic Cancer (EUROPAC). Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe. *Clin Gastroenterol Hepatol.*, 2004, 2, pp. 252–261.

39. Jang J.H. et al. Genetic variants in carcinogen-metabolizing enzymes, cigarette smoking and pancreatic cancer risk. *Carcinogenesis*, 2012, 33, pp. 1430.

40. Kanth V.R., Reddy D.N. Genetics of acute and chronic pancreatitis: An update. *World J Gastrointest Pathophysiol.*, 2014, 5(4), pp. 427–437.

41. LaRusch J., Whitcomb D.C. Genetics of pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol.*, 2011, 27, pp. 467–74.

42. LaRusch J., Whitcomb D. Genetics of Pancreatitis with a focus on the Pancreatic Ducts. *Gastroenterol Dietol.*, 2012, 58(4), pp. 299–308.

43. LaRusch J. et al. and the North American Pancreatitis Study Group. Mechanisms of CFTR Functional Variants That Impair Regulated Bicarbonate Permeation and Increase Risk for Pancreatitis but Not for Cystic Fibrosis. *PLoS Genet.*, 2014, 10(7), e1004376.

44. LaRusch J. et al. The Common Chymotrypsinogen C (CTRC) Variant G60G (C.180T) Increases Risk of Chronic Pancreatitis But Not Recurrent Acute Pancreatitis in a North American Population. *Clin Transl Gastroenterol.*, 2015, 6(1), e68.

45. Le Bodic L. et al. The hereditary pancreatitis gene maps to long arm of chromosome 7. *Hum Mol Genet.*, 1996, 5, pp. 549–554.

46. Lee J. H. et al. Immunohistochemical analysis of claudin expression in pancreatic cystic tumors. *Oncol Rep.*, 2011, 25(4), pp. 971–978.

47. Lee M. G. et al. Molecular mechanism of pancreatic and salivary gland fluid and HCO₃ secretion. *Physiol Rev.*, 2012, 92(1), pp. 39–74.

48. Maisonneuve P. et al. Cigarette smoking accelerates progression of alcoholic chronic pancreatitis. *Gut.*, 2005, 54, pp. 510–514.

49. Masson E. et al. Conservative Assessment of the Major Genetic Causes of Idiopathic Chronic Pancreatitis: Data from a Comprehensive Analysis of PRSS1, SPINK1, CTRC and CFTR Genes in 253 Young French Patients. *PLoS One.*, 2013, 8(8), pp. e73522.

50. Midha S. et al. Idiopathic pancreatitis in India: Phenotypic characterization and strong genetic susceptibility due to SPINK1 and CFTR gene mutations. *Gut.*, 2010, 59, pp. 800–807.

52. Németh B. C., Sahin-Tóth M. Human cationic trypsinogen (PRSS1) variants and chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, 2014, 306(6), G466–G473.

53. Noone P. G. et al. Cystic Fibrosis Gene Mutations and Pancreatitis Risk: Relation to Epithelial Ion Transport and Trypsin Inhibitor Gene Mutations. *Gastroenterology*, 2001, 121, pp. 1310–1319.

54. Ooi C.Y., Durie P. R. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis. *J Cyst Fibros.*, 2012, 11(5), pp. 355–62.

56. Otsuki M. et al. Hereditary pancreatitis: clinical characteristics and diagnostic criteria in Japan. *Pancreas.*, 2004, 28(2), pp. 200–206.

57. Pallagi P., Hegyi P., Rakonczay Z. Jr. The Physiology and Pathophysiology of Pancreatic Ductal Secretion: The Background for Clinicians. *Pancreas.*, 2015, 44(8), pp. 1211–33.

58. Pandya A. et al. Linkage studies in a large kindred with hereditary pancreatitis confirms mapping of the gene to a 18-cM region on 7q. *Genomics.*, 1996, 38, pp. 227–230.

59. Park H. W. et al. Dynamic regulation of CFTR bicarbonate permeability by [Cl⁻]_i and its role in pancreatic bicarbonate secretion. *Gastroenterology*, 2010, 139(2), pp. 620–631.

60. Pelaez-Luna M. et al. PRSS1 and SPINK1 mutations in idiopathic chronic and recurrent acute pancreatitis. *World J Gastroenterol.*, 2014, 20(33), pp. 11788–11792.

61. Perrault J. Hereditary pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am.*, 1994, 23, pp. 743–752.

62. Pezzilli R. et al. Mutations of the CFTR gene in pancreatic disease. *Pancreas.*, 2003, 27, pp. 332–336.

63. Pfützner R. H. et al. SPINK1/PSTI polymorphisms act as disease modifiers in familial and idiopathic chron-

- ic pancreatitis. *Gastroenterol.*, 2000, 119, pp. 615-623.
64. Rebours V. et al. *The natural history of hereditary pancreatitis: a national series.* *Gut.*, 2009, 58, pp. 97-103.
65. Reddy D. N., Prasad S. S. *Genetic basis of chronic pancreatitis in Asia Pacific region.* *J GastroenterolHepatol.*, 2004, 19(9), pp. 998-1004.
66. Rommens J. M. et al. *Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping.* *Science.*, 1989, 245(4922), pp. 1059-65.
67. Rosendahl J. et al. *CFTR, SPINK1, CTRC and PRSS1 variants in chronic pancreatitis: is the role of mutated CFTR overestimated?* *Gut.*, 2013, 62, pp. 582-592.
68. Rosendahl J. et al. *Hereditary chronic pancreatitis.* *OJRD*, 2007, 2, 1.
69. Rubera I. et al. *Role of CFTR in oxidative stress and suicidal death of renal cells during cisplatin-induced nephrotoxicity* *Open.Cell Death and Disease*, 2013, 4, e817.
70. Sah R. P., Saluja A. K. *Trypsinogen activation in acute and chronic pancreatitis: Is it a prerequisite?* *Gut.*, 2011, 60, pp. 1305-7.
71. Sahin-Tóth M., Nemeth B. *Genetic risk factors in chronic pancreatitis.* <http://www.pancreasgenetics.org/index.php> (accesat 25.11. 2015).
72. Sandhu B. et al. *Presence of SPINK-1 variant alters the course of chronic pancreatitis.* *J GastroenterolHepatol.*, 2011, 26(6), pp. 965-9.
73. Schneider A. et al. *Combined bicarbonate conductance-impairing variants in CFTR and SPINK1 variants are associated with chronic pancreatitis in patients without cystic fibrosis.* *Gastroenterology*, 2011, 140, pp. 162-71.
74. Schnür A. et al. *Functional effects of 13 rare PRSS1 variants presumed to cause chronic pancreatitis.* *Gut.*, 2014, 63(2), 10.1136/gutjnl-2012-304331.
75. Schubert S. et al. *CFTR, SPINK1, PRSS1 and CTRC mutations are not associated with pancreatic cancer in German patients.* *Pancreas.*, 2014, 43(7), pp. 1078-82.
76. Setiawan V.W. et al. *Prospective Study of Alcohol Drinking, Smoking and Pancreatitis: The Multiethnic Cohort.* *Pancreas.*, 2016, 45(6), pp. 819-25.
77. Sharer N. et al. *Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis.* *New Engl J.*, 1998, 339, pp. 645-652.
78. Sheppard D. N, Welsh M. J. *Structure and function of the CFTR chloride channel.* *Physiol Rev.*, 1999, 79, suppl. 1, pp. S23-45.
80. Szabó A., Radisky E. S., Sahin-Tóth M. *Zymogen Activation Confers Thermodynamic Stability on a Key Peptide Bond and Protects Human Cationic Trypsin from Degradation.* *J Biol Chem.*, 2014, 289(8), pp. 4753-4761.
81. Szabó A. Sahin-Tóth M. *Increased activation of hereditary pancreatitis-associated human cationic trypsinogen mutants in presence of chymotrypsin C.* *J Biol Chem.*, 2012, 287, pp. 20701-10.
82. Szabó A. et al. *Mesotrypsin Signature Mutation in a Chymotrypsin C (CTRC) Variant Associated with Chronic Pancreatitis.* *MJ Biol Chem.*, 2015, 290(28), pp. 17282-92.
83. Szmola R., Sahin-Tóth M. *Chymotrypsin C (caldecrin) promotes degradation of human cationic trypsin: identity with Rinderknecht's enzyme* *Y.ProcNatlAcadSci USA*, 2007, 104, pp. 11227-11232.
84. Talamini R. et al. *Tobacco smoking, alcohol consumption and pancreatic cancer risk: a case-control study in Italy.* *Eur J Cancer*, 2010, 46(2), pp. 370-6.
85. Teich N. et al. *Mutations of Human Cationic Trypsinogen (PRSS1) and Chronic Pan-creatitis.* *Hum Mutat*, 2006, 27(8), pp. 721-730.
86. Vue P. M., McFann K., Narkewicz M. R. *Genetic Mutations in Pediatric Pancreatitis.* *Pancreas*, 2016, 45(7), pp. 992-6.
87. Wang G. P., Xu C. S. *Pancreatic secretory trypsin inhibitor: More than a trypsin inhibitor.* *World J GastrointestPathophysiol.*, 2010, 1(2), pp. 85-90.
88. Wang L. W. et al. *Prevalence and clinical features of chronic pancreatitis in China: a retrospective multicenter analysis over 10 years.* *Pancreas.*, 2009, 38, pp. 248-54.
89. Wang W. et al. *Comprehensive screening for PRSS1, SPINK1, CFTR, CTRC and CLDN2 gene mutations in Chinese paediatric patients with idiopathic chronic pancreatitis: a cohort study.* *BMJ Open.*, 2013, 3(9), e003150.
90. Wartmann T. et al. *Cathepsin L inactivates human trypsinogen, whereas cathepsin L-deletion reduces the severity of pancreatitis in mice.* *Gastroenterology*, 2010, 138, pp. 726-37.
91. Weiss F. U. *Pancreatic cancer risk in hereditary pancreatitis.* *Front Physiol.*, 2014, 5, p. 70.
92. Weiss F. U. 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), pp. 646-56.
93. Whitcomb D. C. *Genetic risk factors for pancreatic disorders.* *Gastroenterol.*, 2013, 144, pp. 1292-1302.
94. Whitcomb D. C. *Value of genetic testing in the management of pancreatitis.* *Gut.*, 2004, 53, pp. 1710-1717.
95. Whitcomb D. C. et al. *A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35.* *Gastroenterol.*, 1996, 110, pp. 1975-1980.
96. Whitcomb D. C. et al. *Common genetic variants in the CLDN2 and PRSS1-PRSS2 loci alter risk for alcohol-related and sporadic pancreatitis.* *Nat Genet.*, 2012, 44, pp. 1349-1354.
97. Whitcomb D. C. et al. *Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene.* *Nat Genet.*, 1996, 14, pp. 141-145.
98. Witt H. et al. *A degradation sensitive anionic trypsinogen (PRSS₂) variant protects against chronic pancreatitis.* *Nat Genet.*, 2006, 38, pp. 668-67.
99. Witt H. et al. *Variants in CPA1 are strongly associated with early onset chronic pancreatitis.* *Nat Genet.*, 2013, 45, pp. 1216-20.
101. Yadav D. et al. *Alcohol consumption, cigarette smoking, and the risk of recurrent acute and chronic pancreatitis.* *Arch Intern Med.*, 2009, 169, pp. 1035-1045.
102. Zhou J., Sahin-Tóth M. *Chymotrypsin C mutations in chronic pancreatitis.* *J GastroenterolHepatol.*, 2011, 26, pp. 1238-46.