

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA

ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

***ANGIOGENEZA ÎN ADENOCARCINOMUL
PANCREATIC DUCTAL:
STUDIU MORFOMETRIC ȘI IMUNOHISTOCHIMIC***

Conducător de doctorat:

Prof. Univ.Dr. TUDOREL CIUREA

Student Doctorand:

ANCA BARĂU

CRAIOVA

2013

CUPRINS

INTRODUCERE	5
PARTEA GENERALĂ (STADIUL CUNOAȘTERII)	
1. ANGIOGENEZA	
1.1 ORIGINEA VASELOR.....	6
1.2 TIPURI DE ANGIOGENEZĂ.....	9
1.3 ADAPTĂRI POSTNATALE.....	11
1.4 ANGIOGENEZA ÎN PROCESUL NEOPLAZIC.....	12
1.5 APLICAȚII CLINICE.....	19
2. ADENOCARCINOMUL DUCTAL PANCREATIC (PDAC)	
2.1 DEFINIȚIE, EPIDEMIOLOGIE, FACTORI DE RISC.....	26
2.2 MARKERI TUMORALI ASOCIAȚI PDAC.....	29
2.3 TNM, STADII TUMORALE ÎN PDAC.....	33
2.4 ANGIOGENEZA ÎN PDAC.....	35
2.5 PARTICULARITĂȚI HISTOLOGICE ALE PDAC.....	37
3. TEHNICI DE IMUNOHISTOCHEMIE	
3.1 GENERALITĂȚI.....	40
3.2 MARKERI ANGIOGENICI.....	42
4. TEHNICI DE MORFOMETRIE	
4.1 GENERALITĂȚI.....	45
4.2 CUANTIFICAREA DENSITĂȚII MICROVASCULARE.....	49
PARTEA SPECIALĂ (CONTRIBUȚII PROPRII)	
5. TIPUL DE STUDIU ȘI OBIECTIVE	51
6. MATERIAL ȘI METODE	
6.1 MATERIAL.....	53
6.2 METODE	
6.2.1 STUDIU DE IMUNOHISTOCHEMIE.....	57
6.2.2 STUDIU DE MORFOMETRIE.....	60
6.3 VARIABILE DE STUDIU ȘI ANALIZĂ STATISTICĂ.....	65
7. REZULTATE	71
8. DISCUȚII	87
9. CONCLUZII FINALE	95
10. BIBLIOGRAFIE	97

CUVINTE-CHEIE: Adenocarcinom pancreatic ductal, angiogeneza, densitate microvasculară, anticorp CD31, metoda hot-spot

INTRODUCERE

Adenocarcinomul pancreatic ductal este recunoscut ca fiind una din cele mai agresive forme de neoplazie și reprezintă actual a 5-a cauză de deces prin cancer după cancerul gastric, mamar, bronhopulmonar și de prostată. [75,76] La momentul diagnosticului aproximativ 85% din pacienți prezintă stadiu avansat de boală cu invazie locală și/sau metastaze astfel încât rezecția chirurgicală cu intenție curativă nu mai constituie o opțiune terapeutică. [77]

Adenocarcinomul pancreatic ductal prezintă două caracteristici principale. În primul rând, acest tip de neoplazie este înalt invaziv și rezistent la radio-chimioterapia convențională, iar în al 2-lea rând prezintă o stromă densă, bogată în fibre de colagen, matrice proteică extracelulară, fibroblaști și celule inflamatorii care poartă denumirea de reacție desmoplastică. [112] Prima caracteristică pare a fi consecința celei de a 2-a, întrucât bariera mecanică peritumorală poate reprezenta motivul pentru care adenocarcinomul pancreatic ductal este una din formele de cancer rezistente la tratamentul convențional.

Matricea fibroasă acumulează o cantitate mare de acid hialuronic, amplificând presiunea lichidului interstitial și producând colabarea rețelei vasculare tumorale. În aceste circumstanțe, medicația chimioterapică pătrunde greu la nivel intratumoral.[176] Stroma densă care înconjoară celulele tumorale creează un micromediu special caracterizat de hipoxie și deficit de nutrienți. Aceste condiții permit selecția celor mai agresive celule tumorale. [175] Celulele pancreatice stelate dețin principalul rol în formarea stromei tumorale și totodată par a fi responsabile de slaba vascularizație a acestei neoplazii. [128,129]

Prezentul studiu a fost susținut financiar cu fonduri provenite din Fondul Social European – Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013,

proiectul „Creșterea calității și vizibilității rezultatelor cercetării științifice a doctoranzilor cu frecvență prin acordarea de burse doctorale”, contract POSDRU/107/1.5/S/82705.

ANGIOGENEZA ÎN ADENOCARCINOMUL PANCREATIC DUCTAL

Deși angiogeneza este considerată un factor esențial în creșterea tumorală și metastazare, acest proces de formare de noi vase pornind de la un precedent vascular rămâne un subiect de controversă în cazul adenocarcinomului pancreatic. [1-3]

Studiile de cercetare în domeniul angiogenezei tumorale pancreatice sunt limitate. Totuși este cunoscut faptul că acest tip de neoplazie prezintă neovascularizație redusă. [111,112] Comparativ cu alte tipuri de neoplazii, PDAC este mai puțin vascularizat și perfuzat. [113] În plus, gradul de vascularizație al PDAC este mai redus comparativ cu afecțiuni pancreatice non-maligne precum pancreatita cronică. [114] Pe lângă faptul că angiogeneza este slab exprimată în PDAC, capilarele nou formate au un grad de permeabilitate foarte ridicat, favorizând pătrunderea în circulație a celulelor tumorale. [115]

Angiogeneza apreciată prin măsurarea densității microvasculare tumorale s-a dovedit a fi asociată cu un prognostic rezervat în numeroase neoplasme maligne precum cel rectal [177], mamar [169,179,180], gastric [178] și pulmonar [181].

În literatura de specialitate există *date controversate* pentru adenocarcinomul pancreatic ductal. Deși au fost raportate câteva studii care demonstrează o asociere pozitivă între prognostic și densitatea microvasculară [113,172,182,183], alte studii au demonstrat contrariul. [184] Prognosticul cancerului pancreatic pare a fi independent de angiogeneza.

Mai degrabă hipoxia intratumorală pare a fi direct asociată cu dezvoltarea tumorală, invazia și metastazarea. [119,120]

TIPUL DE STUDIU ȘI OBIECTIVE

Prezentul studiu supune cercetării fenomenul de angiogeneză în adenocarcinomul pancreatic ductal prin analiză imunohistochimică, morfometrică și imagine computerizată.

Concentrația de vase sangvine mici reflectă gradul de angiogeneză tumorală. Astfel, densitatea microvasculară este utilizată în prezentul studiu ca și marker al angiogenezei tumorale pancreatice.

S-a urmărit analiza densității microvasculare în cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal (la nivel intratumoral și peritumoral) și în cazuri de țesut pancreatic normal.

Pacienți diagnosticați cu adenocarcinom pancreatic, internați în Clinica de Chirurgie a spitalului Clinic Universitar Valencia-Spania au fost supuși intervențiilor chirurgicale de specialitate, iar piesele de exereză chirurgicală au reprezentat materialul de cercetare pentru prezentul studiu.

Au fost urmărite 60 de cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal și 30 de cazuri de țesut pancreatic normal.

Au fost constituite **3 loturi**:

Lotul I – Țesut pancreatic tumoral (adenocarcinom pancreatic ductal) **60 de probe**

Lotul II –Țesut pancreatic peritumoral (zona peritumorală a cazurilor de adenocarcinom pancreatic ductal) **30 de probe**

Lotul III –Țesut pancreatic normal (prelevat prin autopsie de la subiecți umani fără patologie pancreatică) **30 de probe.**

Obiectivele principale ale prezentului studiu includ:

1. Analiza principalilor parametri clinici și morfologici ai adenocarcinoamelor pancreatice ductale :
 - Studiul parametrilor clinici: sex, vârstă, topografia tumorii
 - Studiul parametrilor morfologici: dimensiune tumorală, formă histopatologică, grad de diferențiere, invazie vasculară și perineurală, afectare ganglionară, prezența sau absența metastazelor la distanță, stadiul tumoral.
2. Stabilirea corelațiilor semnificative statistic între parametrii clinici și morfologici investigați.

3. Identificarea tipului de vase și a gradului lor de maturare atât în cazurile de adenocarcinom pancreatic ductal (la nivel tumoral și peritumoral) cât și la nivelul fragmentelor de țesut pancreatic normal.
4. Individualizarea fenotipului angiogenic al adenocarcinoamelor pancreatice ductale în funcție de gradul lor de diferențiere histologică.
5. Analiza comparativă a densității și distribuției vaselor la nivel intratumoral, peritumoral și țesut pancreatic normal.

MATERIAL ȘI METODE

A. MATERIALUL CERCETAT

Studiul a fost efectuat pe un număr total de **60 de cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal**.

Materialul cercetat este reprezentat de **material uman** provenit de la pacienți internați în Spitalul Clinic Universitar Valencia, Spania, diagnosticați cu adenocarcinom pancreatic ductal și supuși unei intervenții chirurgicale de specialitate în cadrul Clinicii de Chirurgie a aceluiași spital.

Pacienții diagnosticați cu neoplasm pancreatic au fost supuși unei intervenții chirurgicale de tipul duodenopancreatectomie cefalică, splenopancreatectomie sau pancreatectomie totală cu mențiunea că nici un pacient nu a beneficiat de altă formă de tratament înaintea intervenției chirurgicale.

Pentru lotul control au fost utilizate **30 de probe de țesut pancreatic normal** prelevate în timpul autopsiilor pe subiecți umani.

B. METODE UTILIZATE

- *TEHNICA HISTOPATOLOGICĂ*

Piese de exereză chirurgicală au fost prelucrate în Laboratorul de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Universitar Valencia, fiind fixate în formaldehidă și ulterior incluse în blocuri de parafină.

Din blocurile de parafină au fost realizate secțiuni cu grosimi de 2-3 μm cu ajutorul echipamentului manual Beecher Instrument (Silver Springs, MD, USA).

Secțiunile histologice întinse pe lame au fost colorate standard cu Hematoxină-Eozină, de la nivelul lor fiind selecționate cele mai reprezentative zone pentru fiecare caz în parte (tumoral, peritumoral sau normal), fără necroză, fibroză sau alte modificări patologice ce ar fi putut conduce la modificarea rezultatelor.

• *TEHNICA IMUNOHISTOCIMICĂ*

Cele 60 de cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal și cele 30 de probe de țesut pancreatic normal au fost analizate imunohistochemic pentru evidențierea vaselor sangvine.

Celulele endoteliale au fost marcate cu ajutorul sistemului automatizat DAKO Autostainer și s-a utilizat markerul endotelial **CD31**.

Metoda de lucru a fost reprezentată de tehnica ABC sau metoda complexelor streptavidină-biotină (Avidin Biotinylated enzyme Complex).

Anticorpul primar monoclonal a fost utilizat la o diluție de 1:50 (DAKO Envision, Santa Cruz Biotechnology) și tratat anterior prin incubare în autoclav timp de 3 minute la 1,5 atmosfere și pH 6,1. După spălarea probelor de 3 ori cu soluție salină (TBS -Tris Buffered Saline), dezvoltarea s-a realizat cu DAB (diaminobenzidină), iar contra-colorarea cu hematoxină.

• *ANALIZA MORFOMETRICĂ*

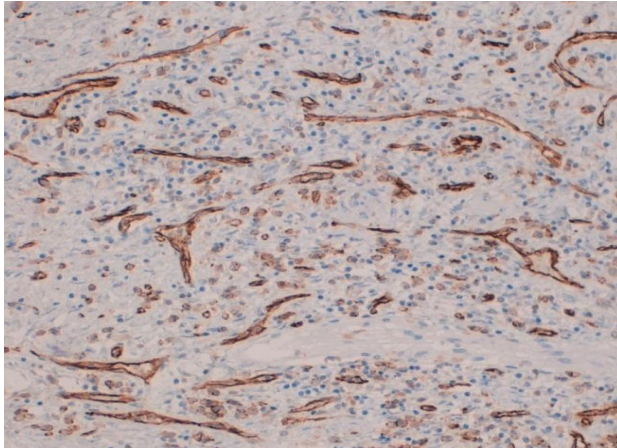
În scopul cuantificării vaselor de neoformație am utilizat **metoda "hot spot"** în conformitate cu metoda modificată a câmpurilor fierbinți a lui Weidner. [169]

După imunomarcarea cu CD31, fiecare caz în parte a fost evaluat cu scopul de a selecta zonele cu cea mai bogată vascularizație. În acest scop a fost utilizat microscopul digital Leica DMD 108.

Grupurile de celule colorate brun care se disting în mod evident de elementele din fundal, au fost considerate vase sangvine. Grupurile de celule pozitive pentru CD31, dar fără un lumen evident au fost considerate vase nediferențiate.

Pe secțiunile histologice, petele vasculare au fost identificate folosind obiectiv 4X și 10X, iar în final **5 zone egale** cu vascularizație importantă au fost fotografiate cu obiectiv 20X. (**fig.46**)

Fig.46. PDAC. Zonă intratumorală. CD31. X200



Studiul morfometric cantitativ a fost efectuat prin **analiza imaginii cu Image Pro-Plus 7.0** (Infaimon, Media Cybernetics). Eventualele artefacte au fost înlăturate manual.

Pentru fiecare caz în parte au fost măsurate aria și diametrul mediu al vaselor în conformitate cu următoarele **criterii**:

- **Capilare** diametru mediu **8-15 μ m**
- **Arteriole** diametru mediu **15-50 μ m**
- **Artere mici** diametru mediu **50-200 μ m**

Pentru **arie** s-a luat în considerare intervalul **0-600 μ m²**.

ANALIZA STATISTICĂ

A fost realizată cu ajutorul programului **SPSS 19** (Statistical Package for the Social Sciences) și au fost aplicate următoarele teste: Standard Error Bars (interval de încredere 95%), testul Student și testul Anova.

Testul Student a fost folosit pentru compararea diferențelor între 2 grupuri. Testul Anova a fost util pentru a compara între ele mai mult de 2 grupuri.

Datele sunt prezentate ca medie \pm deviația standard. *Pragul de semnificație statistică* ales a fost **p<0,05** (o diferență a lui p <0,05 între grupuri)

REZULTATE

A. STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL ADENOCARCINOAMELOR PANCREATICE DUCTALE

Pentru cele 60 de cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal, datele furnizate de fișele medicale și înscrisurile din buletinele de rezultate anatomopatologice au fost utilizate pentru a analiza: vârsta pacientului, sexul, tipul de intervenție chirurgicală practicat, localizarea tumorală, gradul de diferențiere tumorală, stadiul tumoral, invazia vasculară și perineurală, afectarea ganglionară, prezența sau absența metastazelor la distanță.

Datele obținute arată o incidență mai mare a adenocarcinomului pancreatic ductal la pacienți cu vârstă peste 60 de ani (75% din cazuri).

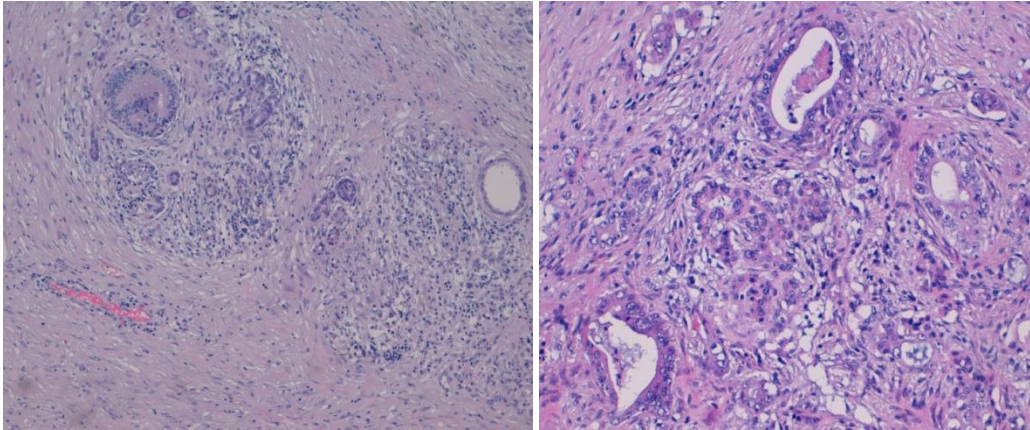
În ceea ce privește distribuția pe sexe a cazurilor studiate, majoritatea tumorilor maligne au fost diagnosticate la sexul masculin (63,3% din cazuri).

Tipul de intervenție chirurgicală a fost dictat îndeosebi de localizarea tumorală. Pentru cazurile studiate, principala localizare a fost cea cefalică (48 cazuri), astfel că intervenția chirurgicală a fost reprezentată de duodenopancreatectomia cefalică.

Analizând stadiul de progresie tumorală conform *AJCC 7th ed. 2010*, 34 de cazuri au prezentat stadiu III respectiv tumoră extinsă dincolo de pancreas fără invazia trunchiului celiac sau a arterei mezenterice superioare.

Am observat faptul că cele mai multe dintre adenocarcinoamele pancreatice ductale au fost tumori moderat diferențiate, în număr de 38 de cazuri, constituind mai mult de jumătate din cazuistica analizată. (**fig. 43**)

Fig. 43 PDAC moderat diferențiat. H-E. X200.X400



(Structuri asemănătoare ductelor pancreatice cu dimensiuni medii înconjurate de stromă fibroasă. Mucină prezentă intraductal)

Alți parametrii analizați au fost: afectarea ganglionară, invazia vasculară și perineurală și prezența metastazelor la distanță. La 66,6 % din cazuri metastazele ganglionare au fost prezente. 78,3 % din cazurile studiate au prezentat invazie vasculară și perineurală, iar metastaze la distanță au fost identificate într-un singur caz.

B. STUDIU IMUNOHISTOCHIMIC AL ADENOCARCINOAMELOR PANCREATICE DUCTALE

Densitatea vasculară am analizat-o folosind imunomarcajul CD31.

Studiul actual demonstrează existența unei *densități microvasculare mai vaste în lotul I comparativ cu lotul II și III. (fig.49, 50)*

Densitatea microvasculară în zonele intratumorale a fost semnificativ mai mare comparativ cu cea întâlnită în zonele peritumorale și țesutul pancreatic normal.

Numărul total de vase, numărul de capilare și numărul de arteriole a fost semnificativ mai mare în zona intratumorală față de zona peritumorală și țesutul pancreatic normal (p între 0,000 și 0,003 utilizând testul Anova și testul Student). **(fig.51)**

Fig.49,50. Numărul total de vase și numărul de capilare în cele 3 loturi: tumoral, peritumoral și normal

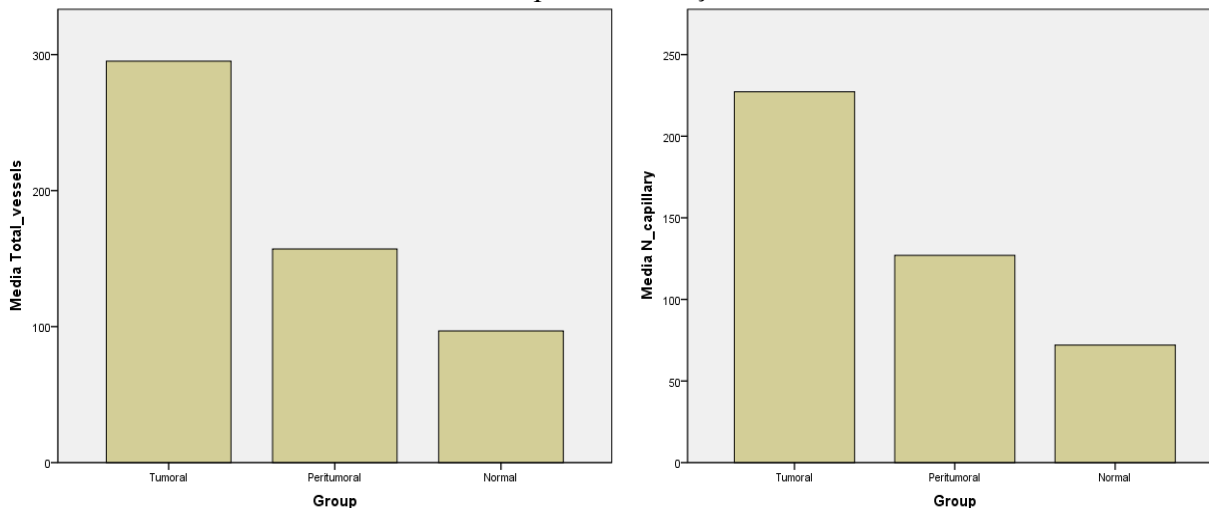
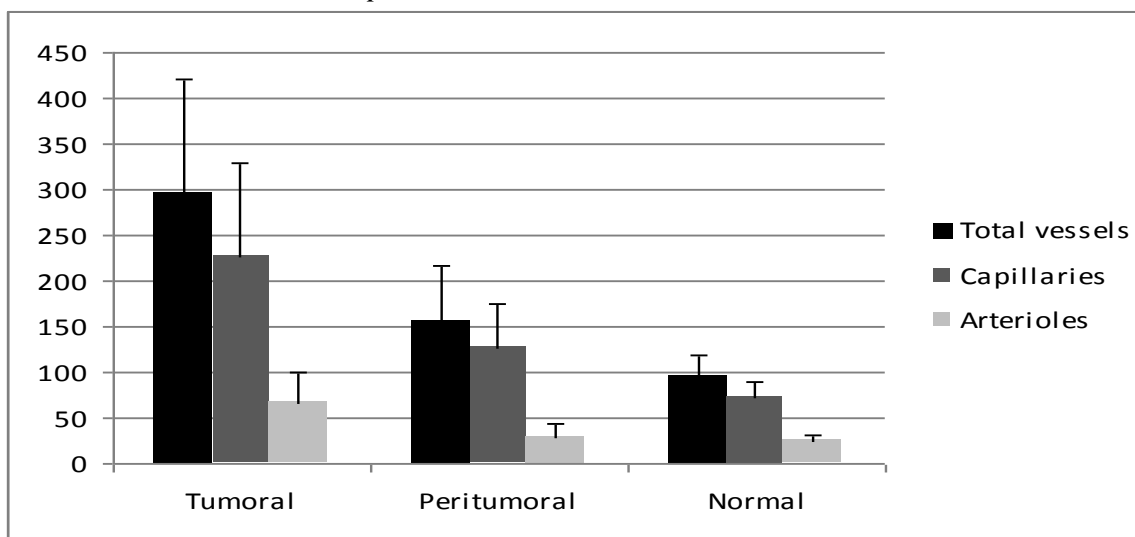


Fig.51 Numărul total de vase, numărul capilarelor și numărul arteriolelor în raport cu cele 3 loturi studiate



Tabelul nr.11, arată diferențele între cele 3 loturi studiate privind principalii parametrii vasculari.

Tab. 11 Valorile medii ale parametrilor vasculari în raport cu cele 3 loturi studiate

Parametru	N (n=30)	PT (n=30)	T (n=60)	N vs. PT*	N vs. T**	PT vs. T***
Vascular						
Numărul Total de vase	96.77 ± 21.358	157.07 ± 58.918	295.20 ± 126.172	P<0.000	P<0.000	P<0.000
Numărul de Capilare	72.00 ± 18.155	127.03 ± 48.868	227.23 ± 101.057	P<0.000	P<0.000	P<0.003
Numărul de Arteriole	24.43 ± 6.240	28.67 ± 15.379	67.28 ± 32.861	P<0.000	P<0.000	P<0.002

*Abrevieri: N=NORMAL(țesut pancreatic normal, fără leziuni); PT=PERITUMORAL (PDAC –Zonă peritumorală); T= TUMORAL (PDAC- Zonă intratumorală); * Analiză statistică comparativă între cazurile de pancreas normal și cazurile de PDAC zonă peritumorală (N vs. PT); **Analiză statistică comparativă între cazurile de țesut pancreatic normal și cazurile de PDAC zonă intratumorală (N vs. T); *** Analiză statistică comparativă între cazurile de PDAC zonă peritumorală și PDAC zonă intratumorală (PT vs. T).*

Corelații între parametrii vasculari și principalele caracteristici clinice și histopatologice

Studiul actual demonstrează o **asociere pozitivă între numărul total de vase și gradul de diferențiere tumorală (p<0,05).**

Mai precis, comparând **numărul total de vase** între cazurile de PDAC **bine diferențiat** și cazurile de PDAC **slab diferențiat**, valoarea lui **p** a fost de **0,015**.

O valoare a lui **p** de **0,032** a fost înregistrată în momentul comparației numărului total de vase între cazurile de PDAC **moderat diferențiat** și cele de PDAC **slab diferențiat**.

Analiza statistică nu a arătat asociere pozitivă între parametrii vasculari și celelalte caracteristici clinice și histopatologice precum: vârstă, sex, localizare tumorală, grad tumoral, invazie vasculară și perineurală, afectare ganglionară și metastaze la distanță.

DISCUȚII

Teoria angiogenezei tumorale a fost emisă în anul 1971 de către Judah Folkman și subliniază ideea că celulele tumorale nu se pot dezvolta în lipsa unei neovascularizații. Cercetările pe tema angiogenezei au cunoscut o reală intensificare și numeroase studii ale procesului angiogenic în diferite forme de neoplazie au fost realizate. Astfel, la ora actuală lumea medicală deține informații amănunțite referitoare la angiogeneza tumorală, fapt evidențiat de numărul mare de articole tip review care sumarizează toate aceste date. [170, 171]

Interesul cercetătorilor pentru studiul angiogenezei este amplificat de ideea că o cunoaștere amănunțită a acestui fenomen ar putea oferi cheia pentru dezvoltarea de noi terapii antineoplazice. Preocuparea este cu atât mai evidentă în cazul adenocarcinomului pancreatic, întrucât acest tip de cancer este unul dintre cele mai agresive și înalt invazive, ajungând rapid la stadiul de metastaze.

Cu toate acestea, în literatura de specialitate *studiile privind angiogeneza în adenocarcinomul pancreatic sunt mai puțin numeroase comparativ cu cele realizate pentru alte tipuri de neoplazii.*

Există studii care demonstrează ca densitatea microvasculară constituie un factor de prognostic în cancerul pancreatic [113,172,182,183] și altele care au demonstrat contrariul. [184]

Studiul lui Linder și colaboratorii a demonstrat că valorile densității microvasculare în tumorile pancreatice cu zone hot spot în parenchimul neoplazic sunt mai mari comparativ cu tumorile pancreatice în care zonele hot spot sunt situate în stroma desmoplastică.[188]

Studiul actual și-a propus analiza într-o manieră comparativă a densității microvasculare la nivel intratumoral și peritumoral pe eșantioane reprezentative de adenocarcinom pancreatic. Totodată, a analizat diferența de vascularizație între probele de adenocarcinom pancreatic ductal și cele de țesut pancreatic normal și a urmărit asocierea între principalele caracteristici clinice și histopatologice ale cazurilor tumorale analizate și valoarea densității microvasculare.

Am întâmpinat *dificultăți în alegerea markerului endotelial utilizat și a metodei de măsurare a densității microvasculare.* Nu există un marker endotelial perfect, dar cei mai

utilizați sunt CD31, CD34 și factorul von Willebrand (factorul VIII), utilizarea oricăruia dintre ei cunoscând avantajele și dezavantajele. Am optat pentru markerul CD31, așa cum recomandă Vermeulen și colaboratorii. [185]

În ceea ce privește metoda de măsurare a densității microvasculare, am ales metoda analizei computerizate a imaginilor. Marele avantaj al utilizării unui sistem computerizat este acela că permite analiza concomitentă a altor parametri precum aria vasculară și diametrul vascular. Pentru a crește acuratețea studiului, artefactele apărute în probele analizate au fost eliminate manual.

Studiul actual demonstrează o diferență semnificativă a densității microvasculare între zonele intratumorale și peritumorale ale adenocarcinomului pancreatic ductal, precum și între țesutul pancreatic tumoral și țesutul pancreatic normal.

Cel mai mare număr de vase mici de neoformație a fost evidențiat în zona intratumorală a eșantioanelor de adenocarcinom pancreatic ductal, demonstrând prezența unui proces angiogenic la acest nivel.

În plus, zonele peritumorale au prezentat un număr de vase mici de neoformație mai mare comparativ cu țesutul pancreatic normal demonstrând astfel influența procesului tumoral asupra regiunilor înconjurătoare.

Concluzionând, numeroasele discrepante privind criteriile de selecție ale cazurilor, tehnicile de colorare, markerul endotelial utilizat precum și metoda de măsurare a densității microvasculare aleasă, face dificilă o eventuală comparație a rezultatelor studiilor anterior publicate.

Datele similare din literatura de specialitate la care am avut acces au fost limitate, acesta reprezentând elementul de noutate oferit de prezenta lucrare.

CONCLUZII FINALE

- Adenocarcinomul pancreatic ductal reprezintă un factor important de morbiditate și mortalitate, ocupând locul cinci între cauzele de deces prin cancer după cancerul de gastric, mamar, bronhopulmonar și de prostată. Având în vedere prognosticul rezervat al pacienților diagnosticați majoritar în stadii avansate, dezvoltarea de noi terapii antineoplazice reprezintă actual un deziderat major al lumii medicale. Studiile de angiogeneză tumorală ar putea oferi cheia spre dezvoltarea unor noi strategii terapeutice.
- Actualul studiu a permis o analiză amănunțită a densității microvasculare într-o manieră comparativă utilizând eşantioane reprezentative pentru cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal (zona intratumorală și zona peritumorală) și țesut pancreatic normal. În plus, a fost realizată o corelație între parametrii vasculari și principalele caracteristici clinice și histopatologice ale cazurilor studiate.
- Studiul histopatologic a demonstrat repartiția predominantă a cazurilor de adenocarcinom pancreatic ductal la pacienți cu vârste peste 60 de ani și a arătat predominanța netă a acestei neoplazii în rândul populației de sex masculin. În cele mai multe cazuri formațiunea tumorală a fost localizată la nivelul capului pancreasului, stadiul de progresie tumorală a fost stadiul III cu invazie vasculară și perineurală dar fără metastaze la distanță. Histologic, cele mai multe cazuri de adenocarcinom pancreatic ductal au fost moderat diferențiate.
- Studiul imunohistochimic demonstrează o diferență semnificativă a densității microvasculare între zonele intratumorale și peritumorale ale adenocarcinomului pancreatic ductal, precum și între țesutul pancreatic tumoral și țesutul pancreatic normal. Cel mai mare număr de vase de neoformație au fost identificate la nivel intratumoral, demonstrând un proces angiogenic activ la acest nivel. Zonele peritumorale au înregistrat un număr de vase de neoformație mai mare comparativ

cu țesutul pancreatic normal, acest fapt dovedind influența procesului neoplazic asupra regiunilor învecinate.

- Analiza statistică a demonstrat o asociere pozitivă între numărul total de vase și gradul de diferențiere tumorală. Comparând numărul total de vase între cazurile de adenocarcinom pancreatic ductal bine diferențiat și slab diferențiat, valoarea lui p a fost de 0,015. Comparând același parametru vascular între cazurile de adenocarcinom pancreatic ductal moderat diferențiat și slab diferențiat, valoarea lui p a fost de 0,032. Nu a existat diferență semnificativă din punct de vedere statistic la compararea numărului de vase sangvine între cazurile de adenocarcinom pancreatic ductal bine diferențiat și moderat diferențiat.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Burri P, Hlushchuk R, et al. Intussusceptive angiogenesis: its emergence, its characteristics, and its significance. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists* 2004;231(3):474-88.
2. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Med* 2000;6:389-395.
3. Carmeliet P. Developmental biology. One cell, two fates. *Nature* 2000;408:43-45.
75. Ryu JK, Hong SM, Karikari CA et al. Aberrant MicroRNA-155 expression is an early event in the multistep progression of pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatology* 2010; 10:66-73.
76. Kesavan Y, Giovannucci E, Fuchs CS et al. A prospective study of magnesium and iron intake and pancreatic cancer in men. *Am J Epidemiol.* 2010;171:233-24.
77. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(2):71-96.
111. Koong AC, Mehta VK, Le QT, et al. Pancreatic tumors show high levels of hypoxia. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000;48:919-922.
112. Apte MV, Park S, Phillips PA, et al. Desmoplastic reaction in pancreatic cancer: Role of pancreatic stellate cells. *Pancreas* 2004; 29:179-187.
113. Ueda T, Oda T, Kinoshita T, et al. Neovascularization in pancreatic ductal adenocarcinoma: Microvessel count analysis, comparison with non-cancerous regions and other types of carcinomas. *Oncol Rep* 2002;9:239-45.
114. Rzepko R, Jaskiewicz K, Klimkowska M, et al. Microvascular density in chronic pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2003;41:237-9.
115. Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process. *Curr Mol Med* 2003;3:643-51.
119. Brizel DM, Scully SP, Harrelson JM et al. Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer Res.* 1996;56:941-943.
120. Hockel M, Schlenger K, Aral B, et al. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res.* 1996;56:4509-4515.
128. Masamune A, Shimosegawa T. Signal transduction in pancreatic stellate cells. *J Gastroenterol* 2009;44:249-60.
129. Erkan M, Reiser-Erkan C, Michalski CW, et al. Cancer stellate-cells interactions perpetuate the hypoxia fibrosis cycle in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Neoplasia* 2009;11:497-508.
169. Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density with breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer, Res Treat,* 1995,36:169-180
170. Weidner N. Angiogenesis as a predictor of clinical outcome in cancer patients. *Hum Pathol* 2003;31:403-405.
171. Weidner N. Tumor vascularity: what does it tell us about the growth and spread of cancer? In: D'Amore PA, Voest E, eds. *Tumor angiogenesis and microcirculation*, New York, NY: Marcel Dekker;2001: 465-486

172. Ikeda N, Adachi M, Taki T, et al. Prognostic significance of angiogenesis in human pancreatic cancer. *British Journal of Cancer* 1999;79:1553-1563
175. Vasseur S, Tomasini R, Tournaire R, et al. Hypoxia induced tumor metabolic switch contributes to pancreatic cancer aggressiveness. *Cancers* 2010;2:2138-2152.
176. Whatcott CJ, Han H, Posner RG, et al. Targeting the tumor microenvironment in cancer: Why Hyaluronidase Deserves a Second Look. *Cancer Discovery* 2011;1:291-296
177. Svagzdys S, Lesauskaite V, Pavalkis D, et al. Microvessel density as a new prognostic marker after radiotherapy in rectal cancer. *BMC Cancer* 2009; 9:95
178. Hong-Chuan Zhao, Rong Qin, Xiao-Xin Chen, et al. Microvessel density is a prognostic marker of human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006;12:7598-7603.
179. Ravazoula P, Hatjikondi O, Maragoudakis M, et al. Angiogenesis and metastatic potential in breast carcinoma. *The Breast* 1996;5:418-421
180. Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, et al. Microvessel density as a prognostic factor in women with breast cancer: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Cancer Res* 2004;64:2941-2955
181. Han H, Silverman JF, Santucci TS, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Stage I Non-Small Cell Lung Cancer Correlates With Neoangiogenesis and a Poor Prognosis. *Annals of Surgical Oncology* 2001;8:72-79
182. Takagi K, Takada T, Amano H. A high peripheral microvessel density count correlates with a poor prognosis in pancreatic cancer. *J Gastroenterol* 2005;40:402-8
183. Karademir S, Sokmen S, Terzi C, et al. Tumor angiogenesis as a prognostic predictor in pancreatic cancer. *J HepatobiliaryPancreatSurg* 2000;7:489-95.
184. Van der Zee JA, Van Eijck CH, Hop WC, et al. Angiogenesis: a prognostic determinant in pancreatic cancer? *Eur J Cancer* 2011;47:2576-84
185. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, et al. Quantification of angiogenesis in solid human tumors: in international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer* 1996;32:2474-84

Curriculum vitae

NUME: BARĂU
PRENUME: ANCA
DATA NAȘTERII: 27 Noiembrie 1985
NAȚIONALITATE: Română
ADRESĂ: Str. Ștefan Odobleja, Bl. a15, et. 3, Ap. 12, Craiova,
Dolj, Romania
TELEFON: +40741034807
E-MAIL: anca_barau@yahoo.com
PROFESIE: Medic Rezident Medicină Internă

STUDII LICEALE

2000 – 2004: Colegiul National „Elena Cuza” Craiova, secția Științele naturii. Absolvirea liceului cu diploma de bacalaureat seria T, eliberată cu nr. 0379179 - sesiunea iunie-iulie 2004.

STUDII UNIVERSITARE

2004: Admitere prin concurs la **Facultatea de Medicină Craiova**

2004-2010: **Facultatea de Medicină Craiova UMF Craiova**

2008: 1-31 august – **Tanta University Hospital** – General surgery - Tanta - **Egipt**

2009: 1-28 august – **Faculty Hospital Kramare** – General Surgery – Bratislava - **Slovacia**

2010: **Absolvent al Facultății de Medicină**, Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova,

cu titlul de medic doctor în profilul medicină.

2010 : 1 octombrie - admis studii doctorale în cadrul programului POSDRU ;

doctorand cu frecvență UMF Craiova,

2010 : **Medic Rezident Medicină Internă** , în urma concursului național de rezidențiat

din 21.11.2010

**2011- prezent: Medic Rezident Medicină Internă, Spitalul Clinic Județean de Urgență
Craiova**

**2012: 1 aprilie- 30 septembrie – Hospital Clinico Universitario Valencia, Spania
(departamentul de Anatomie Patologică)**

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE IN EXTENSO

- „Tumor markers for pancreatic adenocarcinoma”- Current Health Sciences Journal, Volume 39, Supplement 7, 2013 – prim autor
- „High microvessel density in pancreatic ductal adenocarcinoma is associated with high grade”- Virchows Archiv, The European Journal of Pathology, Volum 462, Numărul 5, 2013 – prim autor
- „Why pancreatic cancer is highly invasive and drug-resistant?”- Current Health Journal, Volume 39, Supplement 3, 2013 – prim autor
- „Particularități clinice și paraclinice la pacienții cu boală hepatică alcoolică”- Revista de Medicină Internă, nr.6 , 2011 – prim autor

LUCRĂRI PUBLICATE ÎN REZUMAT ÎN VOLUMELE MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE

- “Benign cysts of the upper splenic pole – laparoscopic management in 2 cases” MEDIS 2010 – Timisoara
- “Comparative study of systemic bronchitis inflammation in patients with severe and very severe COPD with or without alfa1-antitrypsin” CIMSC 2008 – Craiova
- “Materialele sintetice in cura eventratiilor postoperatorii” MARSIENSIS 2008 – Tg. Mures
- ‘The main cutaneous manifestations at the patients with chronic B hepatitis’ ICMS 2007 – Sofia – Bulgaria
- ‘The incidence of the vasculitis syndromes at the patients with B chronic Hepatitis’ CONGERSSIS 2007 – Iasi
- ‘Manifestările cutanate frecvent întâlnite le pacienții cu hepatită cronică B’ Conferința națională pentru studenți și tineri medici 2007- Craiova

- “Studiul circulației venoase bronhice la plămânu de om” Congresul National pentru Studenti si Tineri Medici 2006 – Bucuresti

PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE, CONGRESE, SIMPOZIOANE ȘI WORKSHOPURI

- 27.04.2012- “101 Reunio de la Societat de Patologia de la Comunitat Valenciana”
- Xativa, Spania
- 19-21.05.2010 – 3rd International Medical Congress for Students and Young Doctors
“MedEspera”– Chișinău - Republica Moldova
- 22-25.04.2010 – 14th International congress for medical students and young doctors –
Timișoara
- 20-23.11.2008 – 10th Craiova International Students’ Conference – Craiova
- 17-20.04.2008 – Congresul Internațional de Comunicări Științifice pentru studenți,
tineri medici si farmaciști “MARSIENSIS” ediția 12- Tg. Mures
- 10-13.05.2007 – 6th International congress of Medical Sciences for students and young
doctors – Sofia – Bulgaria
- 29.03-1.04.2007 – 4th International congress for medical students and young doctors
– Iași
- 15-18.03.2007 - Conferința națională pentru studenți și tineri medici ediția a 8-a
– Craiova
- 23-26.11.2006 – Congresul national pentru studenți și tineri medici ediția a 10-a
– București