

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ -
ПЛЕВЕН**

Факултет Медицина

КАТЕДРА «ПРОПЕДЕВТИКА НА ХИРУРГИЧЕСКИТЕ БОЛЕСТИ»

Д-р Паулина Трифонова Владова

**ГАСТРОЕНТЕРОПАНКРЕАСНИ НЕВРОЕНДОКРИННИ
ТУМОРИ - РОЛЯ НА ИМУНОХИСТОХИМИЧНАТА
ЕКСПРЕСИЯ НА СОМАТОСТАТИНОВИ РЕЦЕПТОРИ 2 И
5 И ХИРУРГИЧНА РАДИКАЛНОСТ ПРИ РАЗЛИЧНИ
ЛОКАЛИЗАЦИИ**

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

**за присъждане на образователна и научна степен
„ДОКТОР”**

професионално направление 7.1. „Медицина”,
научна специалност 03.01.37 „Обща хирургия”

Научни ръководители: *Доц. Сергей Илиев, дм*
Проф. Савелина Поповска, дмн
Официални рецензенти: *Проф. д-р Димитър Стойков, дмн*
Проф. д-р Соня Сергиева, дмн

ПЛЕВЕН

2019г.

Дисертационният труд е написан на 140 стандартни страници. От които на 24 страници са представени използваните литературни източници. Библиографската справка включва 279 автори - 10 на кирилица и 269 на латиница. Материалът е онагледен с 30 фигури, 30 таблици и 8 приложения.

Дисертационният труд е обсъден, приет и насочен за защита от Катедрения съвет на Катедра Пропедевтика на хирургическите болести при Медицински университет-Плевен.

Дисертантът работи като лекар-асистент в Клиника по гнойно-септична хирургия и колопроктология към УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД, Плевен, Катедра Пропедевтика на хирургическите болести, МУ-Плевен.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 13.05.2019 г. от 12.00 часа в зала „Амброаз Паре“ на МУ- Плевен, съгласно Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности с Медицински университет-Плевен и въз основа на Заповед № РК 674/06.03.2019г. на МУ-Плевен, пред научно жури в състав:

Председател:

Проф. Д-р Димитър Стойков, дмн

Членове:

Доц. д-р Сергей Илиев, дм

Проф. д-р Соня Сергиева, дмн

Проф. д-р Кирил Драганов, дмн

Проф. д-р Никола Владов, дмн

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ-Плевен.

БЛАГОДАРЯ:

На семейството ми, че го има!

На ръководителя ми, доц. Илиев, че ме избра!

На Севдалина за вярата и безотказната подкрепа!

На Ивелина за чистата всеотдайност!

На д-р Станимиров за събуждането!

На д-р Пресолски за доверието!

На Тереза и доц. Иванов за професионализма!

На проф. Поповска за критиките!

На доц. Ставрева за разбирането!

На проф. Томов за институцията „Медицински Университет“

На д-р Бетова за съветите!

На Йоана, Силвия и Михаела за приятелството!

На проф. Сергиева за идеите и корекциите.

На всички останали, които не споменах, защото

„Благодарността ни събужда за истината, че зависим едни от други“.

Дзенбудистка мъдрост

Дисертационният труд посвещавам в памет на д-р Върбан Стоянов (1991 - 2014).

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ.....	9
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	11
1. Цел.....	11
2. Задачи.....	11
III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	12
1. Изследван контингент.....	12
2. Източници на информация.....	13
2.1. Епидемиологични методи.....	13
2.2. Имунохистохимичен метод.....	13
2.2.1. Хистологична интерпретация.....	14
2.3. Статистически методи.....	15
IV. РЕЗУЛТАТИ.....	16
V. ОБСЪЖДАНЕ.....	44
VI. ИЗВОДИ.....	56
1. Изводи, отнасящи се до епидемиологията и класификацията на ГЕП-НЕТ-и.....	56
2. Изводи, отнасящи се до имунохистохимичната експресия на соматостатинов рецептор 2 и 5.....	56
3. Изводи, отнасящи се до хирургичното лечение на ГЕП-НЕТ-и.....	57
VII. ПРИНОСИ	
1. Приноси с научен характер.....	57
2. Приноси с приложен характер.....	58
VIII. ПРАКТИЧЕСКИ ПРИЛОЖЕНИЯ.....	59
IX. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	68

ТАБЛИЦИ В ТЕКСТА

Таблица № 1: Видове оперативни интервенции

Таблица № 2: Приложени антитела.

Таблица № 3: Таблица на общата преживяемост по Каплан-Майер.

Таблица № 4 : Честотно разпределение на пациентите по големина на тумора (TNM класификация).

Таблица № 5: Сравнителен анализ на общата преживяемост според големината на тумора (TNM класификация).

Таблица № 6: Честотно разпределение на пациентите по диференциация на тумора.

Таблица № 7: Сравнителен анализ на общата преживяемост според диференциация на тумора (TNM класификация).

Таблица № 8: Честотно разпределение на пациентите по хистологичен вид.

Таблица № 9: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя хистологичен вид.

Таблица № 10: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя метастатични лимфни възли.

Таблица № 11: Сравнителен анализ на общата преживяемост според вида на операцията.

Таблица № 12: Честотно разпределение на пациентите по стадий на заболяването.

Таблица № 13: Сравнителен анализ на общата преживяемост според стадия на заболяването.

Таблица № 14: Сравнителен анализ на общата преживяемост според Ki-67 индекса.

Таблица № 15: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 2.

Таблица № 16: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 5.

Таблица № 17: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5.

Таблица № 18: Отношение на рисковете и 95% ДИ на карциноидния синдром, диференциацията на тумора, хистологичният вид на тумора, стадий на заболяването, локализацията на тумора и пола за експресията на соматостатинов рецептор 2.

Таблица № 19: Отношение на рисковете и 95% ДИ на карциноидния синдром, диференциацията на тумора, хистологичният вид на тумора, стадий на заболяването, локализацията на тумора и пола за експресията на соматостатинов рецептор 5.

Таблица № 20: Честотно разпределение на пациентите по години на диагностициране

ФИГУРИ В ТЕКСТА

Фигура № 1: Разпределение на участниците в проучването по пол и възрастови групи.

Фигура № 2: Функция на общата преживяемост.

Фигура № 3: Функция на риска за екзитиране.

Фигура № 4: Функции на общата преживяемост според показателя големина на тумора.

Фигура № 5: Функции на общата преживяемост според показателя диференциация на тумора.

Фигура № 6: Функции на общата преживяемост според показателя хистологичен вид.

Фигура № 7: Функции на общата преживяемост според показателя метастатични лимфни възли.

Фигура № 8: Функции на общата преживяемост според показателя вид на операцията.

Фигура № 9: Функции на общата преживяемост според фактора стадий на заболяването.

Фигура № 10: Функции на общата преживяемост според индекса Ki-67.

Фигура № 11: Функции на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 2.

Фигура № 12: Функции на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 5.

Фигура № 13: Функции на общата преживяемост според показателя едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5.

Фигура № 14: ROC крива на възрастта за определяне праговата й стойност при отграничаването на пациентите с и без експресия на соматостатинов рецептор 2 (площ под кривата 0,625, $p=0,257$).

Фигура № 15: ROC крива на възрастта за определяне праговата й стойност при отграничаването на пациентите с и без експресия на соматостатинов рецептор 5 (площ под кривата 0,650, $p=0,193$).

Фигура № 16: Честотно разпределение на невроендокринните тумори за периода на изследване.

Фигура № 17: Честотно разпределение на починалите за периода на изследване.

Фигура № 18: Динамика на средната аритметична на онкологичния стадий за периода на изследване.

Фигура № 19: Динамика на средната аритметична на възрастта за периода на изследване.

Фигура № 20: Честотно разпределение на пациентите по локализация на тумора.

Фигура № 21: Честотно разпределение на пациентите по експресия на соматостатинов рецептор 2.

Фигура № 22: Честотно разпределение на пациентите по експресия на соматостатинов рецептор 5 (липсват данни за един от пациентите).

Фигура № 23: Честотно разпределение на пациентите по фокална и дифузна експресия на соматостатинов рецептор 2.

Фигура № 24: Честотно разпределение на пациентите по фокална и дифузна експресия на соматостатинов рецептор 5.

Фигура № 25: Честотно разпределение на пациентите по възраст.

Фигура № 26: Честотно разпределение на пациентите по полова принадлежност.

Фигура № 27: Честотно разпределение на пациентите по хистологичен вид.

Фигура № 28: Честотно разпределение на пациентите по онкологичен стадий.

Фигура № 29: Честотно разпределение на пациентите по индекс Ki-67.

Фигура № 30: Честотно разпределение на пациентите по диференциация.

Използвани съкращения в текста

NET-и - Невроендокринни тумори

MEN1 - Множествена ендокринна неоплазия тип 1

VHL - Синдром на von Hippel-Lindau

SEER - Програма за проследяване на онкологични заболявания в САЩ

ГЕП-NET-и - Гастроентеропанкреатични невроендокринни тумори

ENETS - Европейска асоциация по невроендокринни тумори

HEK - Невроендокринни карциноми

NANETS – Северноамериканска асоциация за невроендокринни тумори

TMC - Тироиден медуларен карцином

MINEN - Смесени невроендокринни –неневроендокринни неоплазми

CgA - Хромогранин А

Sph - Синаптофизин

ECL - Ентерохромафиноподобни клетки

CTCs - Циркулиращи туморни клетки

PNETs - Панкреасни невроендокринни тумори

SSA - Аналози на соматостатина

SSRs - Соматостатинови рецептори

SST - Соматостатин

SRIF - Соматотропен фактор за инхибиране на освобождаването

GH - Растежен хормон

SST2 - Соматостатинов рецептор 2

SST5 - Соматостатинов рецептор 5

G-NET - Стомашни невроендокринни тумори

GCs- Стомашни карциноиди

PRRT - Пептидна рецепторна радионуклидна терапия

P-NET – Невроендокринни тумори на панкреаса

RFTs - Функционално активни панкреасни тумори

NF-PNETs - Функционално неактивни панкреасни тумори

SI-NENs - Невроендокринни неоплазми на тънко черво

INETs – Йеунални невроендокринни тумори

NEN - Невроендокринни неоплазми

NET – Диференцирани невроендокринни тумори

NEC – Слабо диференцирани невроендокринни карциноми

WHO – Световна здравна организация

EMR - Ендоскопска резекция на лигавицата

ESD - Ендоскопска мукозна резекция, ендоскопска субмукозна дисекция

TEMS - Трансанална ендоскопска микрохирургия

СЗО - Световна здравна организация

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Невроендокринните тумори (НЕТ-и) са спектър от редки и хетерогенни неоплазми с различно функционално и биологично поведение. Те възникват от клетки на дифузната невроендокринна система, разположени в почти всеки орган. [82] Най- често срещаната първична локализация на НЕТ-и е гастроентеропанкреатичната система (около 70%) и белия дроб (повече от 25%), отразяваща високата плътност на невроендокринните клетки в тези органи. [82, 263] Могат да бъдат функционално активни и функционално неактивни. [110] Първата група НЕТ-и секретират панкреатичен полипептид, хромогранин А, неврон-специфична енолаза, невротензин или други неспецифични пептиди, но те не отговарят на дефиницията за функционално активни тумори, тъй като не се манифестират със специфични клинични синдроми. Принадлежащите, към втората група НЕТ-и, свръхекспресират специфични хормони и водят до различни клинични синдроми. Върху тази основа се изгражда класифицирането на този вид НЕТ-и на карциноиден синдром, инсулиноми, гастриноми и др. Те обикновено се откриват по-рано, поради наличието на типични хормонални синдроми, докато функционално неактивните - в напреднал стадий на заболяването, поради липсата на специфични симптоми и наличието на нехарактерни такива, като жълтеница, болка, чревна обструкция, палпируеми маси и др. [240, 164, 254]

Невроендокринните тумори са спорадични и засягат хора във възрастовия диапазон 50-60 години. Могат да се проявят и при по-млади пациенти под формата на множествени лезии или като част от генетични синдроми, като например множествена ендокринна неоплазия тип 1 (MEN1), синдром на von Hippel-Lindau (VHL), неврофиброматоза тип 1 и туберкулозна склероза. [52, 244] Честотата на тези синдроми варира от много ниска (<1%) за карциноидните тумори до висока (80-100%) за панкреатични ендокринни тумори (инсулином 5-20%, гастрином 25-30%, нефункциониращ тумор > 50%). [205] Известни са и няколко случая на фамилно клъстеризиране, характеризиращи се с още по-ранно начало. [143, 83]

Въпреки че тези тумори са рядкост, по последни данни от достъпната до нас медицинска литература, тяхното разпространение в световен мащаб изглежда се е увеличило. Честота им на разпространение варира от 3,24 /

100 000 в Северна Европа [82] до 5,25 / 100 000 в САЩ. [263] По-специално, в базата данни за проследяване на онкологични заболявания в САЩ(SEER), годишната честота, коригирана въз основа на възрастта, се е увеличила от 1,09 / 100 000 през 1973 г. на 5,25 / 100 000 през 2004 г. [263] Подобно значително увеличение с течение на времето се съобщава и от други автори в различни географски райони. [81, 246] Данните за епидемиологията са непълни, поради изключителната хетерогенност на класификацията в различните страни, различните методи за идентификация на пациентите и липсата на популационни бази данни в повечето страни. Освен това, разпределението на НЕТ-и според първичната локализация е различно в различните географски области и отразява възможните етнически или генетични разлики. [82, 263, 81, 246, 178, 32] Те изглеждат уместни, като се има предвид, че честота, характеристиките и биологичното им поведение са силно хетерогенни в зависимост от топика на произхода им.

Няколко рискови фактора са с доказана роля за развитието на невроендокринните тумори. На първо място е поставена анамнезата за такова заболяване в семейството, а след това по тежест се нарежда метаболитният синдром. Тютюнопушенето и консумацията на алкохол също са свързани с повишен риск от поява на невроендокринен тумор, особено за определени анатомични локализации. [105, 133] По-специално табакизмът е идентифициран като рисков фактор за развитие на НЕТ-и на тънки черва, панкреас и някои видове бронхиални невроендокринни неоплазми, докато употребата на алкохол представлява рисков фактор за НЕТ-и на ректум и панкреас. В обобщение, рисковите фактори за развитието на НЕТ-и в стомашно-чревния тракт се припокриват с тези, предразполагащи към неневроендокринни ракови заболявания. [134]

През последните пет години в страната беше създаден регистър за редки заболявания, свързан с изготвяне и предоставяне на актуална и прецизна информация за пациенти, диагностицирани с НЕТ-и . Изработиха се две ръководства, базирани на доказателства, подготвени от Национален експертен борд – МОРЕ 2012 и МОРЕ 2018. Създадох се два национални специализирани центъра за невроендокринни тумори - УМБАЛ „Царица Йоанна” - гр. София и УМБАЛ „Света Марина” - гр. Варна, в които се извършват лабораторни тестове за хромогринин А и целотелесно изобразяване чрез соматостатин - рецепторно скениране (Octreoscan).

Въпреки усилията и видния професионален ентузиазъм, в страната ни, към момента липсва реално действащ регистър за НЕТ-и, както и алгоритми и стандарти за поведение при този вид патология. Това от своя страна води до непрецезирано и ненавременно лечение на пациенти с НЕТ-и. Тези факти формираха идеята за разработването на този дисертационен труд. От една страна да набележи основните проблеми в диагностиката и лечението на НЕТ-и, в частност на ГЕП- НЕТ-и, а от друга страна да внесе известна яснота и задълбоченост при тези заболявания.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. ЦЕЛ

Целта на настоящия труд е да се проучи и анализира честотата, системите за класификация, стадирането, биомаркерите, имунохистохимичната експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5, както и хирургичното лечение при пациенти с гастроентеропанкреасни невроендокринни тумори.

2. ЗАДАЧИ

За постигането на тази цел си поставихме следните задачи:

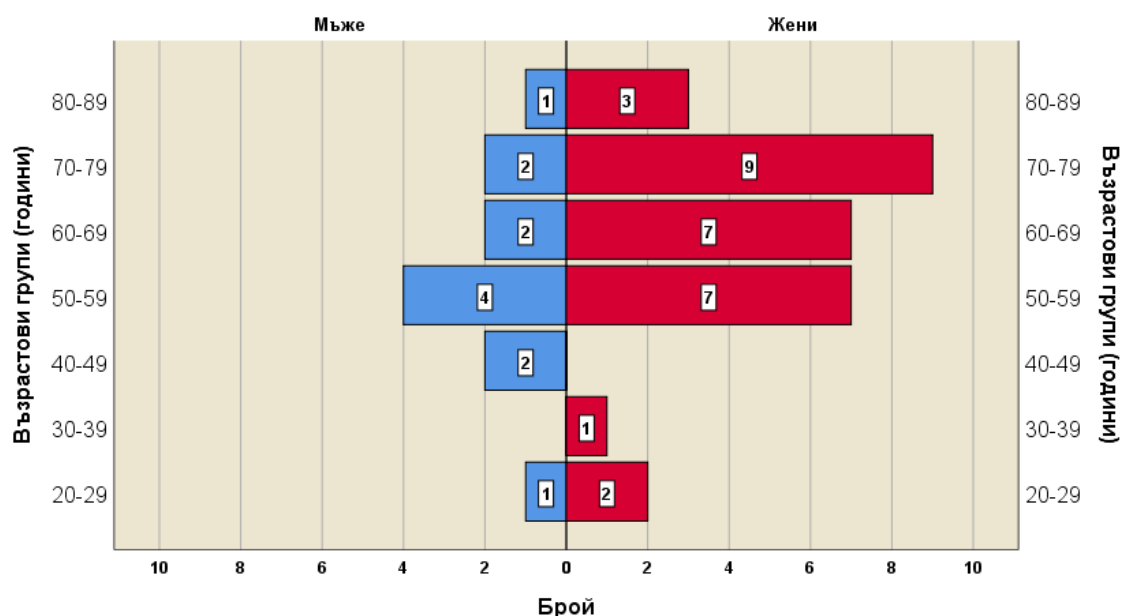
1. Да се изследва имунохистохимичната експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5 и да се определи тяхната роля в лечението и прогнозата на пациентите с гастроентеропанкреасните невроендокринни тумори.
2. Да се анализират случаите на гастроентеропанкреасни невроендокринни тумори в хирургичните звена на „УМБАЛ Д-р Георги Странски“ – гр. Плевен за периода 2010 - 2018 година по отношение на честота, преживяемост, стадиране и оперативното лечение.
3. Да сравним нашите резултати с данните от световната литература.
4. Да се анализира обема и вида на хирургичното лечение в изследваните от нас случаи, сравнявайки ги с европейските препоръки за оперативно лечение.
5. Да се предложи единна стратегия и алгоритми в лечението и проследяването на пациентите с ГЕП- НЕТ-и.

6. Да се предложи единен регистър за НЕТ-и, базиран на унифицирани клинични протоколи за диагностика и поведение.
7. Да се подпомогне създаването на специализирани центрове за НЕТ-и в България, реферирани от Европейската асоциация по невроендокринни тумори.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Изследван контингент

Проучването е ретроспективно, едноцентрово, обхващащо периода 2010- 2018 година. В него са участвали 41 пациента с диагностицирани гастроентеропанкреасни невроендокринни тумори в хирургичните звена на „УМБАЛ Д-р Георги Странски“ – гр. Плевен, със средна възраст $62,54 \pm 15,97$ години в диапазона 24-86 години. От тях 12 (29,3%) са мъже и 29 (70,7%) жени. Възрастовата група с най- голяма численост (4) при мъжете е 50-59 години, следвана от 40-49, 60-69 и 70-79 години с по 2, а с най- малка (1) – 20-29 и 80-89 години. Във възрастова група 30-39 години мъже няма. При жените с най- голяма численост (9) е възрастова група 70-79 години, следвана от 50-59 и 60-69 години с по 7, а с най- малка (1) 30-39 години. Във възрастова група 40-49 години жени не са представени (фиг. 1).



Фигура № 1: Разпределение на участниците в проучването по пол и възрастови групи

2. Източници на информация

Като основен източник на информация са използвани данни от Регионалния раков регистър в град Плевен. Проучени са историите на заболяванията на 41 пациента, включени в обследването. [Приложение № 6] От тях са селектирани подходящи хистологични материали за имунохистохимично изследване на експресията на соматостатинови рецептори 2 и 5.

2.1. Епидемиологични методи

Използвана е информация за пол, възраст на пациента, хистологичен вид на тумора, TNM – класификация, дата на диагностицирането, дата на смъртта, локализация, диференциация, размер на тумора, наличие или отсъствие на карциноиден синдром, както и вида на извършената оперативна интервенция или липсата на такава.

В таблица № 1 е посочено процентното разпределение на пациентите, при които е извършено радикално оперативно лечение, при тези, при които е извършено палиативно такова, както и случаите на диагностична биопсия, поради неоперабилност.

Таблица № 1: Видове оперативни интервенции

Радикални интервенции (19 случая, 46.34%)	Палиативни интервенции (15 случая, 36.59%)	Биопсия (7 случая, 17.07%)
Дясна хемиколектомия	апендектомия	стомах
Дуоденохемипанкреатектомия a modo Whipple	Частична резекция на тънко черво	дебело черво
Апендектомия		панкреас
Ампутация на ректум по метода на Майлс		

2.2. Имунохистохимичен метод

Профили (3 mm) от туморна тъкан бяха депарафинизирани в ксилен и рехидратирани в алкохолен разтвор. След това срезове бяха поставени в 0.5% водороден пероксид в метанол в продължение на 10 минути, за да се блокира ендогенната пероксидазна активност. Беше извлечен

микровълнов антиген в продължение на 20 минути в цитратен буфер. Имунохистохимичното оцветяване беше реализирано с помощта на откриващата система NovoLink полимер (Novocastra, Leica Microsystems, Milton Keynes, UK). Секция от всяка тъканна проба бяха инкубирани със (заешко анти-SSTR2 антитяло (UMB1, Abcam; ab9550) и заек анти-SSTR5 антитяло (UMB4, Abcam; ab28618) при разреждане 1: 100 за 1 час при стайна температура. След това пробите бяха подложени на пост-първичен блок в продължение на 30 минути, последван от NovoLink полимер в продължение на 30 минути във влажна камера при стайна температура.

Реакционните продукти бяха визуализирани при използване на пряко приготвен разтвор на NovoLink DAB (3,3'-диаминобензидин тетраhydroхлорид) в продължение на 10 минути чрез добавяне на 50 ml DAB хромаген към 1 ml буфер за субстрат на Novolink DAB. Слайдовете бяха оцветени с хематоксилин на Mayer и бяха монтирани. Нормалната панкреатична тъкан беше използвана за вътрешна положителна контрола. Полуколичественият анализ на оцветените срезове беше извършен от независим патолог, използвайки DAKO HER2 / neu оценка.[198]

Таблица № 2: Приложени антитела.

Антитела	Код №	Производител	Разреждане	Клоналност	Клон
Anti-Somatostatin Receptor 2 antibody	ab9550	abcam	1:100	Заешко-поли	-
Anti-Somatostatin Receptor 5 antibody	ab28618	abcam	1:100	Заешко-поли	-

2.2.1. Хистологична интерпретация

За оценка на SSTR2 и SSTR5 имунопозитивността беше използвана модифицирана система за оценка, стандартизирана и предложена от Volante et al. Системата за оценяване е както следва: 0, липса на имунореактивност; 1, чиста цитоплазмена имунореактивност, или фокална, или дифузна; 2, мембранна реактивност при <50% от туморните клетки, независимо от наличието на цитоплазмено оцветяване; и 3, периферна мембранна реактивност при > 50% от туморните клетки, независимо от

наличието на цитоплазмено оцветяване. Случаите с резултат от 2-3 се считат за положителни, а 0-1 се считат за отрицателни. Впоследствие всички несъответстващи резултати бяха прегледани отново, за да се постигне съгласие или да се определи средна стойност за оспорвани резултати. За контрола на двата рецептора беше използвана нормална панкреасна тъкан.

2.3. Статистически методи

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 25.0. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p < 0.05$.

Бяха приложени следните методи:

1. **Дескриптивен анализ** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
2. **Вариационен анализ** – за оценка на характеристиките на централната тенденция и статистическо разсейване.
3. **Графичен анализ** – за визуализация на получените резултати.
4. **ROC curve** – за определяне на прагови стойности при количествени променливи.
5. **Метод на Каплан-Майер** - за оценка времето до настъпване на изследваното събитие (Kaplan-Meier Product Limit Estimation of the Survival Function). Методът е подходящ за сравнително малки по обем проучвания. Проследява група от n субекти с различно време на включване в проучването и фиксира времето до настъпване на събитието[3]
6. **Тестове Log Rank, Breslow и Tarone-Ware** - за оценка наличието на влияние на изследваните фактори върху настъпването на разглежданото събитие.
7. **Бинарен логистичен регресионен анализ** – за количествена оценка влиянието на изследваните фактори.

IV. РЕЗУЛТАТИ

Обща преживяемост на изследвания контингент

Средното време на проследяване е $22,41 \pm 2,45$ месеца в интервала от 42 дни до 77 месеца, а средната обща преживяемост е $42,72 \pm 6,38$ месеца при 95% доверителен интервал между 30,22 и 55,22 месеца.

Таблица 3 представлява таблица на преживяемостта, изчислена по метода на Каплан-Майер. По- характерните моменти от нея са следните:

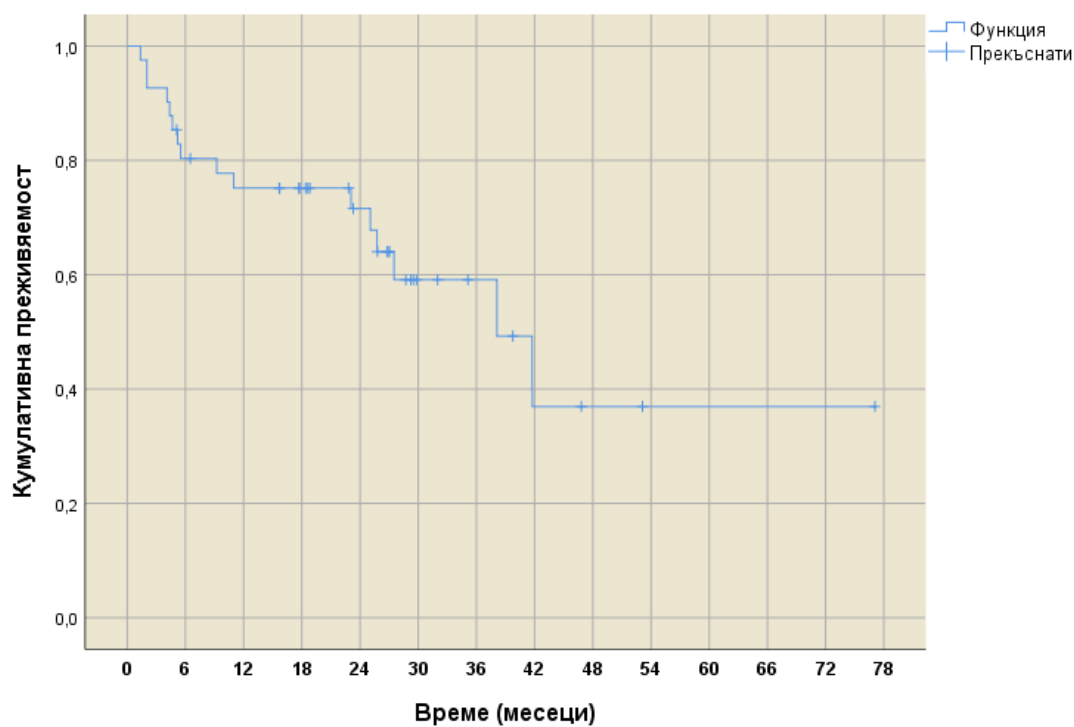
- *От 41 проследени за обща преживяемост пациенти 16 (39,0%) са екзитурали от изследваното заболяване, а 25 са отпаднали от проследяването по други причини;*
- *Най-голяма смъртност се наблюдава в интервала 0-6 месец – 8 случая или 50% от общия брой на екзитуралите за времето на проследяването 16 пациенти;*
- *Второ място по смъртност заема времето между 24-ия и 30-ия месец, когато са се случили 3 (18,8%) от екзитурите;*
- *Минималната регистрирана обща преживяемост е била 42 дена, а максималната – малко над 77 месеца (около 6 години и половина);*
- *Шестмесечната преживяемост е 80,3%, 12-месечната – 75,2%, три годишната – 59,1%, а петгодишната – 37,0%.*

На фиг. 2 е показана кривата на кумулативната вероятност за преживяемост. С вертикални отсечки са отбелязани така наречените прекъснати случаи, включващи пациенти които са отпаднали по различни причини – починали от друго заболяване, изгубени от наблюдение или останали живи в края на периода на проследяване. От фигурата се вижда, че най- стръмния участък на графиката е през първите 6 месеца от проследяването. След това спадът на кумулативната преживяемост става по-плавен, като на 42-ия месец достига ниво около 0,37.

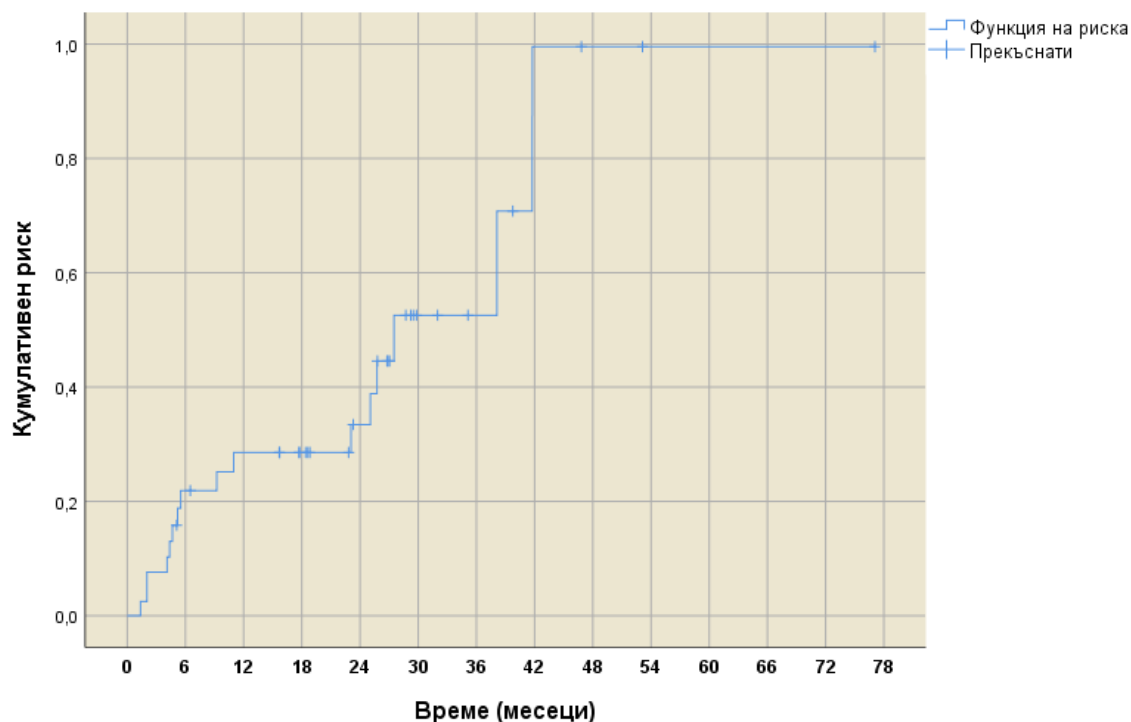
Кривата на кумулативния риск (фиг. 3) върви най-стръмно през първите 6 месеца, а на 42-ия достига ниво около 1,0.

Таблица № 3: Таблица на общата преживяемост по Каплан-Майер

Време (месеци)	Кумулативна преживяемост	Стандартна грешка	Брой събития	Кумулативен брой събития	Оставащи случаи
0	1,000		0	0	41
6	0,803	0,062	8	8	32
12	0,752	0,068	2	10	29
18	0,752	0,068	0	10	25
24	0,716	0,074	1	11	20
30	0,591	0,090	3	14	8
36	0,591	0,090	0	14	6
42	0,370	0,138	2	16	3
48	0,370	0,138	0	16	2
54	0,370	0,138	0	16	1
60	0,370	0,138	0	16	1
66	0,370	0,138	0	16	1
72	0,370	0,138	0	16	1
78	0,370	0,138	0	16	0



Фигура № 2: Функция на общата преживяемост



Фигура № 3: Функция на риска за екзитиране

Фактори влияещи върху общата преживяемост

Като следващ етап от проучването бяха анализирани вероятните фактори, оказващи влияние върху изследвания вид преживяемост. За целта отново беше приложен метода на Каплан-Майер, като оценката на наличието на влияние се извърши с предназначените за целта тестове Log Rank, Breslow и Tarone-Ware. Бяха тествани показателите: големина на тумора, диференциация на тумора, хистологичен вид, брой метастатични лимфни възли, вид операция, стадий на заболяването, Ki67 индексът, експресия на соматостатинов рецептор 2 и експресия на соматостатинов рецептор 5.

Големина на тумора

От табл. 4 става ясно, че с най-голям относителен дял (58,5%) са пациентите с размер на тумора 3, следвани от 4 с 22%, а с най-малък (двама или 4,9%) – 2. Липсата на статистическа представителност на тумори с големина 1 и 2 наложи тяхното обединяване за целите на последващия анализ на преживяемостта.

Таблица № 4 : Честотно разпределение на пациентите по големина на тумора (TNM класификация)

Големина на тумора (TNM класификация)	Брой	Относителен дял (%)	Sp
1	2	4,9	3,4
2	6	14,6	5,5
3	24	58,5	7,7
4	9	22,0	6,5
Общо	41	100,0	

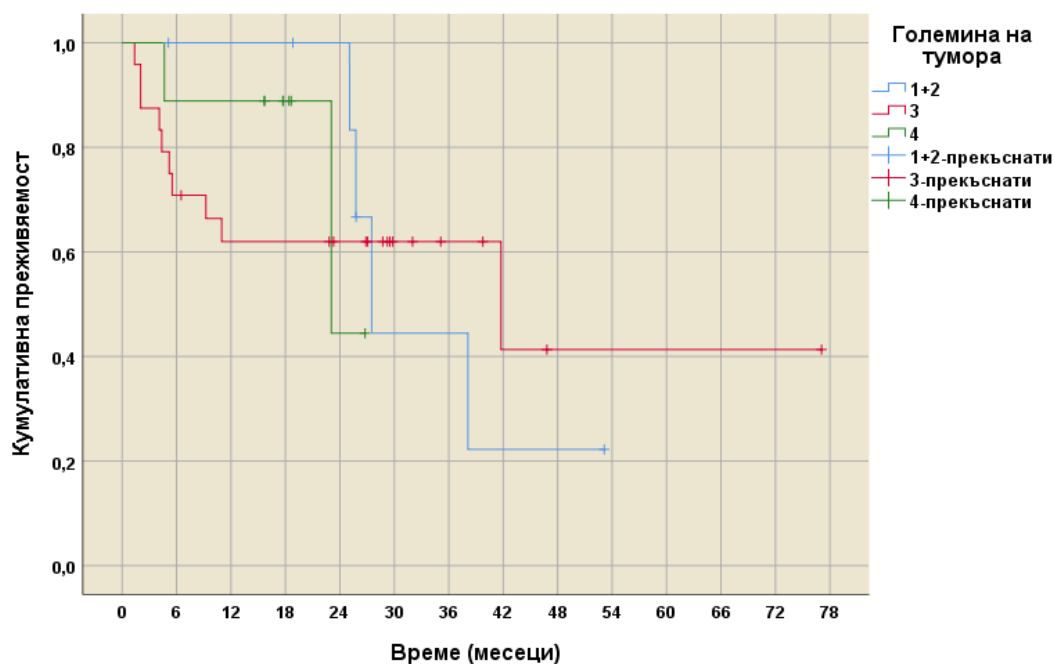
Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 12 месеца по-висока средна преживяемост на имащите тумори с големина 1 и 2 спрямо тези с 4, и с около 20 месеца по-висока при имащите 3 спрямо 4, но тестовете Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликата няма сигнификантен характер (табл. 5). Най-вероятната причина е малкият брой екзитуси при пациентите с големина на тумора 1+2 и 4.

Таблица № 5: Сравнителен анализ на общата преживяемост според големината на тумора (TNM класификация)

Големина на тумора	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
1 + 2	8	4	34,856 ^a	4,880	25,292	44,421
3	24	10	42,396 ^a	8,480	25,775	59,016
4	9	2	22,669 ^a	2,421	17,923	27,415

* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).

На фиг. 4 се вижда, че функцията на кумулативната преживяемост на имащите тумори с големина 1 и 2 свършва най-бързо, но на най-високо ниво; на имащите големина 3 – най- късно до междинно ниво около 0,4, а на имащите големина 4 пада до най- ниската стойност – около 0,2.



Фигура № 4: Функции на общата преживяемост според показателя големина на тумора

Диференциация на тумора

Резултатите от табл. 6 показват, че с най-голям относителен дял (53,7%) са пациентите с диференциация на тумора G3, следвани от G2 с 39%, а с най-малък (трима или 7,3%) – G1. Липсата на статистическа представителност на тумори с диференциация G1 наложи тяхното обединяване с G2 за целите на последващия анализ на преживяемостта.

Таблица № 6: Честотно разпределение на пациентите по диференциация на тумора

Диференциация на тумора	Брой	Относителен дял (%)	Sp
G1	3	7,3	4,1
G2	16	39,0	7,6
G3	22	53,7	7,8
Общо	41	100,0	

Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 4 месеца по-ниска средна преживяемост на имащите тумори с диференциация G1 и G2 спрямо тези с G3, но тестовете Log Rank, Breslow

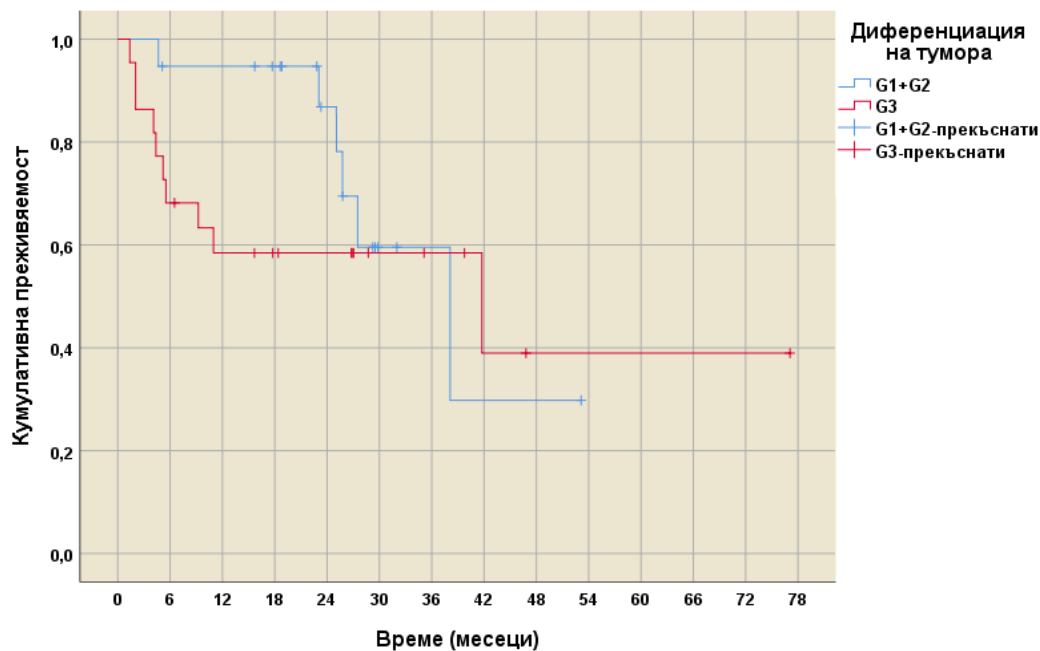
и Tarone-Ware установиха, че разликата няма сигнификантен характер (табл. 7).

Таблица № 7: Сравнителен анализ на общата преживяемост според диференциация на тумора (TNM класификация)

Диференциация на тумора	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
G1 + G2	19	6	36,374 ^a	4,582	27,394	45,355
G3	22	10	40,268 ^a	8,522	23,564	56,972

* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).

На фиг. 5 се вижда, че няма съществено различие във функциите на кумулативната преживяемост на имащите тумори с диференциация G1+G2 и G3.



Фигура № 5: Функции на общата преживяемост според показателя диференциация на тумора

Хистологичен вид

От табл. 8 става ясно, че с най-голям относителен дял (31,7%) са пациентите с хистологичен вид на тумора NEC, следвани от NET с 24,4%, а с най-малък (с по 4 или с по 9,8%) – NETG1 и MANEC. Последващият

анализ на преживяемостта включва само, имащите статистическа представителност NEC и NET.

Таблица № 8: Честотно разпределение на пациентите по хистологичен вид

Хистологичен вид	Брой	Относителен дял (%)	Sp
NET	10	24,4	6,7
NETG1	4	9,8	4,6
NETG2	5	12,2	5,1
NETG3	5	12,2	5,1
NEC	13	31,7	7,3
MANEC	4	9,8	4,6
Общо	41	100,0	

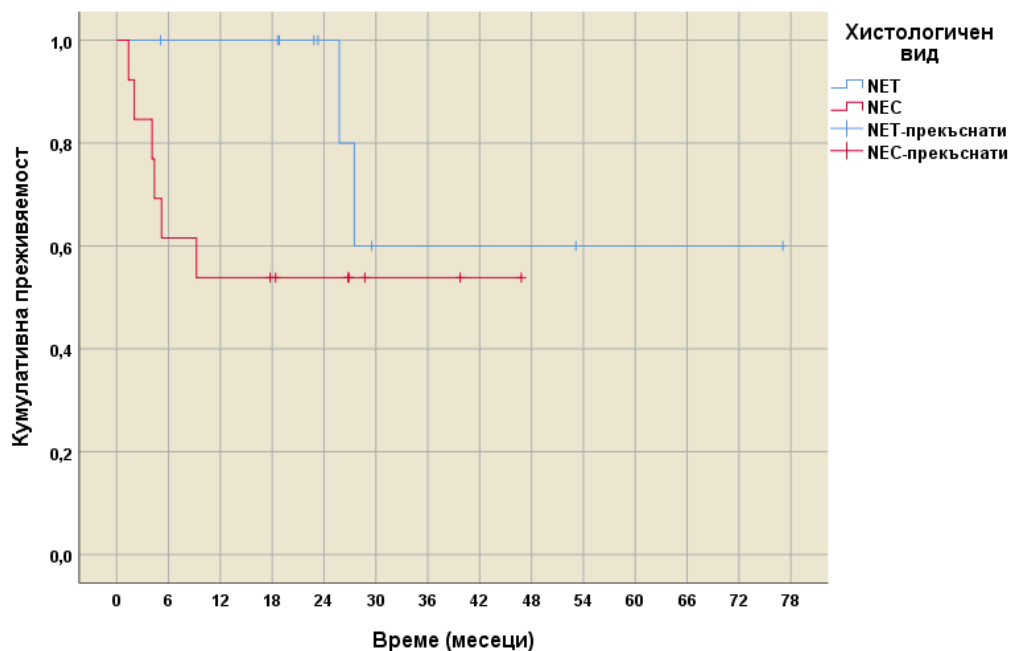
Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 30 месеца по-висока преживяемост на имащите тумори с хистологичен вид NET спрямо тези с NEC, като тестовете Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликата има гранично сигнификантен характер, а Log Rank, че няма статистическа достоверност. Вероятната причина за този резултат е малкият брой летални изходи при пациентите с хистологичен вид на тумора NET (табл. 9).

Таблица № 9: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя хистологичен вид

Хистологичен вид	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
NET	10	2	56,897	11,055	35,229	78,565
NEC	13	6	27,234	5,886	15,697	38,771

* Log Rank (Mantel-Cox) $p = 0,163$, Breslow (Generalized Wilcoxon) $p = 0,050$, Tarone-Ware $p = 0,081$

От фиг. 6 става ясно, че функцията на кумулативната преживяемост на имащите тумори с хистологичен вид NET свършва по-късно и на по-високо ниво.



Фигура № 6: Функции на общата преживяемост според показателя хистологичен вид

Метастатични лимфни възли

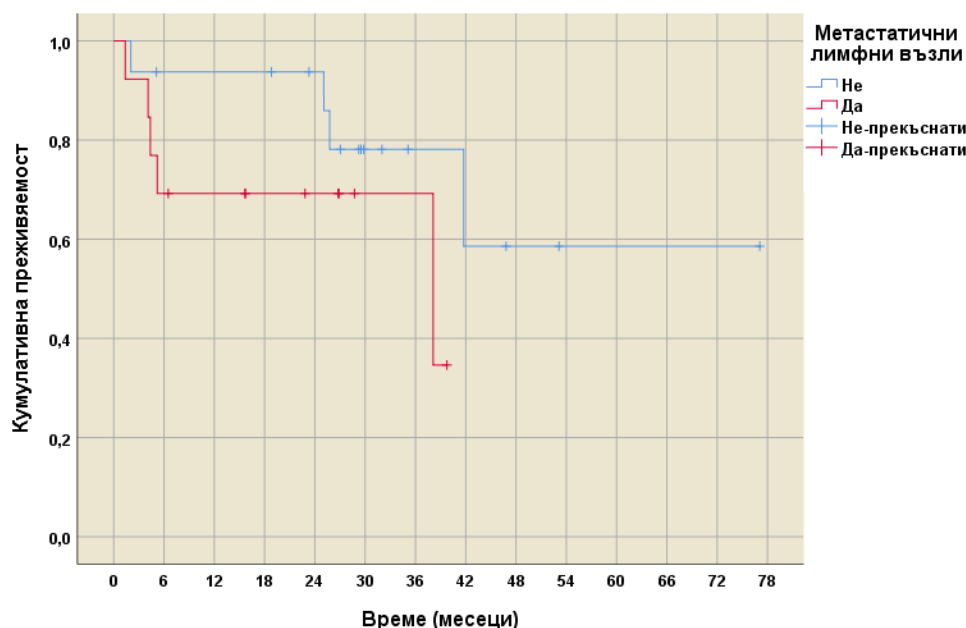
Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 30 месеца по-ниска преживяемост на пациентите с метастатични лимфни възли спрямо, нямащите такива, но тестовете Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликата няма сигнификантен характер (табл. 10). Най-вероятната причина отново е малкият брой екзитуси в разглежданите групи. *Забележка: липсват данни за 12 от пациентите.*

Таблица № 10: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя метастатични лимфни възли

Метастатични лимфни възли	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
Не	16	4	57,416 ^a	8,193	41,357	73,475
Да	13	5	28,111 ^a	4,525	19,241	36,980

* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).

На фиг. 7 се вижда, че функцията на кумулативната преживяемост на нямащите метастатични лимфни възли свършва по-късно и на по-високо ниво.



Фигура № 7: Функции на общата преживяемост според показателя метастатични лимфни възли

Вид на операцията

Спрямо пациентите без проведено оперативно лечение, извършеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 20 месеца по-висока средна преживяемост на тези с нерадикален вид операция и с около 47 месеца по-висока при тези с радикална, като тестовете Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликите имат сигнификантен характер (табл. 11).

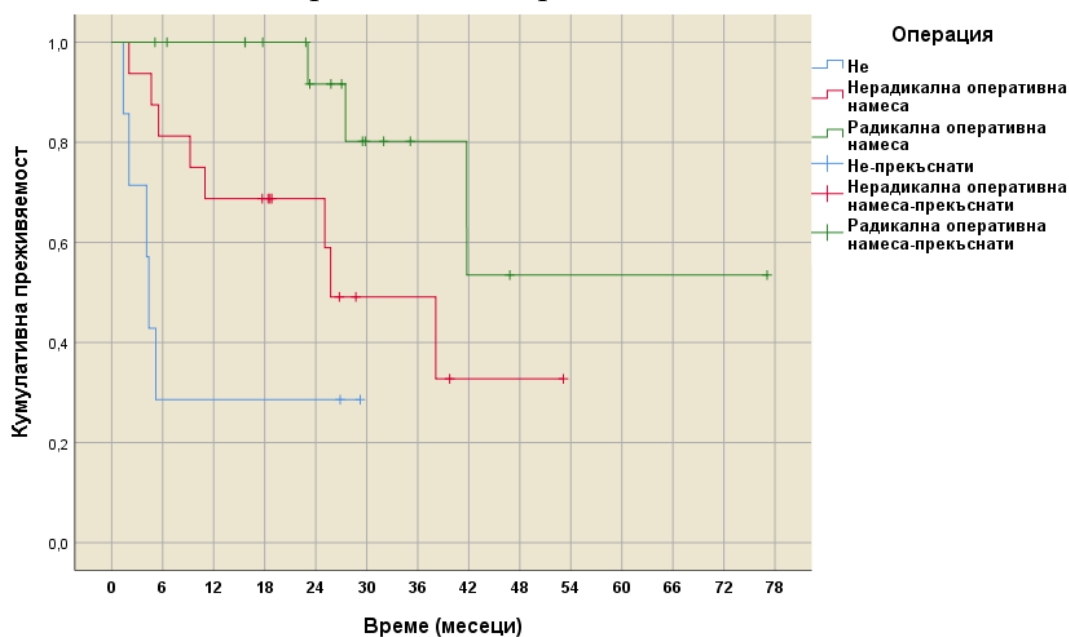
Таблица № 11: Сравнителен анализ на общата преживяемост според вида на операцията

Вид операция	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
Не	7	5	10,795 ^a	4,434	2,105	19,485
Нерадикална	16	8	30,649 ^b	5,284	20,292	41,006
Радикална	18	3	57,452 ^c	9,210	39,400	75,503

* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).

На фиг. 8 се вижда, че има съществено различие между функциите на кумулативната преживяемост на трите групи пациенти – с най-малка продължителност и до най-ниска стойност е тази на пациентите без

проведено оперативно лечение, с най- голяма продължителност и до най- висока стойност е тази на пациентите с извършена радикална операция, а тази на пациентите с нерадикална операция заема междинно положение.



Фигура № 8: Функции на общата преживяемост според показателя вид на операцията

Стадий на заболяването

От табл. 22 става ясно, че с най-голям относителен дял (48,8%) са пациентите със стадий на заболяването III, следвани от IV с 24,4%, а с най-малък (трима или 7,3%) – I. Липсата на статистическа представителност на тумори със стадий на заболяването I и II наложи тяхното обединяване за целите на последващия анализ на преживяемостта.

Таблица № 12: Честотно разпределение на пациентите по стадий на заболяването

Стадий на заболяването	Брой	Относителен дял (%)	Sp
I	3	7,3	4,1
II	7	17,1	5,9
III	20	48,8	7,8
IV	10	24,4	6,7
Липсват данни	1	2,4	2,4
Общо	41	100,0	

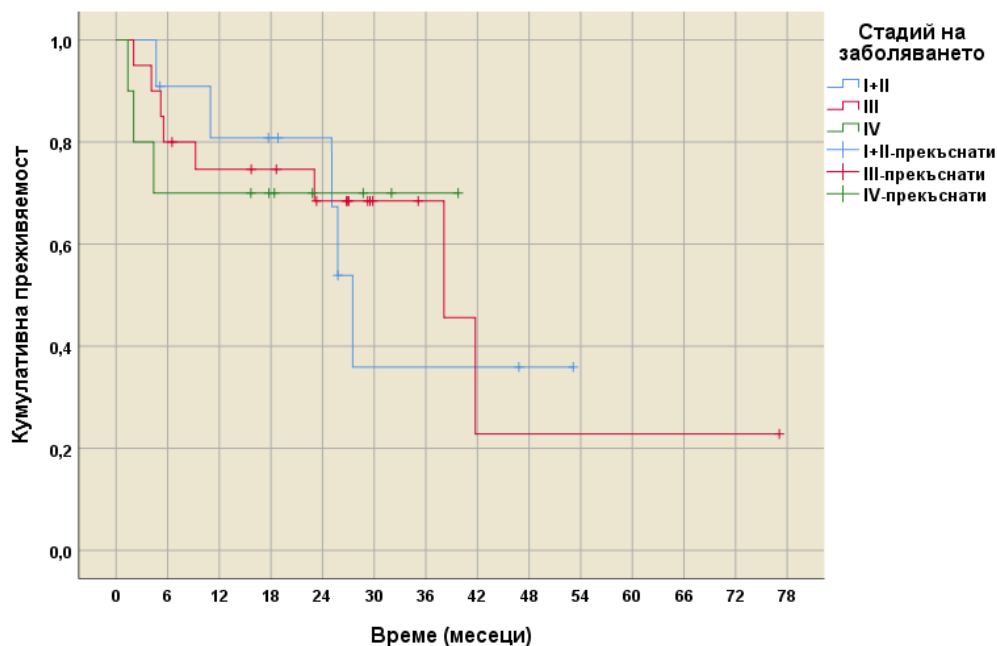
Спрямо пациентите със стадий на заболяването IV, проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 4 месеца по-висока средна преживяемост на тези със стадий на заболяването I+II и с около 10 месеца по-висока при тези със стадий на заболяването III, но тестовете Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликите нямат сигнификантен характер (табл. 13).

Таблица № 13: Сравнителен анализ на общата преживяемост според стадия на заболяването

Стадий на заболяването	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
I + II	11	5	32,396 ^a	6,060	20,518	44,273
III	20	8	38,577 ^a	8,392	22,129	55,024
IV	10	3	28,606 ^a	5,389	18,043	39,169

* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).

На фиг. 5 се демонстрира, че функциите на преживяемостта на пациентите с различен стадий на заболяването не се различават съществено: на имащите стадий III завършва най-късно, но пада до най-ниско ниво от останалите две. Тази, на имащите стадий на IV свършва най-рано, но на най-високо ниво, а на имащите най-ниски стадии I и II заема междинно положение по продължителност и крайно ниво.



Фигура № 9: Функции на общата преживяемост според фактора стадий на заболяването

Индекс Ki-67

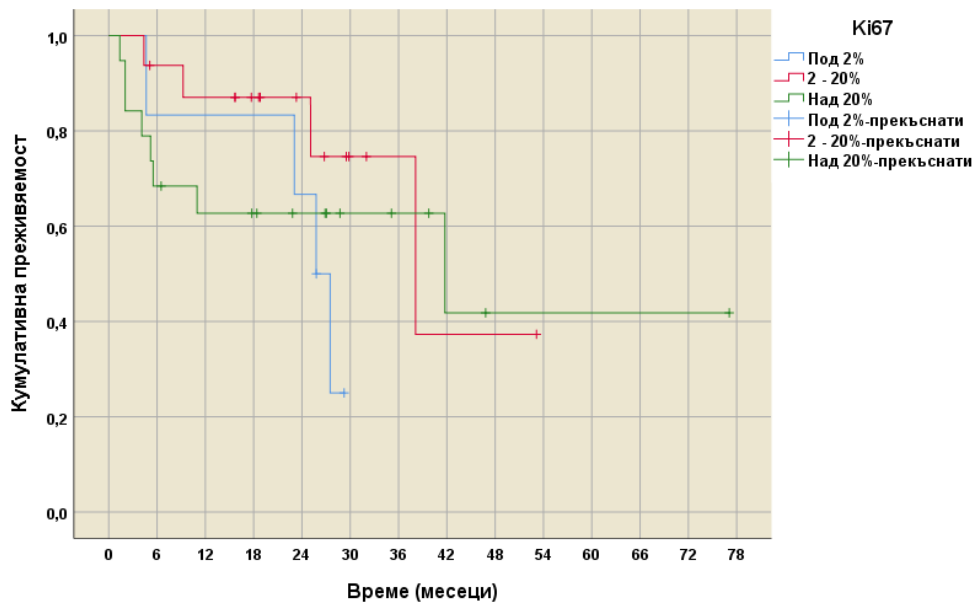
Спрямо пациентите с индекс Ki-67 под 2%, проведенят анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 15 месеца по-висока средна преживяемост на тези с индекс Ki-67 между 2 и 20% и с около 20 месеца по-висока при тези с над 20%, но според тестовете Log Rank, Breslow и Tarone-Ware разликите нямат сигнификантен характер. Най-вероятната причина е сравнително малкият брой летални случаи в първите две групи (табл. 14).

Таблица № 14: Сравнителен анализ на общата преживяемост според Ki-67 индекса

Индекс Ki-67	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
Под 2%	6	4	23,099 ^a	3,471	16,297	29,902
Между 2 и 20%	16	4	38,048 ^a	5,538	27,193	48,903
Над 20%	19	8	42,650 ^a	9,091	24,831	60,469

* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).

От фиг. 6 се вижда, че има значителна диференциация между функциите на преживяемостта в разглежданите групи.



Фигура № 10: Функции на общата преживяемост според индекса Ki-67

Експресия на соматостатинов рецептор 2

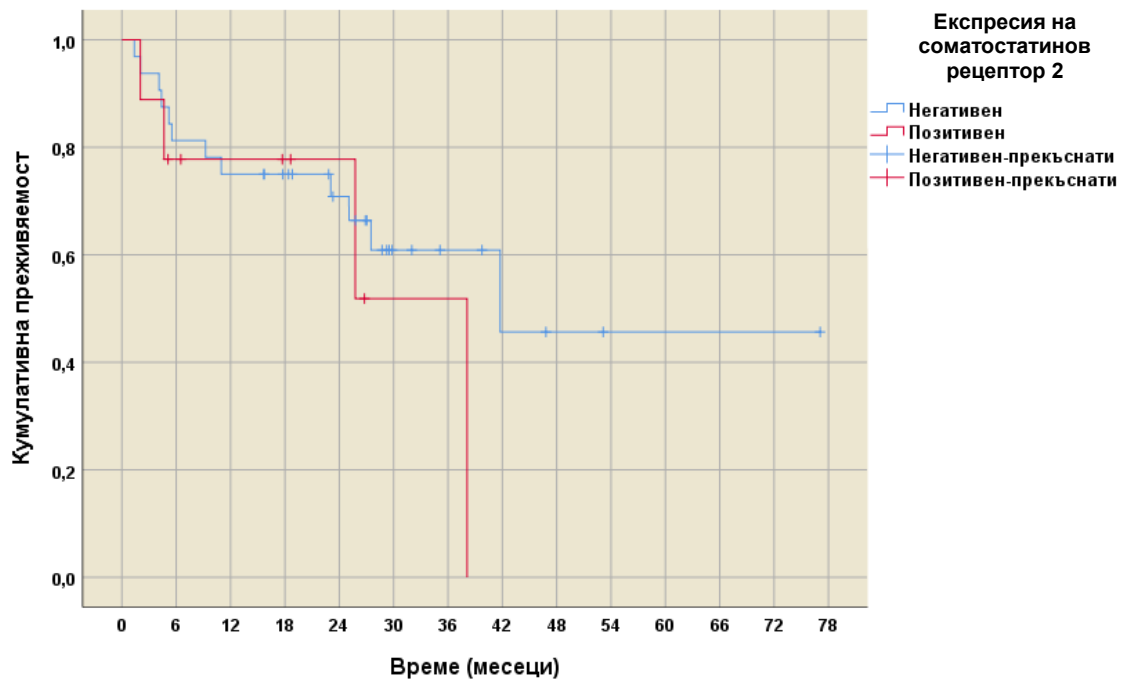
Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 29 месеца по-ниска преживяемост на пациентите с позитивна експресия на соматостатинов рецептор 2 спрямо тези с негативна, но тестовите Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликата няма сигнификантен характер. Вероятната причина за този резултат е малкият брой летални изходи при пациентите с позитивна експресия на соматостатинов рецептор 2 (табл. 15).

На фиг. 11 е видно, че функцията на преживяемостта, на имащите позитивна експресия на соматостатинов рецептор 2 завършва значително по-рано и пада до нулата.

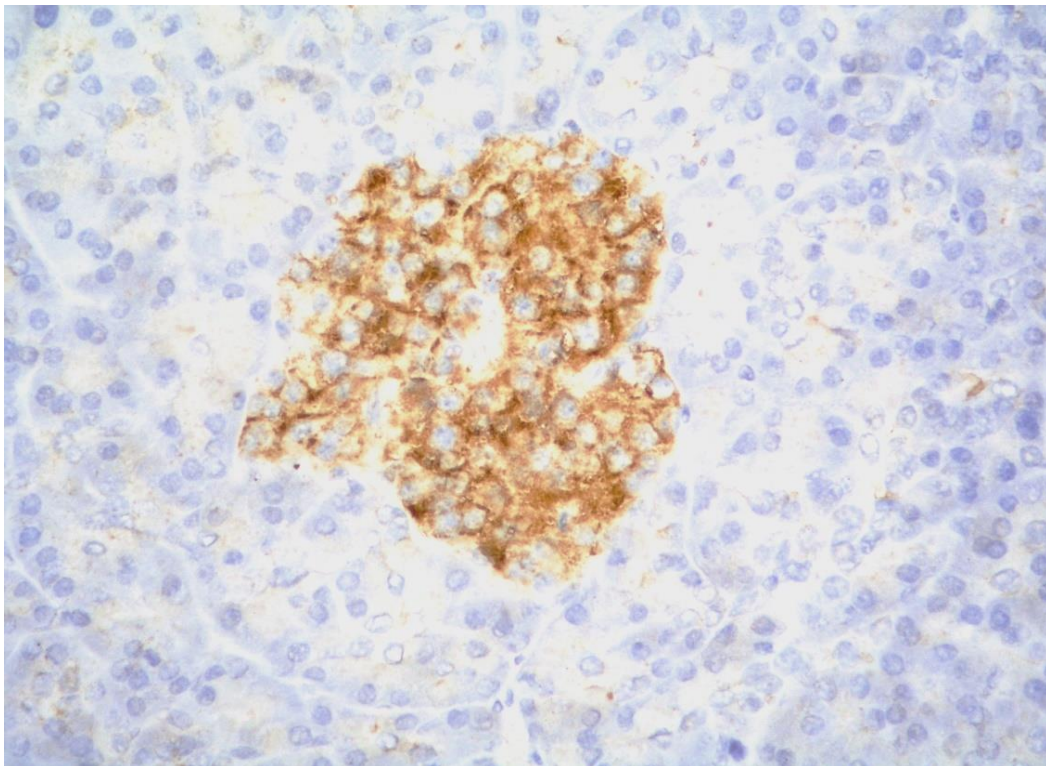
Таблица № 15: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 2

Експресия на соматостатинов рецептор 2	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
Негативен	32	12	46,474 ^a	7,033	32,690	60,257
Позитивен	9	4	27,184 ^a	5,763	15,888	38,480

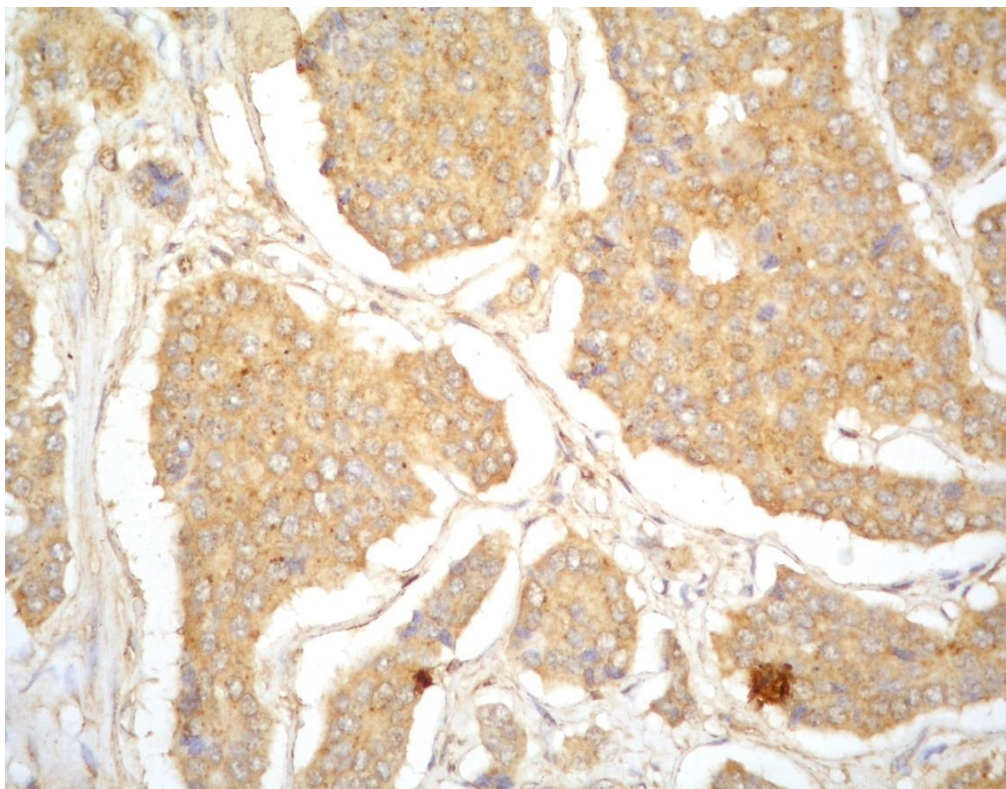
* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).



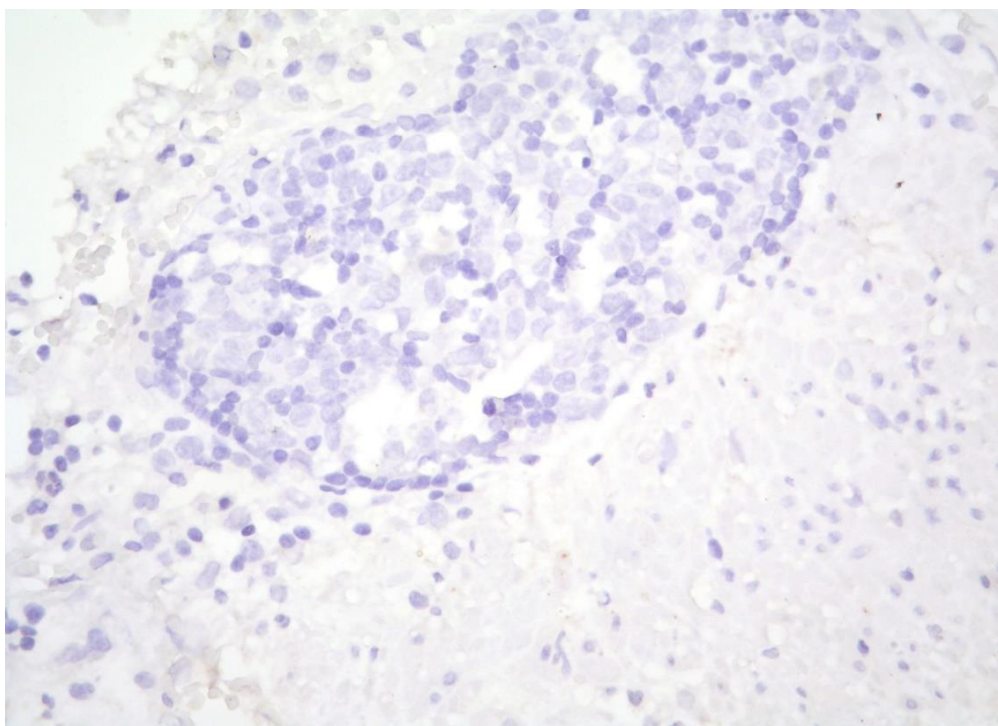
Фигура № 11: Функции на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 2



Снимка №1: Нормална панкреасна тъкан с мембранна и цитоплазмена експресия на SSR2. Снимка – контрола.



Снимка № 2: Невроендокринен карцином на терминален илеум – дифузна експресия на соматостатинов рецептор 2.



Снимка № 3: Фокална цитоплазмена дифузия на соматостатинов рецептор 2 при невроендокринен карцином на апендикс

Експресия на соматостатинов рецептор 5

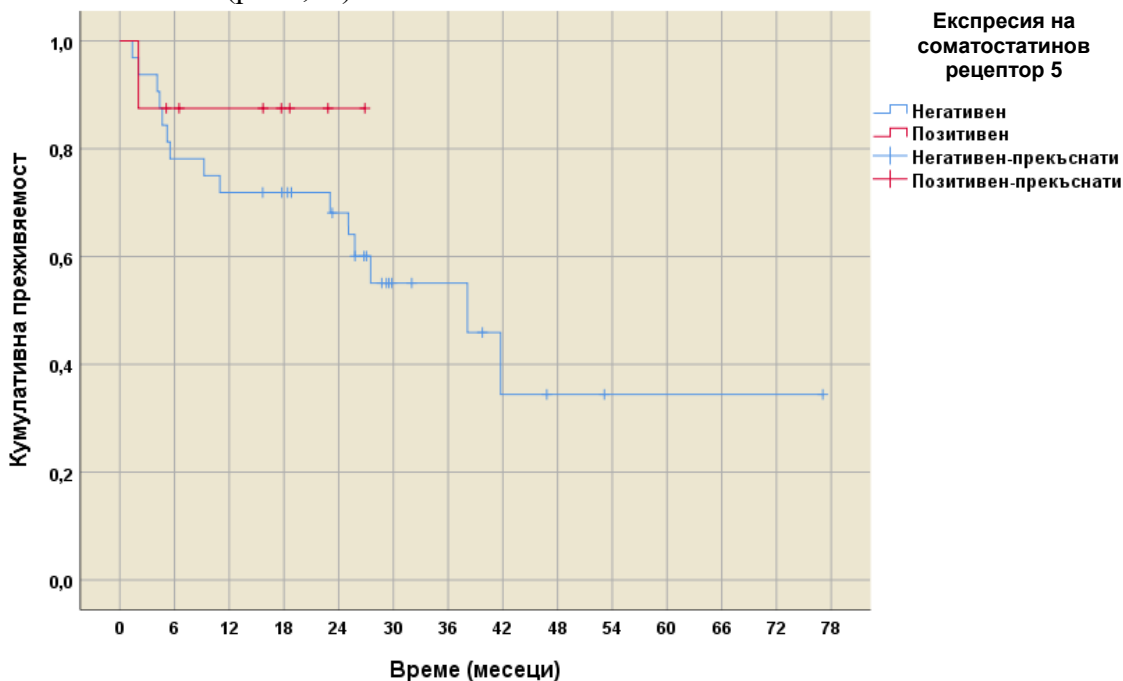
Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 17 месеца по-ниска преживяемост на пациентите с позитивна експресия на соматостатинов рецептор 5 спрямо тези с негативна, но тестовите Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликата няма сигнификантен характер. Вероятната причина за този резултат е малкият брой екзитуси при пациентите с позитивна експресия на соматостатинов рецептор 5 (табл. 16).

На фиг. 12 се вижда, че функцията на преживяемостта на имащите позитивна експресия на соматостатинов рецептор 5 завършва значително по-рано, но с по-висока стойност.

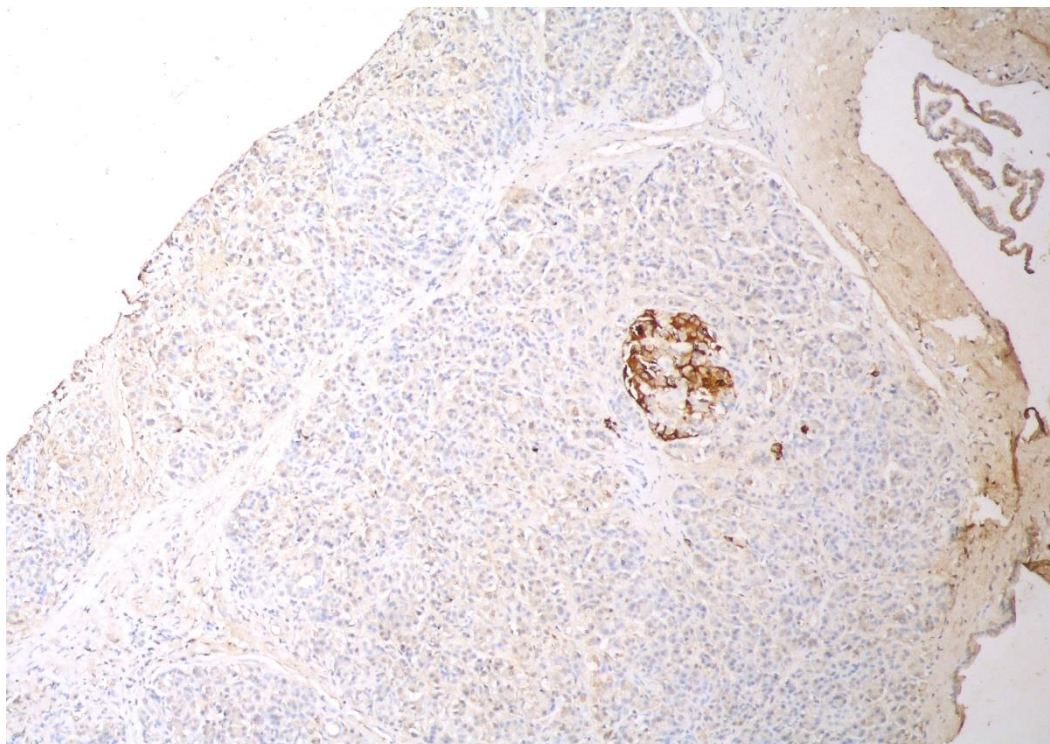
Таблица № 16: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 5

Експресия на соматостатинов рецептор 5	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
Негативен	32	15	40,589 ^a	6,471	27,906	53,271
Позитивен	8	1	23,770 ^a	2,904	18,078	29,462

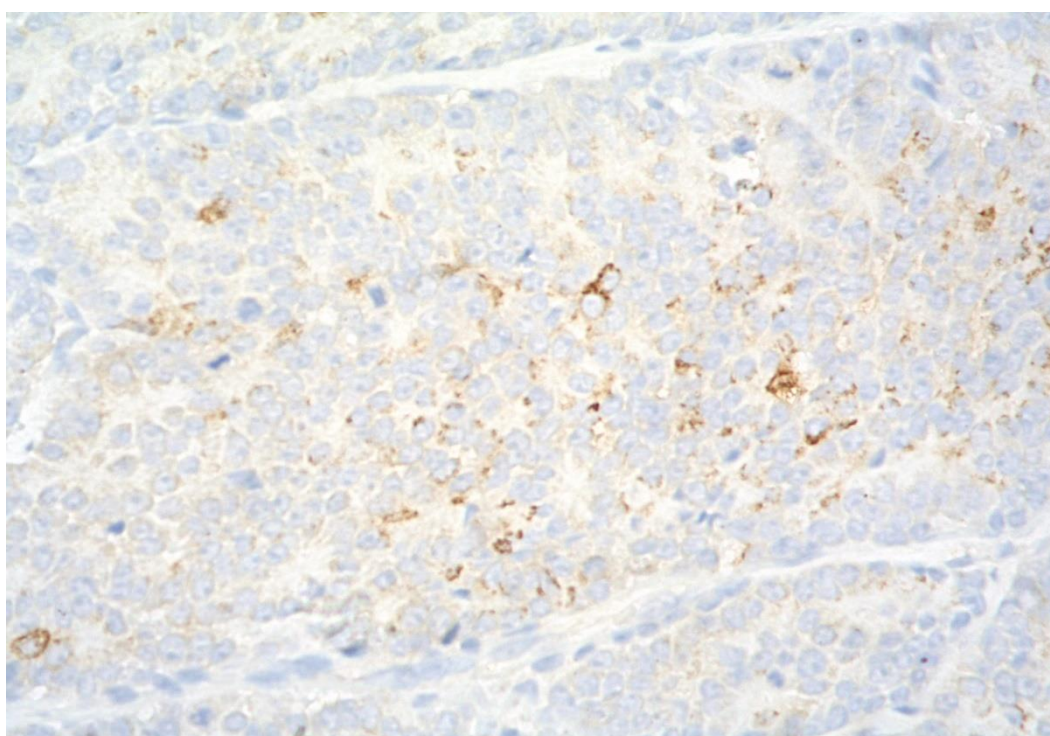
* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).



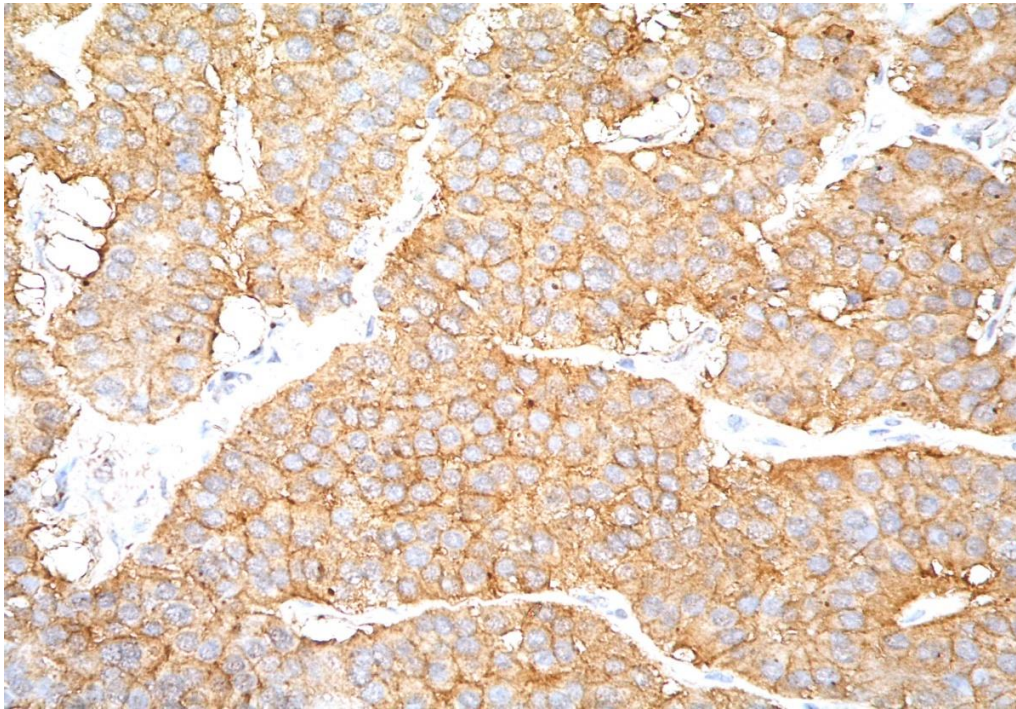
Фигура № 12: Функции на общата преживяемост според показателя експресия на соматостатинов рецептор 5



Снимка № 4: Нормален Лангерхансов остров с мембранно оцветяване на соматостатинов рецептор 5. Снимка – контрола



Снимка № 5: Цитоплазмено оцветяване на соматостатинов рецептор 5 при невроендокринен карцином на панкреаса.



Снимка № 6: Мембранно и цитоплазмено оцветяване на соматостатинов рецептор 5 при невроендокринен тумор на цекум

Едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5

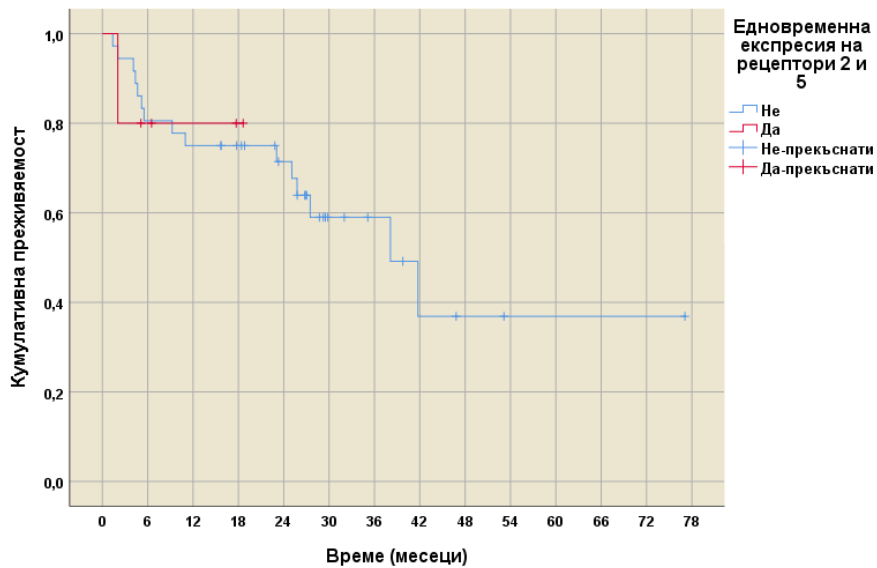
Проведеният анализ по метода на Каплан-Майер показва с около 27 месеца по-ниска преживяемост на пациентите с едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5 спрямо останалите, но тестовете Log Rank, Breslow и Tarone-Ware установиха, че разликата няма сигнификантен характер. Вероятната причина за този резултат е малкият брой летални изходи при пациентите с позитивна експресия (табл. 17).

На фиг. 13 се демонстрира, че функцията на преживяемостта на имащите едновременна позитивна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5 завършва значително по-рано, но с по-висока стойност.

Таблица № 17: Сравнителен анализ на общата преживяемост според показателя едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5

Едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5	Брой случаи	Брой събития	Средна преживяемост (месеци)	Стандартна грешка	95% ДИ	
					Долна граница	Горна граница
Не	36	15	42,703 ^a	6,467	30,029	55,377
Да	5	1	15,310 ^a	2,968	9,493	21,127

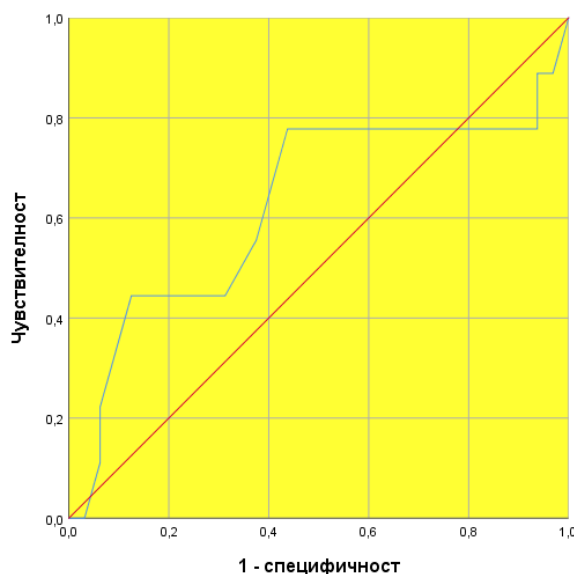
* - еднаквите букви указват на липса на сигнификантна разлика, а различните на наличие на такава ($p < 0,05$).



Фигура № 13: Функции на общата преживяемост според показателя едновременна експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5

Тъй като експресията на соматостатинов рецептор 2 е дихотомна променлива приложихме бинарен логистичен анализ. Като евентуални фактори бяха тествани показателите: карциноиден синдром, диференциация на тумора (G), хистологичен вид на тумора, стадий на заболяването, локализация на тумора, възраст и пол.

Поради това, че единствената количествена променлива възраст няма нормално разпределение се наложи да се направи ROC curve анализ за установяване на прагова стойност, отдиференцираща пациентите с негативна и позитивна експресия на соматостатинов рецептор 2. Анализът показва липса на такава стойност (фиг. 14).



Фигура № 14: ROC крива на възрастта за определяне праговата й стойност при отграничаването на пациентите с и без експресия на соматостатинов рецептор 2 (площ под кривата 0,625, $p=0,257$)

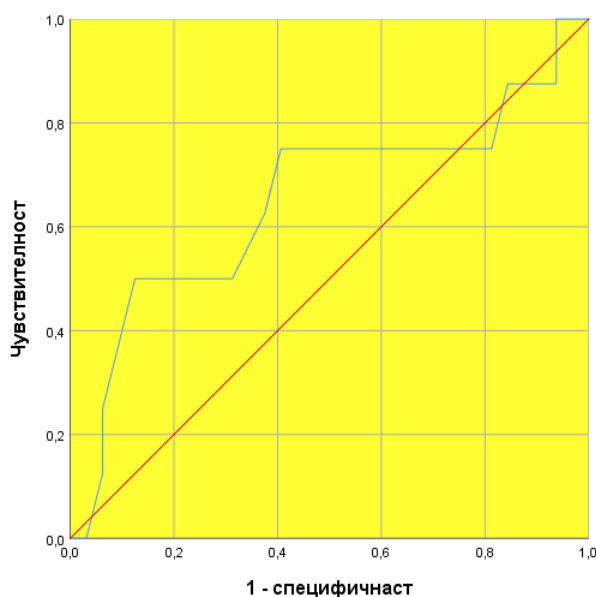
На табл. 18 са показани резултатите от проведения бинарен логистичен регресионен анализ. Както се вижда, нито едно от отношенията на рисковете няма статистическа достоверност.

Таблица № 18: Отношение на рисковете и 95% ДИ на карциноидния синдром, диференциацията на тумора, хистологичният вид на тумора, стадий на заболяването, локализацията на тумора и пола за експресията на соматостатинов рецептор 2

Показател	Сравнение	OR	95% CI		P
			Долна граница	Горна граница	
Карциноиден синдром	Да/не	2,700	0,385	18,925	0,317
Диференциация на тумора	G3/G1+G2	0,585	0,269	1,273	0,176
Хистологичен вид на тумора	NEC/NET	0,664	0,360	1,224	0,190
Онкологичен стадий на тумора	3/1+2	0,438	0,084	2,269	0,325
	4/1+2	0,194	0,018	2,151	0,182
	3/2	2,333	0,310	17,545	0,410
Локализация на тумора	4/2	0,000	0,000	.	0,999
	6/2	1,167	0,124	10,990	0,893
Пол	Жени/мъже	0,417	0,089	1,942	0,265

Тъй като експресията на соматостатинов рецептор 5 също е дихотомна променлива приложихме отново бинарен логистичен анализ. Като евентуални фактори бяха тествани същите показатели: карциноиден синдром, диференциация на тумора (G), хистологичен вид на тумора, стадий на заболяването, локализация на тумора, възраст и пол.

Поради това, че единствената количествена променлива възраст няма нормално разпределение се наложи да се направи ROC curve анализ за установяване на прагова стойност, отдиференцираща пациентите с негативна и позитивна експресия на соматостатинов рецептор 5. Анализът не установи наличие на такава стойност (фиг. 15).



Фигура № 15: ROC крива на възрастта за определяне праговата ѝ стойност при отграничаването на пациентите с и без експресия на соматостатинов рецептор 5 (площ под кривата 0,650, $p=0,193$)

На табл. 19 са показани резултатите от проведения бинарен логистичен регресионен анализ. Както е видно, нито едно от отношенията на рисковете няма статистическа значимост.

Таблица № 19: Отношение на рисковете и 95% ДИ на карциноидния синдром, диференциацията на тумора, хистологичният вид на тумора, стадий на заболяването, локализацията на тумора и пола за експресията на соматостатинов рецептор 5

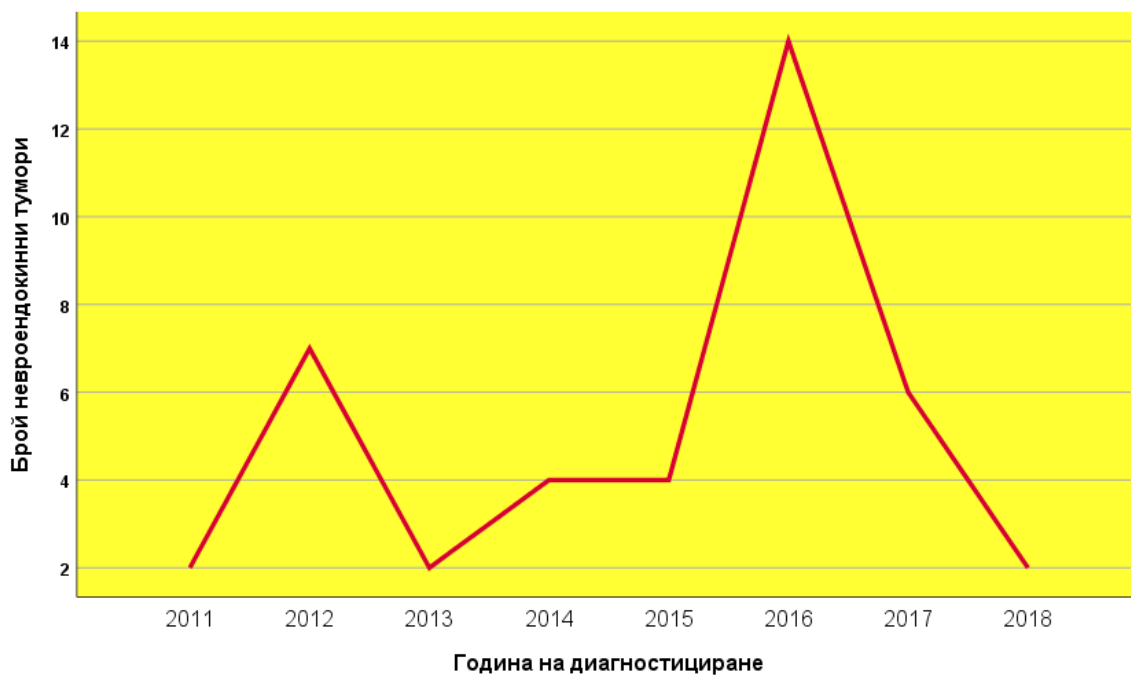
Показател	Сравнение	OR	95% CI		P
			Долна граница	Горна граница	
Карциноиден синдром	Да/не	1,040	0,099	10,913	0,974
Диференциация на тумора	G3/G1+G2	0,683	0,308	1,515	0,348
Хистологичен вид на тумора	NEC/NET	0,664	0,360	1,224	0,190
Онкологичен стадий на тумора	3/1+2	1,200	0,182	7,926	0,850
	4/1+2	1,125	0,127	9,943	0,916
Локализация на тумора	3/2	692346339,29	0,000	.	0,999
	4/2	161547479,17	0,000	.	0,999
	6/2	538491597,22	0,000	.	0,999
Пол	Жени/мъже	0,652	0,128	3,314	0,606

На фиг. 16 се демонстрира леко изразена тенденция на нарастване на честотата на невроендокринните тумори през изследвания период.

Спрямо 2013 година се наблюдава съществен спад в смъртността на включените в извадката пациенти с невроендокринни тумори (фиг. 17).

Наличните данни дават основание да се твърди, че по-скоро имаме сравнително стационарна динамика на средната стойност на онкологичния стадий за периода на изследване. Ниската средна стойност за 2018 година може да се дължи на факта, че годината все още не е завършила (фиг. 18).

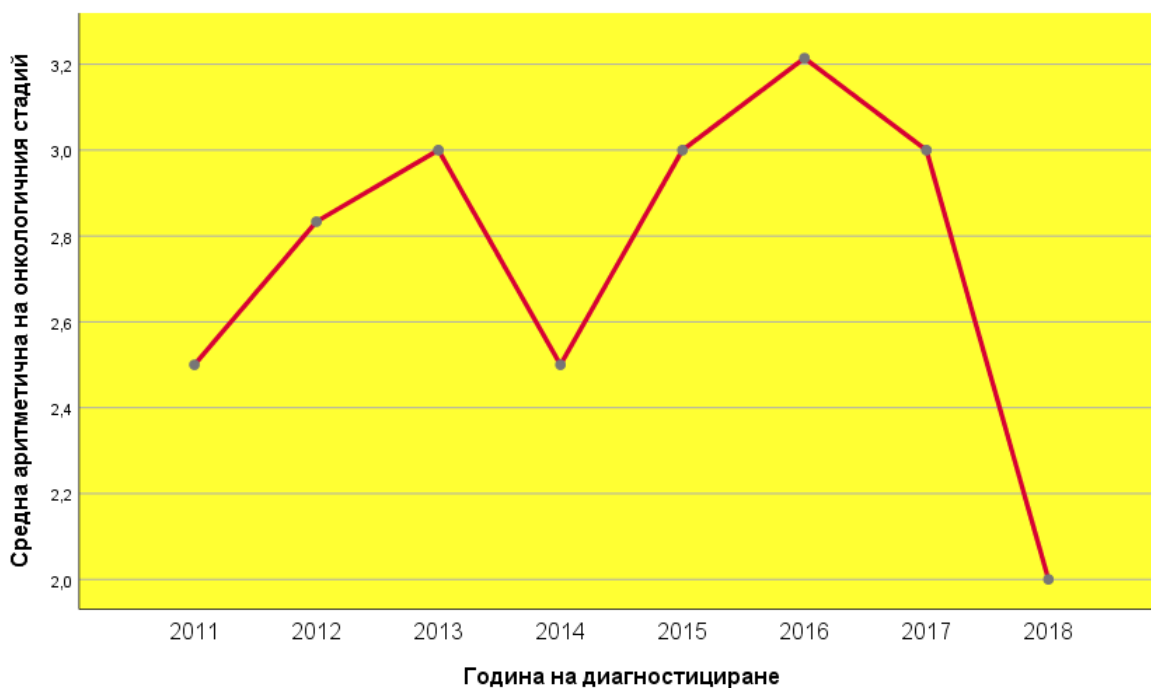
Много по-тревожен характер има ясно изразената тенденция на спад на средната възраст на заболялите за периода на изследване (фиг. 19).



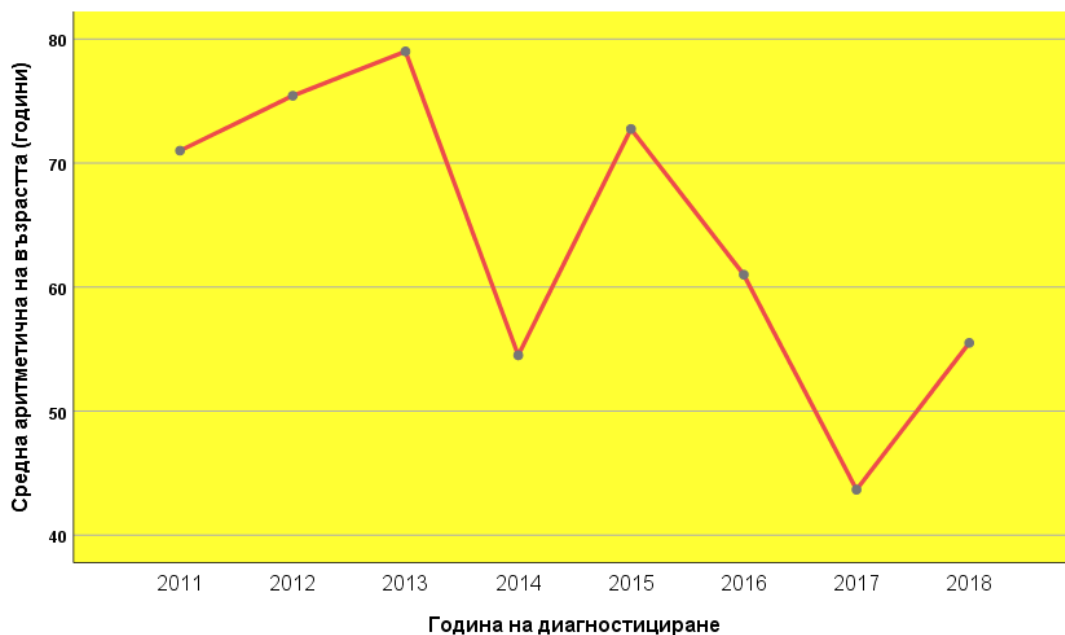
Фигура № 16: Честотно разпределение на невроендокринните тумори за периода на изследване



Фигура № 17: Честотно разпределение на починалите за периода на изследване



Фигура № 18: Динамика на средната аритметична на онкологичния стадий за периода на изследване

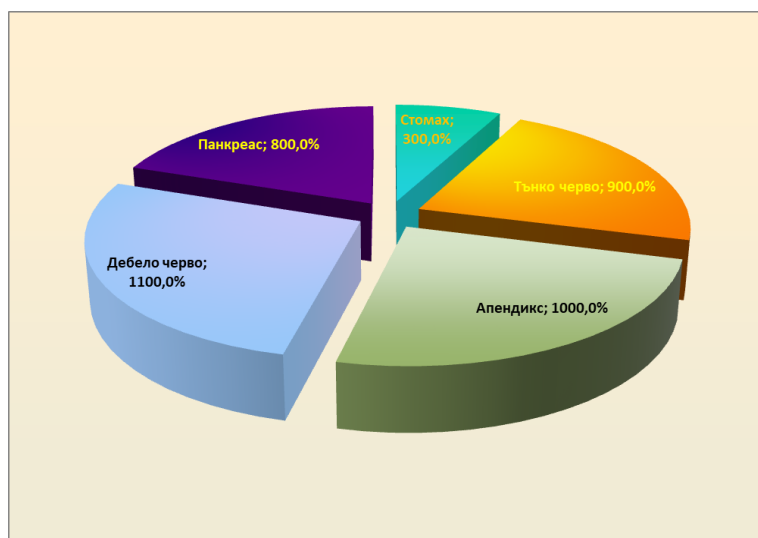


Фигура № 19: Динамика на средната аритметична на възрастта за периода на изследване

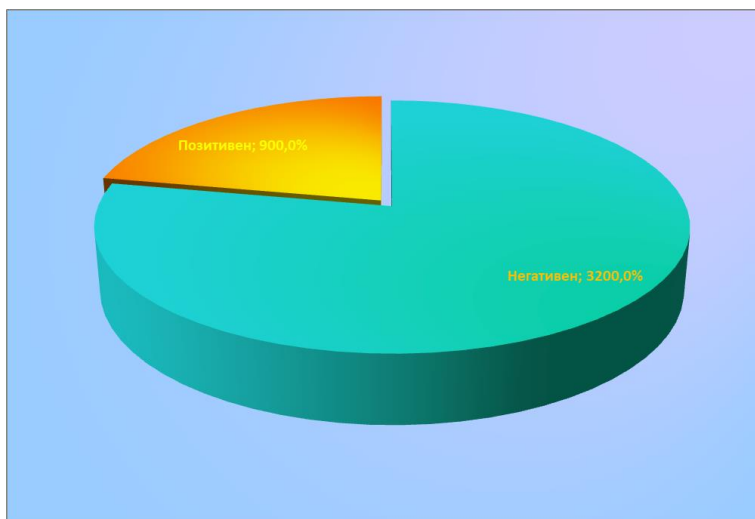
На фиг. 20 се вижда, че с най-голям относителен дял (26,8%) са пациентите с локализация на тумора в дебелото черво, следвани от тези с апендикс 24,4%, а с най- малък (трима или 7,3%) – стомах.

Позитивната експресия при соматостатинов рецептор 2 е 22%, а при соматостатинов рецептор 5 – 20% (фиг. 21 и 22).

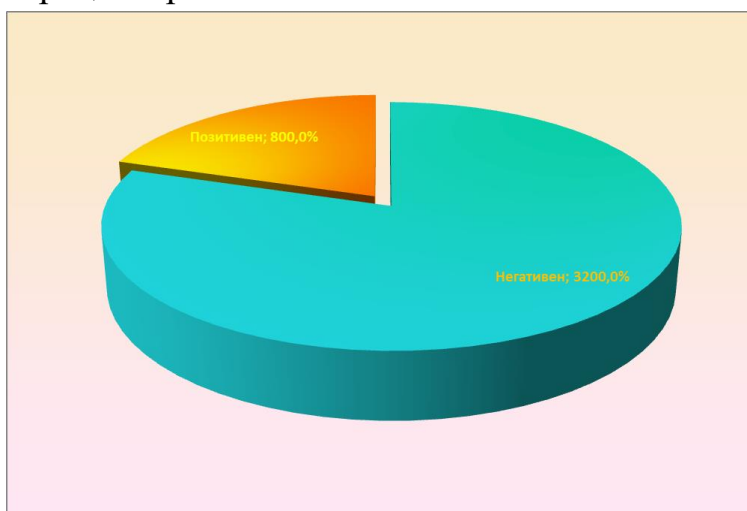
Съотношението дифузна/фокална експресия на рецептор 2 е приблизително 1,2/1 (17,1:14,6), докато при рецептор 5 е 1/3 (4,9:14,6) (фиг. 23 и 24).



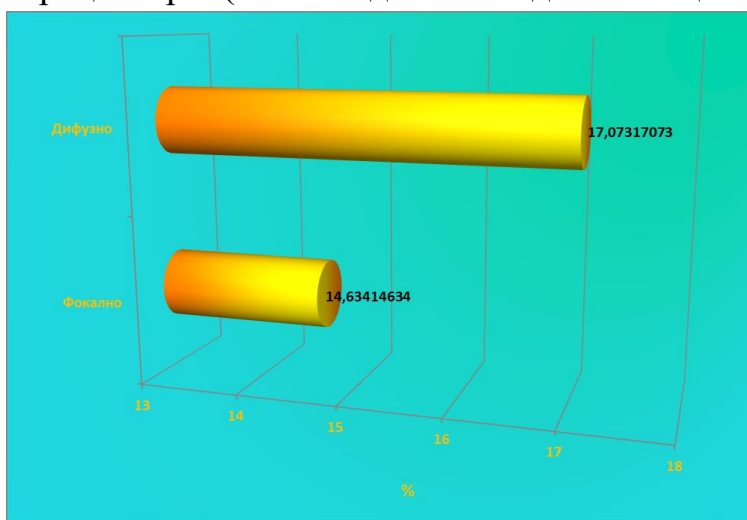
Фигура № 20: Честотно разпределение на пациентите по локализация на тумора



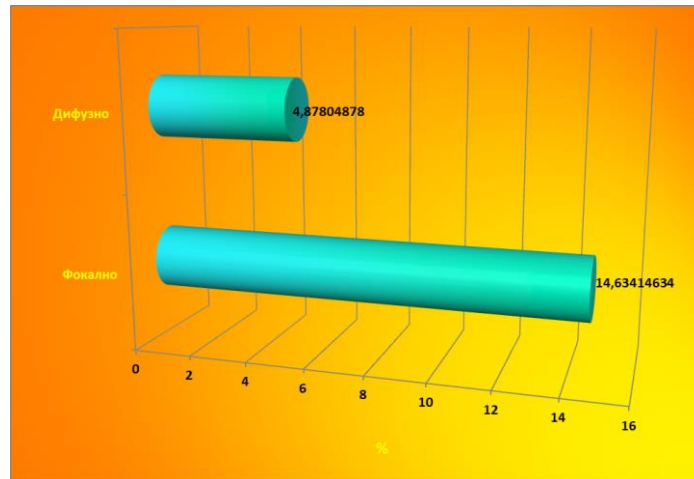
Фигура № 21: Честотно разпределение на пациентите по експресия на соматостатинов рецептор 2



Фигура № 22: Честотно разпределение на пациентите по експресия на соматостатинов рецептор 5 (липсват данни за един от пациентите)



Фигура № 23: Честотно разпределение на пациентите по фокална и дифузна експресия на соматостатинов рецептор 2



Фигура № 24: Честотно разпределение на пациентите по фокална и дифузна експресия на соматостатинов рецептор 5

От фиг. 25 става ясно, че:

- Възрастовият диапазон на включените в извадката пациенти е между 24 и 86 години;
- С най-голяма честота (около 10%) е възрастта 57 години, следвана от 74 и 77 с по около 7,5%, а с най-малка – 24, 30, 65, 66, 68, 71, 83 и 84 години с по около 2%.

В процентно отношение жените са значително повече от мъжете - 71/29 или приблизително 7:3 (фиг. 26).

С най-голям относителен дял (31,7%) са пациентите с хистологичен вид на тумора NEC, следвани от NET с 24,4%, а с най-малък (с по 4 или с по 9,8%) – NETG1 и MANEC (фиг. 27).

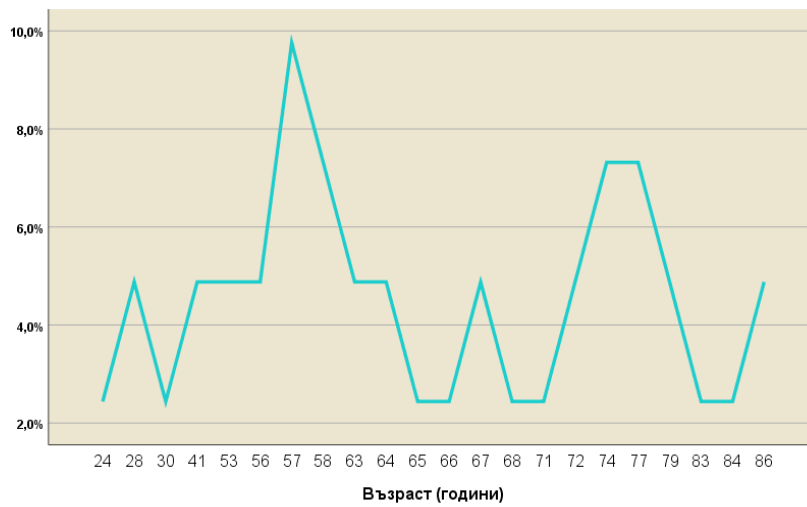
Най-често срещаният онкологичен стадий е III (при половината от пациентите), следван от IV с 25%. Най-малко са имащите стадий I – 7,5% (фиг. 28).

От табл. 30 става ясно, че:

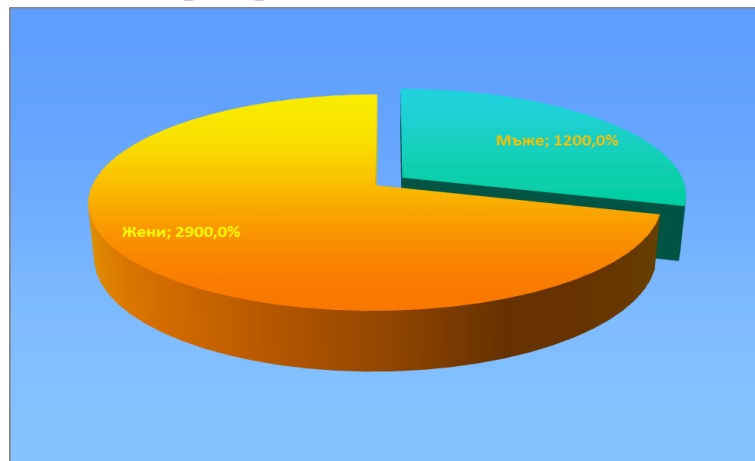
- Най-много (14 или 34,1%) от включените в извадката пациенти са диагностицирани през 2016 година, следвани от тези през 2012 (7 или 17,1%);
- Най-малко – две през 2011 и 2018 – последната, незавършила още година на проучването.

На фиг. 29 се вижда, че с най-голям относителен дял са пациентите с индекс Ki67 над 20% - 19 или 46,3%, следвани от имащите между 2 и 20% (16 или 39%) и на последно място от имащите под 2% - 6 или 14,6%.

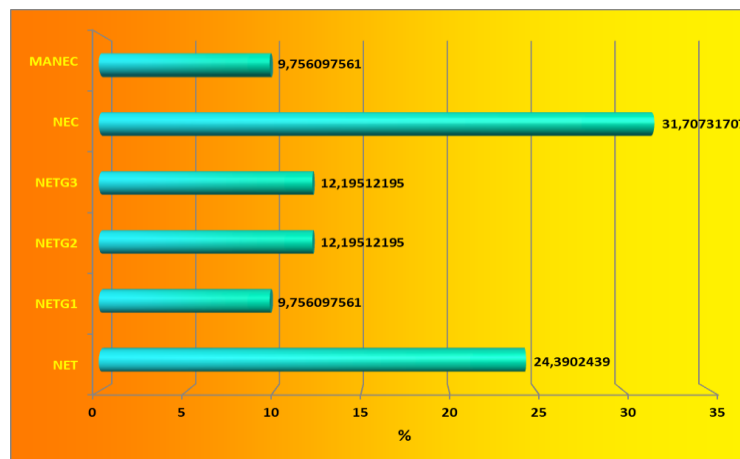
По отношение на диференциацията – най-много (53,7%) са тези със слаба (G3), следвани от имащите умерена (39%) и най-малко висока (7,3%) (фиг. 30).



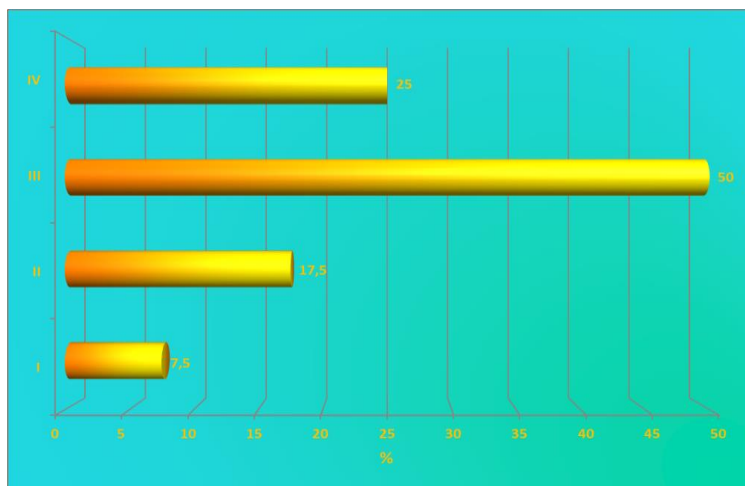
Фигура № 25: Честотно разпределение на пациентите по възраст



Фигура № 26: Честотно разпределение на пациентите по полова принадлежност



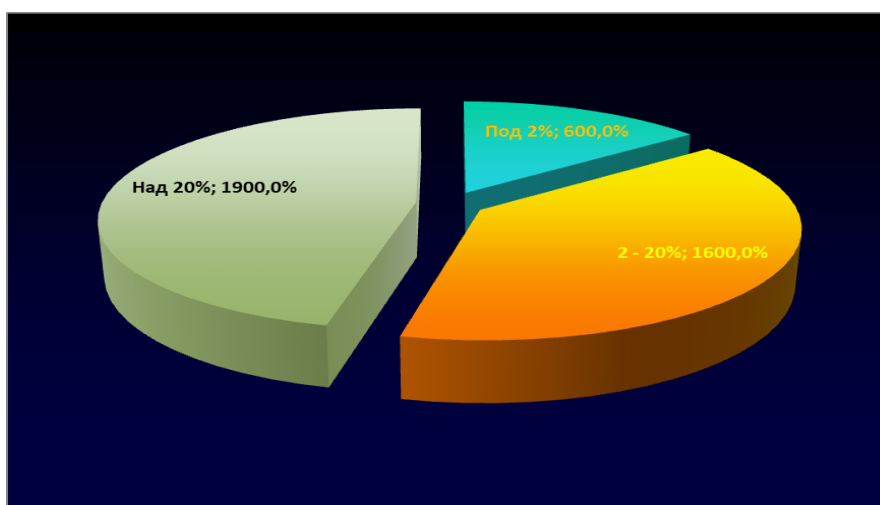
Фигура № 27: Честотно разпределение на пациентите по хистологичен вид



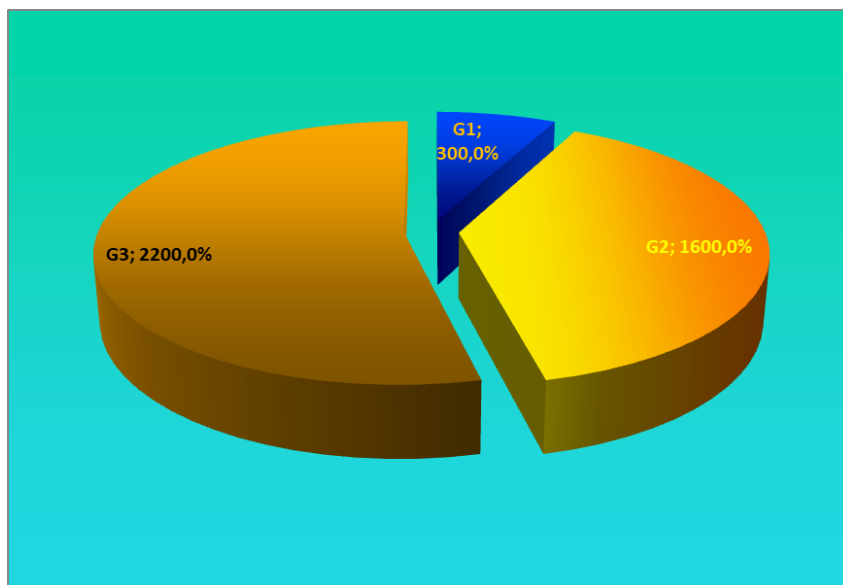
Фигура № 28: Честотно разпределение на пациентите по онкологичен стадий

Таблица № 20: Честотно разпределение на пациентите по години на диагностициране

Година на диагностициране	Брой	Относителен дял (%)	Sp
2011	2	4,9	3,4
2012	7	17,1	5,9
2013	2	4,9	3,4
2014	4	9,8	4,6
2015	4	9,8	4,6
2016	14	34,1	7,4
2017	6	14,6	5,5
2018	2	4,9	3,4
Общо	41	100,0	



Фигура № 29: Честотно разпределение на пациентите по индекс Ki-67



Фигура № 30: Честотно разпределение на пациентите по диференциация

V. ОБСЪЖДАНЕ

Според Световната здравна организация (СЗО) за рядко заболяване в ЕС се приема това, което е с честота не повече от 5 на 100 000 души, докато в САЩ – не повече от 1 на 200 000. Годишната заболеваемост от НЕТ-и е 5-8 човека на 100 000 население. [157, 137] От тук става ясно, че невроендокринните тумори към настоящия момент не се причисляват към редките заболявания. Данните за епидемиологията им са все още непълни, поради тяхната разнородност и липсата на бази данни върху големи популации от пациенти. От наличните данни се оказва, че епидемиологичните характеристики и поведение на тези тумори зависят значително от анатомичния произход и биологичните характеристики на туморните клетки.

През 2015 година стартира проект за мултинационално регистриране на невроендокринни неоплазми, създаден от Европейската асоциация по невроендокринни тумори. В проекта се включени 7 страни. Анализирани са следните показатели: честота, възраст, пол, първична локализация, функционален синдром, WHO – класификация, грейдинг, обща преживяемост и видове лечение. Общият брой пациенти включени в проучването са 10 102. Средната възраст на поставяне на диагнозата е 59 години, като жените съставляват 48% от общата популация. Средната обща преживяемост е 178 месеца. [92] В пилотно проучване, проведено в

България за периода 2012-2013 година, общият брой на диагностицираните НЕТ- и, включени в проучването са 127, като от тях 54.1% процента са разположени в ГИТ и 12.3% в панкреаса. Не е упомената общата преживяемост, поради краткостта на проучването. Средната възраст на поставяне на диагнозата е 56.1 години.

В нашето проучване са включени 41 пациента със средно време на проследяване $22,41 \pm 2,45$ месеца. Средната обща преживяемост е $42,72 \pm 6,38$ месеца, която е значително по-ниска в сравнение с тази, описана в европейските страни. Относителният дял на жените е по-голям в сравнение с относителния дял на мъжете. Процентното отношение е приблизително 7:3 в полза на жените, което е съпоставимо с епидемиологичните данни от големи европейски популационни проучвания. От друга страна, според данните от проекта за мултинационално регистриране на НЕТ-и, публикувани през 2018 година, относителният дял на мъжете (52,1%, n= 5260) е по-голям в сравнение с относителния дял на жените (47,9%, n=4842).[92]

По отношение на хистологичния вид прави впечатление, че преобладават невроендокринните карциноми G3, а с най-малък дял са невроендокринните тумори G1. В единственото пилотно проучване проведено в страната ни, невроендокринните неоплазми са разделени според степента на диференциация на 4 групи: високо диференцирани (G1), умерено диференцирани (G2), слабо диференцирани (G3) и недиференцирани (G4).[7] Най-голям дял в това проучване заемат G3 туморите. Според последната класификация на ENETS от 2018 година, G3 туморите се разделят на високодиференцирани G3 невроендокринни тумори и слабо диференцирани G3 невроендокринни карциноми. Ето защо сравняването на честотата на ГЕП-НЕТ-и по отношение на диференциацията се оказва нерелевантно, поради липсата на стандартизирани класификационни системи, както в страната, така и в световен мащаб. Същият проблем се наблюдава и в опитите ни да сравним нашите резултати с тези в достъпната литература по отношение на стадий на заболяването, тъй като стадият при НЕТ-и до голяма степен се определя от диференциацията на тумора. С най-голям относителен дял (48.8%) са пациентите със стадий на заболяването III, което корелира с броя пациенти с G3 неоплазми. Най-голям процент са туморите с пролиферативен индекс

(Ki-67) над 20%, което също кореспондира с високия брой случаи на G3 неоплазмите.

По отношение на хистологичния вид от статистическите данни е видно, че преобладават слабо диференцираните тумори (NEC) с относителен дял 31.7%. Добре диференцираните тумори заемат 24.4% от общия брой тумори, докато смесени хистологични типове – най малък дял – 9.8%. Що се отнася до туморите в панкреаса – липсва по-прецизна информация по отношение на техния хистологичен подтип, поради липса на информация в онкорегистъра.

Друга тенденция, която наблюдавахме в проучването ни, е нарастването на броя на диагностицираните гастроентеропанкреасни невроендокринни неоплазми за изследвания период. Най-много пациенти с ГЕП-НЕТ-и са отчетени през 2016 година – 34.1%. За 2018 година са включени най-малко пациенти, но тази негативна тенденция се дължи на факта, че в момента на събиране на данните, годината не е била завършена. Значителна част от това увеличение се дължи на по-доброто познаване от клиницистите на този тип злокачествена патология от една страна, а от друга на трайното нарастване на онкозаболявания, както в национален порядък, така и в световен мащаб. [2] Не бихме могли да правим сравнителни анализи с тенденцията за честота на ГЕП-НЕТ в България, тъй като към момента липсва единен работещ регистър за невроендокринни неоплазми. Въпреки, че тези тумори са обект на изследвания вече над 30 години, в страната ни все още липсва национално многоцентрово проучване, свързано с тяхната епидемиология. В световен мащаб подобни търсения са налице. В проучване проведено в университета в Кентъки, САЩ за периода 1995 – 2012 година, публикувано през 2018 година се отчита нарастване на честота на НЕТ-и от 3.1 на 7.1 на 100,000 души.[8] Тази тенденция се потвърждава и от други големи проучвания, проведени в САЩ и Европа. [8]

Клиничната класификация (сTNM) е водещ прогностичен белег при невроендокринните неоплазми и до голяма степен определя избора на лечение. [200, 8] TNM – класификацията при ГЕП- НЕТ-и е въведена от ENETS едва през 2006 година и към настоящия момент е претърпяла няколко промени. [216, 26, 229] Това до голяма степен определя невъзможността за адекватен статистически анализ на данните ни по отношение на сTNM. В проследена от нас серия от пациенти не е

приложена клиничната TNM класификация. Използвана е патологичната (pTNM) класификация, която дава най- прецизни прогностични данни. [212]

Интерпретацията на данните по отношение на локализацията на туморите, показва, че с най- голям дял са пациентите с такава в дебелото черво, следвани от тази в апендикса. Според пилотното проучване, проведено у нас за периода 2012-2013 година, най-голям относителен дял заемат туморите на дебелото черво ($22.95 \pm 3.81\%$), следвани от тези на тънко черво и най-малък процент са тези на хранопровода. [7] В световен мащаб обаче, най-висок е процентът на туморите, локализирани в панкреаса, следвани от тези в тънко черво, докато тези в дебелото черво заемат 4.2%. [92]

Тези разнопосочни и нееднородни тенденции в динамиката на ГЕП-НЕТ-и потвърждават липсата на стандарти по отношение на класификация, диагностика и лечение и показват нуждата от такива.

Поставихме си за цел да проучим експресията на соматостатинови рецептори 2 и 5 в обследваните от нас пациенти. Важна характеристика на невроендокринните тумори е именно свръхекспресията на соматостатинови рецептори, което позволява получаване не само на високоспецифичен образ чрез нуклеарно медицински методи, но така също и персонализирано радионуклеидно лечение. Редица проучвания анализират връзката между експресията на соматостатинови рецептори при НЕТ-и и тяхната прогноза. Соматостатиновите аналози играят съществена роля във фармакологията от 1980 година. Соматостатинът се свързва с всички соматостатинови рецептори, за разлика от това първият синтезиран соматостатинов аналог октреотид и следващият синтезиран ланреотид се свързват само с SSTR2 и SSTR5. В приложение №7 са отбелязани основни моменти от откриването на соматостатина до употребата на съвременни антагонисти.[Приложение № 7]

Неотдавнашни проучвания доказаха, че голяма част от невроендокринните неоплазми експресират соматостатинови рецептори SSTR1-SSTR5, като това до голяма степен зависи от диференциацията и вида на тумора. [120, 26, 245, 187, 208] Имунохистохимични изследвания при гастроентеропанкреасните невроендокринни неоплазми показват, че в най-

висок процент се експресират тип SSTR2 (84-100% от случаите с G1-G2), а в по-малък SSTR5 (55-83%). [187, 208] Експресията на соматостатиновите рецептори зависи от диференциацията, локализацията, хистологичния тип и функционалността на тумора. [96] SSTR 2а показва експресия в 100% от гастриномите, 58% от инсулиномите и 86% от гастроинтестиналните НЕТ-и, докато SSTR5 имунореактивността е открита при 76% гастриномите, 78% от инсулиномите и 83% от ГЕП-НЕТ-и [49]

В нашето проучване позитивна експресия на соматостатинов рецептор 2 се наблюдава при 22% от пациентите, а за соматостатинов рецептор 5 - 20%. За позитивна експресия на SSR2 приехме мембранно или мембранно и цитоплазмено оцветяване, докато за SSR5 – всяко оцветяване, както цитоплазмено, така и мембранно. Ниската честота на експресия на двата рецептора може да обясним с високия процент на слабодиференцирани невроендокринни карциноми G3 в изследваната от нас кохорта от пациенти. Поставихме си за задача да изследваме и сравним фокалната и дифузна експресия на двата рецептора. Съотношението дифузна/фокална експресия за рецептор 2 е приблизително 1.2/1, докато за рецептор 5 е 1/3. В някои проучвания се подчертава ролята на фокалната експресия като причина за липсата на ефект от лечението със соматостатинови аналози. [241]

Експресията на соматостатинови рецептори при ГЕП-НЕТ- и има антипролиферативен, антимиотичен и имуномодулаторен ефект.[181, 49] Няколко проучвания анализират експресията на SSR2 и SSR5 при гастроентеропанкресни невроендокринни неоплазми. Zhao et al докладват 86.7% експресия при ГЕП- НЕТ-и за SSR2 и 47.2% за SSR5.[268] Volante et al. съобщават за 79% експресия на SSR2 при високо диференцираните тумори, докато за слабо диференцираните е 44%. SSR5 се експресира в 71% от добре диференцираните тумори, докато в слабо диференцираните експресията е едва 28%.[250] Според степента на диференциация, SSTR 2 се експресират в 91% от G1 туморите, 82,8% в G2 и 100% в G3. Докато SSTR5 показват експресия в 81,8%, 60% и 0% съответно от степен G1, G2 и G3. По отношение на локализацията на тумора, също се наблюдава хетерогенност в експресията на двата упоменати рецептора. Осемдесет и пет процента от панкреасните, 100% от стомашните, 70% от тънко-чревните, 85.7% от апендикуларните и 100% от ректалните НЕТ-и показват SSTR 2 експресия. SSTR 5 се позитивират в: 61.9% от панкреаса, 37.5% от

стомаха, 70% от чревния 71,5% от апендикуларните и 66,6% от ректалните невроендокринни тумори.[265]

Поставихме си за цел да анализираме зависимостта между диференциация на тумора и експресия на SSR2 и SSR5, но резултати ни не показаха статистическа достоверност ($p=0.176$). Вероятната причина за това е малката кохорта от пациенти. Проведохме и бинарен логистичен регресионен анализ, за да търсим зависимост между експресията на упоменатите рецептори и хистологичния вид на тумора. Отново не получихме статистически достоверен резултат ($p=0.190$). Bertherat et al. са установили експресия за SSR2 и SSR5 приблизително еднаква – 70%. [22] Naikayama et al. са доказали експресия от 81% за SSR2 при слабо диференцираните ГЕП-НЕТ-и. [185] Pisarek et al. установяват, че експресията на SSR5 намалява с увеличаване на степента на диференциация на тумора. [201] Volante et al откриват SSTR2 в 79% от добре диференцираните невроендокринни тумори / карциноми и при 44% от слабо диференцираните невроендокринни карциноми. SSTRs 3 и 5 са положителни в 44% и 71% от невроендокринните тумори / карциноми, и 17% и 28% от нискодиференцираните невроендокринни карциноми. Слабо диференцираните тумори [G3 тумори и невроендокринен карцином (NEC) + смесен аденоендокринен карцином (MANEC)] имат по-ниска SSTR2 експресия в сравнение с добре и умерено диференцирани тумори [G1, G2 тумори и невроендокринен тумор (NET)]. Експресия на SSTR2 в тумори на стадий I и II е 77.5%, което е значително повишено в сравнение с туморите на стадии III и IV (58.3%; $P = 0.014$). По подобен начин експресията на SSTR5 е значително по-висока при панкреасни и добре диференцирани тумори в сравнение с гастроинтестиналните и слабо диференцирани тумори. [253] Подобна зависимост в проведеното от нас проучване ние не констатирахме. В друго проучване на Zamora et al., проведено с 100 пациента с ГЕП-НЕТ-и , при 86% от тях е наблюдавана положителна експресия за SSR2 и 62% за SSR5. Авторите на проучването съобщават, че експресията на двата рецептора е наблюдавана предимно при нефункционалните гастроентеропанкреасни тумори, както и че, позитивността намалява с увеличаване степента на диференциация. [266] В нашето проучване се наблюдава по-висок процент на експресия на рецепторите при G2 туморите. В друго се споменава за корелация между експресията на SSR5, диаметъра и агресивността на тумора. Интересна зависимост, която не е проследена в нашето проучване.

В проследената от нас кохорта от пациенти, процентът на тези с диагностициран невроендокринен тумор на панкреаса е много нисък. Не разполагаме с данни за точния хистологичен вариант на тумора. По литературни данни инсулиномите са в 90% от случаите доброкачествени и самостоятелни и при 99% са разположени в панкреаса.[227] Те експресират SSTR1 и SSTR2, докато de Sa et al., (2006) съобщават за SSTR5 положителна експресията, свързана с размера на тумора и агресията. В допълнение, като се използват високоселективни непептидни агонисти в радиолигандните конкурентни изследвания, те откриват SSTR2 и SSTR5 свързващи места в 72%, SSTR3 в 44%, SSTR1 в 44% и SSTR4 в 28% от инсулиномите. [227]

Глюкагономът е третият най-често срещащ се ендокринно-секретиращ тумор на островните клетки, който в 70% от случаите е злокачествен. Глюкагономите показват висока експресия на SSTR2 и по-ниска експресия на SSTR5. Въпреки това, поради много ниската честота на глюкагономите, е трудно да се направи общо твърдение относно типичния модел на експресия на SSTRs.

Гастриномите (гастрин-произвеждащи тумори) представляват до 20% от панкреатичните ендокринни тумори. SSTR2 (до 100%) и SSTR5 (76 - 100%) се експресират предимно в гастриноми, което корелира добре с клиничната реакция при лечение с октреотид.

Соматостатиномите (соматостатинови тумори), които са 90% злокачествени и PP-продуциращи тумори са изключително редки. VIPomas са вазоактивни чревни полипептиди, произвеждащи тумори, които често се намират в ендокринните островчета. Поради много малкия брой на двете туморни единици е трудно да се направи общо твърдение относно SSTR експресията. Обаче, соматостатиновите агонисти са полезни за облекчаване на симптомите, свързани с туморната единица, която е злокачествена в 80-90% от случаите. [93] Опитвайки се да обобщим всички тези няколко публикувани досега случая, SSTR5 изглежда се изразява предимно в соматостатиноми, докато SSTR2 се изразява предимно във VIPomas [93], осигуряване на молекулярна основа за диагностично и терапевтично насочване с радиоактивен октреотид.

Zhao et al. докладват, че експресията на SSR2 е негативен прогностичен фактор, но 90% от изследваните тумори са били локализирани в стомах и тънко черво.[268] В същото проучване експресията на SSR5 е била много ниска (47.2%) , което частично съвпада и с данните в нашето проучване по отношение на експресията на SSR5. Подобна ниска честота на експресия на SSR5 наблюдава и екипа на Yerci et al. Ние не установихме корелация между експресията на SSR2 и Ki-67 индекса. Това може да се дължи на локализацията на туморите от една страна, а от друга на броя на пациентите. Повечето проучвания потвърждават, че SSR2 се експресира предимно при добре диференцирани тумори, докато експресията на SSR5 намалява при същите тумори. Такава зависимост се наблюдава в нашето проучване (табл. 16 и 17) Ki-67 индексът е прогностичен белег според редица автори. [269] От своя страна позитивната експресия на SSR5 може да бъде добър прогностичен белег за тумори, локализирани в панкреаса. [265]

Освен в диагностика и като таргет за лечение експресията на соматостатинов рецептори 2 и 5 се явява и по-добър предиктор за приживяемост, отколкото Ki-67% индекса при пациенти с панкреатични тумори.[264] По-слабата експресия на SSR2 корелира с намаляване на общата преживяемост, докато при по-изразената позитивност на рецептора преживяемостта е по-добра. По-ниската експресия на SSR2 предполага и по-слаб ефект от проведеното лечение. В нашето проучване с 29 месеца е по-ниска преживяемостта при пациентите с позитивна експресия на SSR2 спрямо тези с негативна. Това бихме обяснили с факта, че в нашето проучване процента на пациентите с НЕТ-и на панкреаса са едва 19.5%.

По отношение на ролята на експресията на SSR5 като предиктор на преживяемост проучванията в световен мащаб са ограничени. В нашето обследване преживяемостта при пациенти с положителна експресия на SSR5 е със 17 месеца по-ниска. Сравнявайки данните за двата рецептора, може да заключим, че зависимостта между преживяемост и експресия на соматостатинов рецептор е по-силна за соматостатинов рецептор 2. През 2009 година колектив на Corleto et al изследват имунохистохимичната експресия на SSR2 и SSR5 при 33 пациенти с НЕТ. Те показват, че при пациентите с ниска експресия на SSR2 и SSR5 и Ki-67 индекс над 2% имат ниска обща преживяемост и лоша прогноза.[51] Затова и ние решихме да

проверим дали едновременната експресия на SSR2 и SSR5 води до ниска обща преживяемост в обследваните от нас пациенти. С около 27 месеца е по-ниска общата преживяемост при пациентите с едновременна експресия на SSR2 и SSR5. Резултат, който се доближава до данните в литературата.

Навлизането на соматостатиновите аналози, маркирани с позитронни емитери подобри значително диагностиката на невроендокринните неоплазми. Според проучванията соматостатиновата сцинтиграфия има най-висока чувствителност и специфичност в сравнение с останалите образни методи. Чрез нея се изследва експресията на соматостатиновите рецептори, като за високо диференцираните тумори – тя е значителна, а за нискодиференцираните – ограничена. Високата експресия на рецептори предполага лечение със соматостатинови аналози, а ниската – употреба на общи схеми на химиотерапия.[4] Има някои проучвания, които сравняват имунохистохимичната експресия на рецепторите с резултатите от соматостатиновата сцинтиграфия. Volante et al. провеждат проучване, сравняващо експресията на соматостатинов рецептор 2 чрез имунохистохимичен метод и чрез соматостатинова сцинтиграфия. Сходството на двата метода достига до 77% ($p < 0.0001$), както сходството за добре диференцираните тумори е 79%, а за слабо диференцираните е 94%. [144] Високият процент на сходство на двата метода показва по-скоро нуждата от приложение и на двата метода едновременно в съвременната клинична практика, отколкото тяхното противопоставяне. Соматостатиновата сцинтиграфия е най-чувствителният и точен образен метод при определяне локализация на първичния тумор, стадий, наличие на рецидив, индивидуална терапия, в това число и пептидната радионуклеидна терапия при пациенти резистентни на друг вид лечение.[5] Тази техника обаче не би могла да идентифицира точно кои рецептори експресира съответният тумор, което би могло да се определи чрез имунохистохимичното изследване. Коя от двете техники – имунохистохимичната или сцинтиграфската биха определили най-добре соматостатиновия профил на тумора е въпрос, който все още не е изяснен от експертите. Към момента е приета соматостатиновата сцинтиграфия за златен стандарт в детекцията на соматостатинови рецептори.[23] Имунохистохимичният метод изглежда като най-добрата алтернатива, поради следните предимства: детекция на рецепторния протеин, възможност за прецезиране на клетъчния тип, експресиращ рецептора, възможност за приложение при архивирани материали (тъкани), ниско

съотношение цена/ползи, лесна употреба в лабораторни условия.[170, 202, 19, 16] Като сериозен недостатък на имунохистохимичния метод се изтъква липсата на стандартизация на метода и неопределената чувствителност на същия. Скала за оценка на експресията на соматостатинов рецептор 2 е предложена от Volante и сътрудници и приета, но не е утвърдена. В бъдеще са необходими още проучвания върху големи популации с цел създаване на стандартизирани процедури за имунохистохимична оценка на експресията на соматостатинови рецептори. Един от недостатъците на нашето проучване е невъзможността за изследване на експресията на рецепторите чрез сцинтиграфия, тъй като в страната се провежда подобно изследване само на едно място и то през последните 5 години. Сравняването на двата метода би могло да бъде наша бъдеща цел.

От проследените пациенти в нашето проучване пациенти, седем не са получили хирургично лечение. При 16 пациента е извършена нерадикална хирургична резекция, а при 18 от тях радикална такава. За нерадикална приехме тази хирургична намеса, която не отговоря на Европейските препоръки за съответния обем хирургична интервенция. При 7 от нерадикалните хирургични резекции, туморът е бил локализиран в апендикса. При тези пациенти е извършена само семпла апендектомия. Не е била оценена локализацията на тумора (връх, основа), инвазията в мезоапендикса, лимфната инвазия и васкуларната инвазия, фактори, които определят обема на хирургичната интервенция. Ако един от тези фактори съществува се препоръчва дясна хемиколектомия.[192] Диференциацията на тумора също е фактор, определящ вида на оперативната намеса. При G2 туморите се препоръчва дясна хемиколектомия. При 4- ма от пациентите – туморът е бил с G2 диференциация. Подходът при нашите пациенти не отговоря на стандартите и препоръките на ENETS, основно поради липса на познания и алгоритми на поведение в нашата страна.

Добре диференцираните тумори под 1 см не се нуждаят от проследяване. За тумори между 1 и 2 см проследяването е желателно, но не и препоръчително. Тумори над 2 см – задължително проследяване на 6 и 12 месеца и след това на всяка година, въпреки че все още няма утвърден стандарт.

Хирургичната тактика при НЕТ на апендикс се базира на специфични патологоанатомични и клинични критерии, разработени и препоръчани от Европейската асоциация по невроендокринни тумори.

Въпреки наличните към момента проучвания, които показват, липсата на сигнификантна разлика в преживяемостта след апендектомия по повод на невроендокринен тумор на апендикса, сравнена с преживяемостта след дясна хемиколектомия, ENETS 2017 съветва да се придържаме към последните установени консенсуси.

При 3-ма от пациентите, туморът е бил локализиран в главата на панкреаса. При тези пациенти са извършени палиативни оперативни вмешателства, обходни анастомози. Хирургичното лечение е златен стандарт в лечението на тези тумори. Локализация в опашката на панкреаса изисква дистална панкреатектомия със синхронна спленектомия, докато при тумори в главата на панкреаса се препоръчва енуклеация или панкреатикодуоденектомия.[95, 183, 97] За инсулиномите под 2 см е показана енуклеация под ултразвуков контрол.

Екипът на КОЧПХ – УМБАЛ – Александровска Болница препоръчва следните критерии като контраиндикации за радикални оперативни интервенции: инфилтрация на Truncus coeliacus(>180°), инфилтрация на A. mesenterica superior (>180°), тромбоза или инфилтриране на голямо протежение на Vena portae, далечни метастази, ангажиране на съседни органи.

Европейската асоциация по НЕТ-и препоръчва да се съблюдават следните критерии при избор на лечебен метод за панкреасните невроендокринни неоплазми:

- Да се определи дали туморът е резектабилен или не
- Да се определи дали има далечни метастази или не
- Да се определи дали туморът е функционално активен или функционално неактивен [1, 1, 95, 155]

Изборът за лечение до голяма степен зависи от тези три критерия. Останалите 6 пациента получили нерадикална резекция са били с невроендокринен карцином на тънко черво с диаметър над 2 см. И в трите случая е извършена икономична резекция с последваща термино-терминална анастомоза без съответния обем лимфна дисекция. Причината

за това е, че и тримата пациенти са оперирани в условията на спешност и диагнозата НЕТ е поставена след хистологичната верификация на трайния препарат.

Основният терапевтичен подход в случаите на НЕТ на тънко черво е хирургичната резекция на първичната лезия. Това е единственият метод на избор. При по-малки лезии (<1 сантиметър), икономичната резекция обикновено е достатъчна. Въпреки това, при лезии над 1,5 cm съществува висок риск от рецидив и по този начин се изисква сегментна резекция с лимфна дисекция на мезентериалните лимфни възли.[231] Установено е, че хирургията е от полза, дори при пациенти с метастазирало заболяване, както за получаване на симптоматично облекчение, така и за подобряване на преживяемостта. [57] Други възможности за симптоматично лечение на пациенти с хормонални симптоми включват биотерапия, използваща лекарства като аналози на соматостатина. Те са показани не само, за да осигурят симптоматично подобрение при 70-80%, но и да стационарират туморния растеж. [57] Лечението с цитотоксични, биологични и туморно-насочени радионуклеотидни агенти може да удължи преживяемостта и да помогне за облекчаване на симптомите. [2] НЕТ-и с висока пролиферативна активност (Ki67 > 20%) се лекуват подобно на рак на белите дробове с комбинирана химиотерапия с цисплатина-етопозид. Хирургията, радиочестотната аблация и чернодробната емболизация са включени в текущия терапевтичен подход при налични чернодробни метастази.[2]

Метастазите в черен дроб са чести при първоначално диагностициран невроендокринен тумор на тънко черво. Те зависят от размера на първичния тумор: тумори по-малки от 1 cm метастазират в два процента от случаите, тумори 1-2 cm метастазират в 50% и над 2 cm са клинично мълчаливи, но могат да причинят карциноиден синдром. Костните метастази са рядкост, повечето от които са остеопластични, но рядко се появяват литични или смесени лезии. [16] При нашите пациенти не сме наблюдавали далечни метастази, а само в регионалните лимфни възли.

При 18 пациента е извършена радикална оперативна интервенция. Анализът на резултатите показва, че при пациентите с радикална хирургия средната преживяемост е по-висока с 47 месеца. Статистическите тестове установиха, че разликите имат сигнификантен характер.

Останалите пациенти не са били подложени на оперативно лечение, регистрирани са в Регионалния Раков Регистър с решение за диспансерно наблюдение.

В резултат на литературния обзор и нашият опит става ясно, че лечението на невроендокринните неоплазми изисква не само радикално хирургично лечение, но също така и прецизна хистологична интерпретация и адекватна класификация. Соматостатиновите рецептори 2 и 5 са специфични и чувствителни в тераностиката на тези тумори, но липсата на валидацията им ги прави неприложими в съвременната медицина. Приложението на соматостатинов рецептор 2 и 5, както и хирургичното лечение трябва да се позовава на определени стандарти и алгоритми. [Приложение 8]

VI. ИЗВОДИ

1. Изводи, отнасящи се до епидемиологията и класификацията на ГЕП-НЕТ-и:

- 1.1 Отчитаме стабилно нарастване на честота на ГЕП-НЕТ-и, лекувани в хирургичните звена на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен за изследвания период. Не намерихме сигнификатна разлика по отношение на разпределението на пациентите по пол и възраст.
- 1.2 Преобладават (31,7%) пациентите с хистологичен вид на тумора NEC, следвани от NET с 24,4%, а с най- малък дял са (9,8%) – NETG1 и MANEC. По отношение на диференциацията, най-много са G3 туморите (53,7%), а с най-честа локализация са НЕТ-и на дебело черво (26.8%).
- 1.3 Необходимо е унифициране и стандартизиране на класификацията на ГЕП-НЕТ-и, която да позволи да се извършват сравнителни анализи от различни проучвания.

2. Изводи, отнасящи се до имунохистохимичната експресия на соматостатинов рецептор 2 и 5:

- 2.1 Позитивната имунохистохимична експресия на SSR2 SSR5 е приблизително еднаква и за двата маркера, но няма сигнификантен характер. Този резултат не съвпада с данните в достъпната до нас литература.

- 2.2 Соматостатинов рецептор 2 има роля като предикция за обща преживяемост и прогноза, но са нужни нови проучвания върху големи кохорти, за да се валидира като прогностичен маркер.
- 2.3 Едновременната експресия на двата рецептора в комбинация с Ki-67 индекса може да се използва като прогностичен маркер.
- 2.4 Насоките ни в бъдеще трябва да са насочени към обособяване на отделен раков регистър за НЕТ-и, под контрола на ENETS и едва тогава бихме могли да правим проучвания за експресия на тъканни маркери.

3. Изводи, отнасящи се до хирургичното лечение на ГЕП-НЕТ-и:

- 3.1 Оперативните вмешателства с радикален характер са 18 при средна преживяемост 57.452 месеца. Това показва необходимостта от познаване на стандартите за радикалност при различни локализации с цел удължаване на средната преживяемост.
- 3.2 Основните фактори, определящи обема и вида на оперативната намеса са размер на тумора, локализация, диференциация, васкуларна инвазия, лимфна инвазия и инвазия в мезоапендикса.
- 3.3. Прогнозата при тези тумори е многофакторна и зависи от синхронната комуникация между патолози, хирурзи и онколози.

VII. ПРИНОСИ

1. Приноси с научен характер.

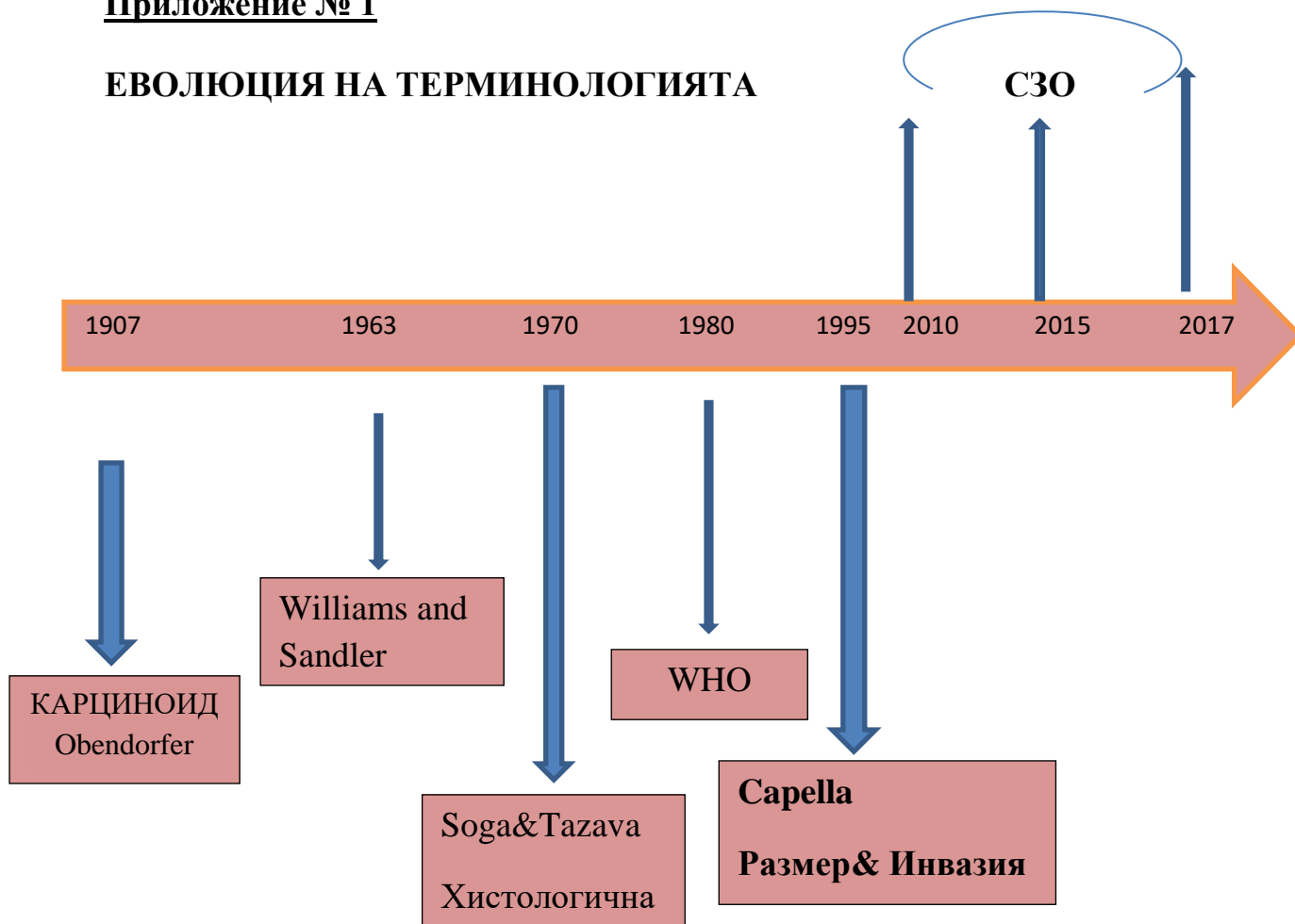
1. Проучени са възможностите и пропуските в епидемиологията, класификацията и оперативното лечение на ГЕП-НЕТ-и.
2. Предложен е протокол за имунохистохимична оценка на ГЕП-НЕТ-и, съобразен с последните препоръки на ENETS.
3. Предложен е план за създаване на център по компетентност по НЕТ-и в България под егидата на ENETS.

2. Приноси с приложен характер.

1. Проучена е ролята на хирургичното лечение при гастроентеропанкреасните невроендокринни неоплазми и са предложени алгоритми за радикално хирургично лечение при различни локализации.
2. Проучена е експресията на соматостатинови рецептори 2 и 5 и е изведена ролята им като предиктивни и прогностични фактори при ГЕП-НЕТ-и.
3. Набелязани са промени, свързани с диагностика и лечение на НЕТ-и в България:
 - ✓ В България към момента липсва единен раков регистър за невроендокринни неоплазми.
 - ✓ Погрешно се приемат невроендокринните тумори като рядко заболяване.
 - ✓ Употребява се неточна и неактуална терминология за невроендокринните неоплазми.
 - ✓ Използват се различни схеми за класификация от патолози, хирурзи и онколози, което води до сериозно забавяне в диагностиката на пациентите и неадекватно и навременно лечение.
 - ✓ Липсва център по компетентност за НЕТ-и в страната. Има създадени два центъра в България, но те не са под контрола на ENETS, което е предпоставка за несъвършенства по отношение диагностика, лечение и проследяване на пациентите с НЕТ-и.
 - ✓ Липсват достатъчно обучени специалисти в България в областта на невроендокринните неоплазми.

VIII. ПРАКТИЧЕСКИ ПРИЛОЖЕНИЯ
Приложение № 1

ЕВОЛЮЦИЯ НА ТЕРМИНОЛОГИЯТА



Приложение № 2

TNM-класификация на панкреасни невроендокринни тумори (ENETS).

T	Първичен тумор
Tx	Първичният тумор не може да бъде оценен
T0	Няма доказателства за съществуване на първичен тумор
T1	Тумор с размер < 2 cm, ограничен в панкреас
T2	Тумор с размер 2–4 cm, ограничен в панкреас
T3	Тумор с размер > 4 cm, ограничен в панкреас или инвазиращ дуоденум, или жлъчен канал
T4	Тумор, инвазиращ съседни органи (стомах, слезка, дебело черво, надбъбречна жлеза) или стена на големи съдове (<i>truncus caeliacus</i> или <i>arteria mesenterica superior</i>)

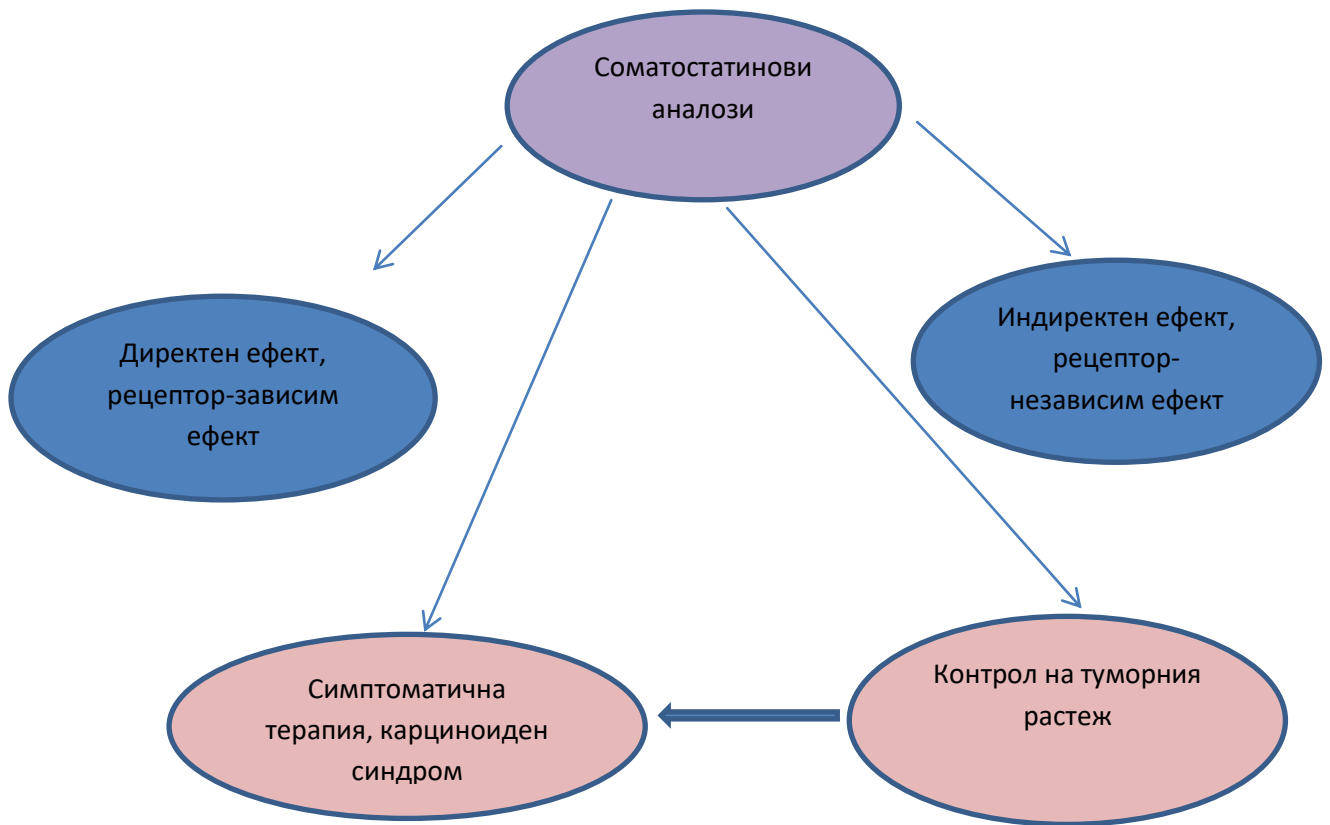
*За всеки вид T се добавя (m), ако са налични множествени тумори

Приложение № 3

Хистологичен и имунохистохимичен протокол за ГЕП-НЕТ-и според препоръките на ENETS (2017)

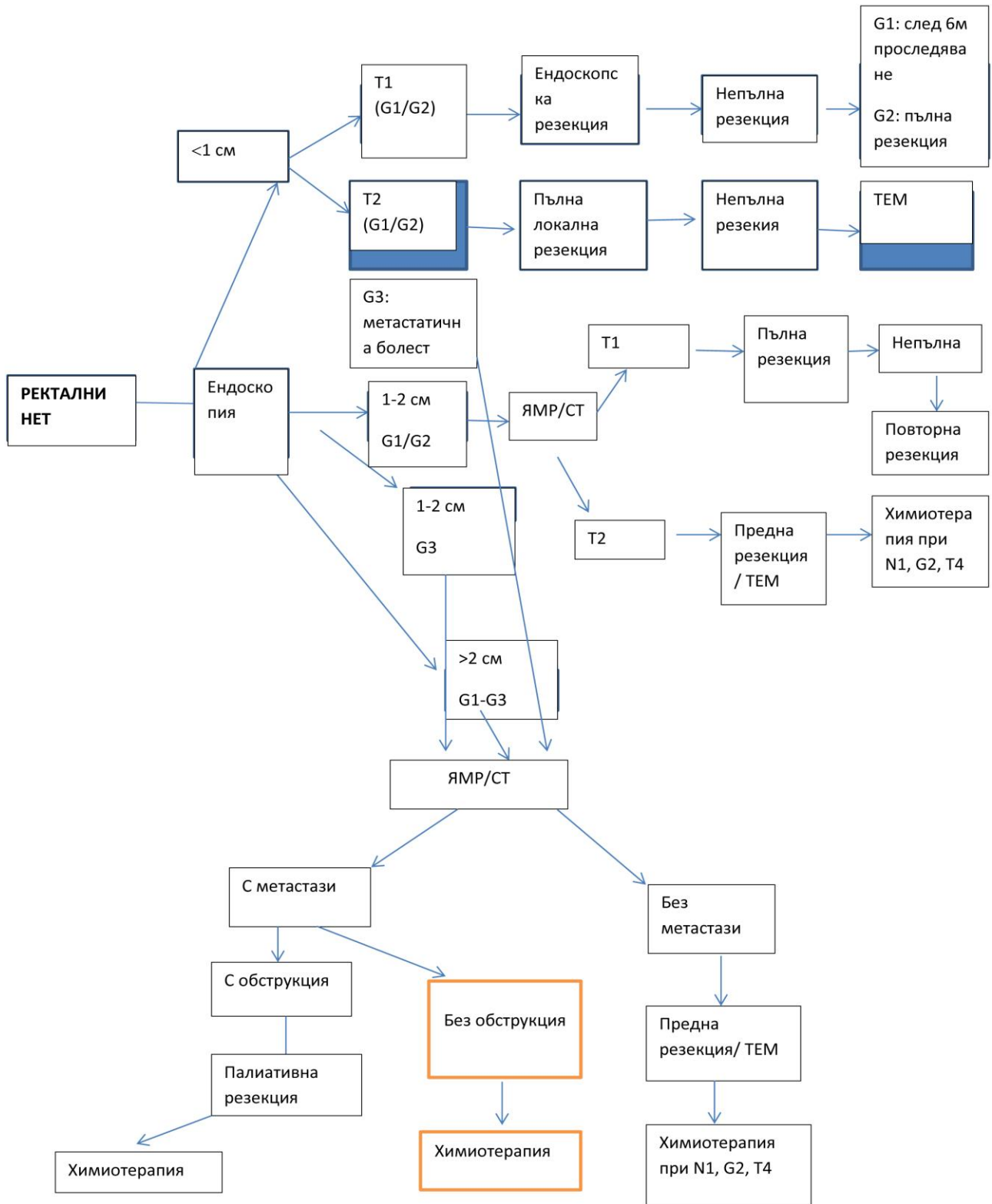
- **Описание на макроскопския препарат**
- **Локализация, размери и вид на тумора**
- **Изследване на мукозата за инфилтрация**
- **Резекционни ръбове**
- **Описание на морфологичната находка и ИХХ профил на тумора**
- **Описание на съдовата, периневрална или лимфатична инвазия**
- **Митотичен индекс (на 10 HPF-(x40)**
- **Ki-67 index (%)**
- **Ниво на инвазия**
- **Дълбочина на инвазия в - (mm)**
- **Разстояние до серозата в - (mm)**

Приложение № 4



Приложение № 5

Алгоритъм за лечение на ректални НЕТ-и:



Приложение № 6

Пол, възраст, локализация, хистологичен тип, диференциация, Ki-67 индекс, клиничен стадий, експресия на соматостатинови рецептори 2 и 5 при пациентския колектив, включен в проучването.

№	Пол	Възраст	Локализация	Хистология	G	Ki-67	Клинически стадий	SSTR 2	SSTR 5
1.	2	86	2	2	1	1	4	1	0
2.	1	63	6	4	3	3	3	1	1
3.	1	41	6	3	2	2	2	0	1
4.	2	74	3	4	3	3	4	0	0
5.	2	57	2	3	2	2	3	0	0
6.	2	67	2	3	2	2	3	0	0
7.	2	77	2	4	3	3	2	0	0
8.	2	28	3	3	2	2	3	1	1
9.	2	74	3	4	3	3	3	0	0
10.	2	30	3	1	2	2	3	1	1
11.	1	72	4	4	3	3	3	0	0
12.	2	86	2	2	1	1	3	0	0
13.	2	65	4	6	2	1	2	0	0
14.	2	58	4	2	2	1	3	0	0
15.	1	56	4	5	3	3	3	0	0
16.	1	41	6	5	3	2	4	1	0
17.	2	64	6	5	3	3	3	0	0
18.	2	57	4	1	2	2	4	0	0
19.	2	77	4	1	2	3	4	0	1
20.	1	79	6	5	3	3	3	0	0
21.	2	84	1	5	3	3	2	0	1
22.	2	56	3	2	2	2	4	0	0
23.	1	53	4	6	3	2	3	0	0
24.	2	67	4	6	3	3	4	0	0
25.	2	63	1	5	3	2	3	0	0
26.	2	74	3	5	3	2	3	0	0
27.	2	57	2	1	2	2	3	0	0
28.	2	58	6	5	3	3	2	0	0
29.	1	24	3	1	2	2	3	0	0
30.	2	77	4	1	3	3	3	0	0
31.	2	71	6	5	3	3	4	0	0
32.	1	66	2	5	3	3	2	0	0
33.	2	79	2	1	1	1	2	0	0
34.	2	72	4	5	3	3	1	0	0
35.	2	28	3	1	2	2	4	0	0
36.	2	68	6	5	3	3	4	0	0
37.	1	57	4	5	3	3	3	0	0
38.	2	53	1	6	3	3	1	1	1
39.	1	58	3	1	2	2	3	1	1
40.	2	64	2	3	2	2	1	1	0
41.	1	83	3	1	2	1	1	1	0

Легенда:

Локализация: 1- стомах, 2 – тънко черво, 3 - апендикс, 4- дебело черво, 5- ректум, 6- панкреас

Хистологичен тип: 1-NET; 2-NETG1; 3-NETG2; 4-NETG3; 5-NEC; 6-MANEC

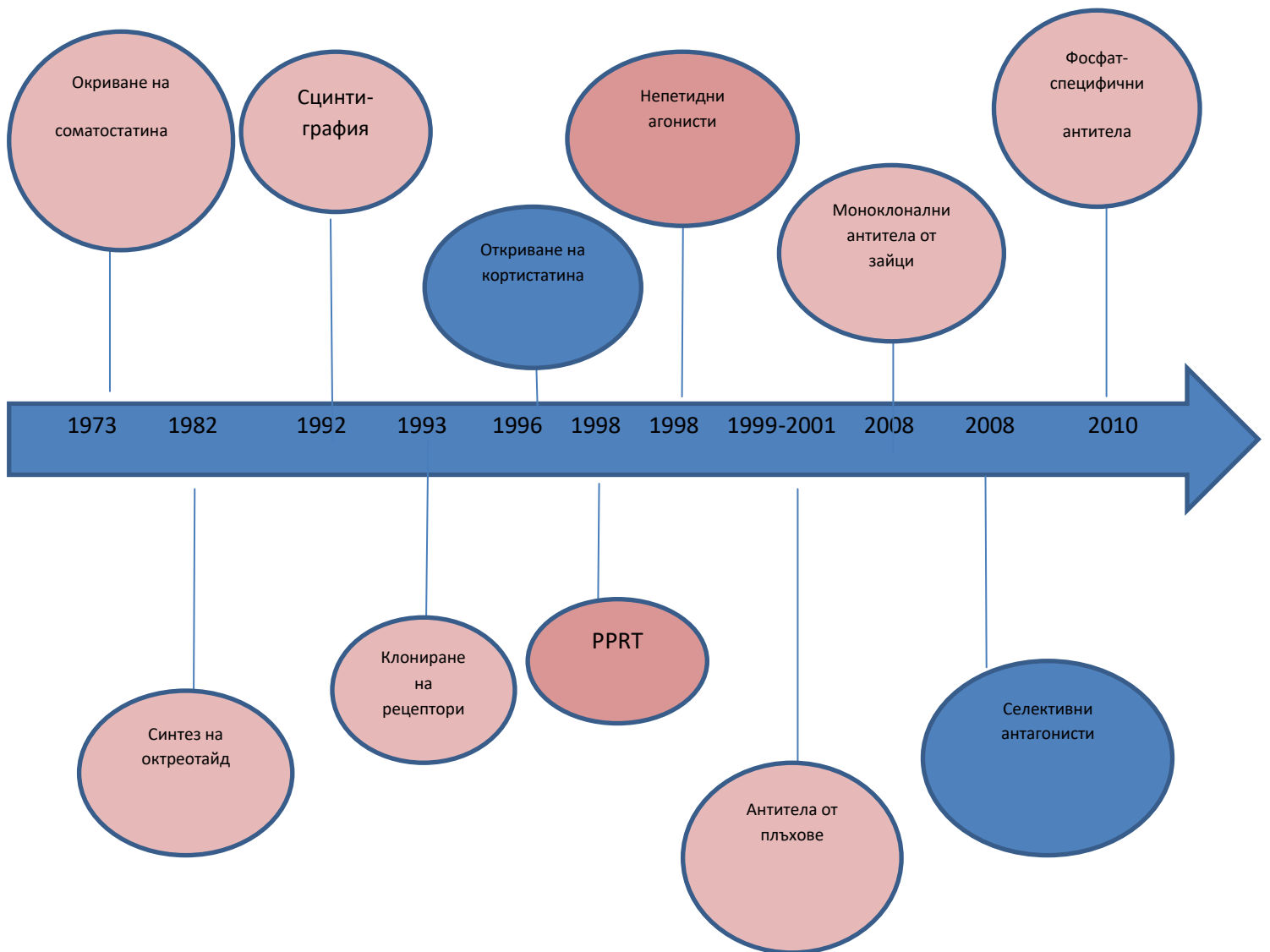
Диференциация: G1, G2,G3

Ki67: 0-неприложимо, 1-под 2%, 2-2-20%, 3-над 20%

SSTR2 (0-негативен, 1-позитивен)

Приложение № 7

История на соматостатина и неговите аналози



Приложение № 8

Таргетни задачи при лечението на ГЕП-НЕТ-и



ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **П. Владова**, С. Поповска, С. Илиев, П. Тончев, И. Пресолски, В. Грозев, П. Мирочник, Е. Филипов, И. Ристовски, К. Недялков, Е. Карастоянов. Проучване върху честотата, локализацията и морфологичната характеристика на невроендокринните тумори, оперирани в УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ - Плевен за 5-годишен период.;XIV Национален конгрес по Хирургия. София, октомври 2014. Сборник под редакцията на Акад. Д. Дамянов; 362-366.
2. **Владова П.**, Илиев С., Пресолски Ив., Недялков К., Поповска С. Невроендокринен тумор на апендикс или болест на Крон – диференциална диагноза и оперативен подход при липса на предоперативна хистология. Сборник научни съобщения от конкурсна сесия 2015. Пловдив 2015.с. 41-45.
3. **Vladova P.**, Popovska S., Iliev S., Ivanov I. A study of the frequency and localization of the gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors diagnosed and operated at the University Hospital – Pleven in 2014. Scripta Scientifica Medica. 2015; 47(1): 11-13.
4. **Vladova P.**, Iliev S. Surgical procedures for neuroendocrine neoplasms of the appendix – a consensus guideline. Scripta Scientifica Medica. Volume 49, number 3, 2017.
5. **П. Владова**, С. Илиев, П. Тончев, А. Габърски, И. Ристовски, П. Мирочник. Невроендокринен тумор на тънко черво – случай от практиката, анализ на поведението и избор на правилна тактика.;XVI Национален конгрес по Хирургия. Варна, октомври 2018. Сборник доклади от XVI Национален конгрес по Хирургия редакцията на Проф. Тодоров; 284-290.
6. **Vladova P.**, Iliev S. Popovska S. Surgical procedures for neuroendocrine neoplasms of the appendix: a consensus guideline review. Journal of biomedical and clinical research. Vol.10 Number 2, 2017: 87-89.
7. **Vladova P.**, Iliev S. Appendiceal neuroendocrine tumors – recent insights. International Journal of Surgery and Medicine. (*под печат*)
8. **Vladova P.**, Iliev S., Ivanov Iv., Popovska S. A retrospective study on the frequency and localization of the gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors diagnosed and operated in University Hospital - Pleven for the period 2011 – 2018 year. Endocrinology, (*под печат*)

УЧАСТИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Vladova P.**, Iliev S., Popovska S., Nedqikov K., Mirochnik P. Neuroendocrine tumor of the appendix - a case report, 12th International conference for students and young doctors; October, 2014, Pleven.
2. **Vladova P.**, Popovska S., Iliev S., Nedyalkov K. Study on the frequency, location and morphological characteristics of neuroendocrine tumors operated on at University Hospital " Dr. G. Stranski " Pleven for a time period of 5 years. 16th Congress of the European Neuroendocrine Association; 10-13 September 2014 Sofia, Bulgaria.
3. **Vladova P.**, Popovska S., Iliev S., Ivanov I. Incidence and morphological characteristics of the gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, diagnosed and confirmed for one year in UMHAT Dr. Georgi Stranski, Pleven. Virchows Archiv European Journal of Pathology. 2015; 467(1): 247-248.
4. **Vladova P.**, Iliev S., Presolksi Iv., Nedyalkov K., Popovska S. Neuroendocrine tumor of appendix or Morbus Crohn differential diagnosis and operative approach without preoperative histology. Folia Medica. 2015; 57(1): 144-145.
5. **Vladova P.**, Popovska S., Iliev S., Tonchev P. Exploring the rising incidence of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors according to the data from Regional Cancer Registry: a population-based analysis of epidemiology. 13th Annual ENETS Conference, 9-11 March, 2016, Barcelona, Spain. (c IF – 2.584)
6. **Vladova P.**, Iliev S., Popovska S. Changes in the frequency and epidemiology of the gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, diagnosed in the University Hospital of Pleven, Bulgaria from the period 2010 to November 2016. 14th Annual ENETS Conference, 8-10 March, 2017, Barcelona, Spain. (c IF – 2.583)
7. **Vladova P.**, Iliev S., Popovska S. Prognostic value of immunohistochemical expression of somatostatin receptors (SS-R2 and SS-R5) in the gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, diagnosed in the University Hospital of Pleven, Bulgaria from the period 2010 to November 2017. 15th Annual ENETS Conference, 8-10 March, 2018, Barcelona, Spain. (c IF – 5.024)