

Jakub Fischbach

**ANALIZA EKSPRESJI RECEPTORÓW
SOMATOSTATYNOWYCH
W GUZACH NEUROENDOKRYNNYCH
ŻOŁĄDKOWO-JELITOWO-TRZUSTKOWYCH**

Rozprawa na tytuł doktora nauk medycznych

Promotor:

dr hab. med. Maria Gryczyńska prof. UM

Katedra i Klinika Endokrynologii,

Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2016

Pracę dedykuję mojemu Tacie

Spis treści

1. WYKAZ SKRÓTÓW	4
2. WSTĘP.....	5
2.1 Nowotwory neuroendokrynne: charakterystyka i podział	5
2.2 Somatostatyna i receptory somatostatynowe	15
3. CEL PRACY	22
4. MATERIAŁ I METODY	23
4.1 Odczynniki i reagenty stosowane w badaniach.....	24
4.2 Metodyka badań	25
4.3 Metody statystyczne	29
4.4 Charakterystyka grupy	30
5. WYNIKI BADAŃ.....	32
5.1 Wyniki rozkładu procentowego poszczególnych SSTR w zależności od stopnia intensywności reakcji w skali IRS	34
5.2 Wyniki ekspresji SSTR wobec badanych parametrów: grading, lokalizacja pierwotna, wielkość guza, stopień zaawansowania klinicznego.....	35
5.3. Porównanie intensywności ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy nowotworami neuroendokrynnymi przewodu pokarmowego a nowotworami neuroendokrynnymi trzustki.....	57
5.4. Rozkład poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy nowotworami neuroendokrynnymi o znanej lokalizacji pierwotnej, a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia nowotworu.	63
6. OMÓWIENIE	71
6.1 Badana grupa.....	71
6.2 Metodyka oceny badań immunohistochemicznych	72
6.3 Ekspresja SSTR w badanych guzach	75
6.4 Ekspresja SSTR a stopień aktywności mitotycznej (grading)	76
6.5 Ekspresja SSTR a lokalizacja pierwotna guza	78
6.6 Ekspresja SSTR a zaawansowanie kliniczne choroby	79
6.7 Ekspresja SSTR w guzach przewodu pokarmowego i trzustki.....	79
6.8 Ekspresja SSTR: znana lokalizacja pierwotna guza a zmiana przerzutowa o nieznanym punkcie wyjścia nowotworu.	80
6.9 Stopień aktywności mitotycznej a stopień zaawansowania klinicznego choroby	81
6.10 Punktacja skali IRS	81
6.11 Kontrowersje związane z SSTR2b.....	82
6.12 Omówienie SSTR4.....	82
6.13 Analiza hormonalna	83
6.14 Lokalizacja komórkowa SSTR.....	83
6.15 Nowe metody oznaczeń SSTR za pomocą technik immunohistochemicznych.....	83
7. WNIOSKI.....	86
8. STRESZCZYNIE.....	87
9. ABSTRACT	88
10. PIŚMIENNICTWO	89
11. SPIS TABEL	100
12. SPIS WYKRESÓW	102
13. SPIS RYCIN	104

1. WYKAZ SKRÓTÓW

cAMP -cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan (*ang.*3',5'-cyclic adenosine monophosphate)

CRH - kortykoliberyna (*ang.*corticotropin-releasing hormone)

DTPA - kwas dietylo-triamino-pentaoctowy (*ang.*diethylene triamine pentaacetic acid)

EC - komórki enterochromafinowe (*ang.*enterochromaffin cells)

ECL - komórki enterochromafinopodobne (*ang.* enterochromaffin-like cells)

ENETS - Europejskie Towarzystwo Guzów Neuroendokrynych (*ang.*The European Neuroendocrine Tumor Society)

GABA - kwas gammaaminomasłowy (*ang.*gamma-aminobutyric acid)

GDP- guanozynodifosforan

GHRH - somatoliberyna (*ang.*growth-hormone-releasing hormone)

MEN1 - zespół mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 1 (*ang.*multiple endocrine neoplasia type 1)

MIB1 - przeciwciała przeciwko Ki-67

NF-PNET - niewydzielający nowotwór neuroendokryny trzustki (*ang.*non-functioning pancreatic neuroendocrine tumor)

PCR - reakcja łańcuchowa polimerazy (*ang.*polymerase chain reaction)

RT-PCR - reakcja łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą (*ang.*reverse transcriptase polymerase chain reaction)

SSA - analog somatostatyny (*ang.*somatostatin analogue)

SST - somatostatyna

SSTR - receptor somatostatynowy

SUV - wartość wystandardyzowanego wychwyty (*ang.*standard uptake value)

TGF beta - transformujący czynnik wzrostu beta (*ang.*transforming growth factor beta)

TNF alfa - czynnik martwicy guza alfa (*ang.*tumor necrosis factor alfa)

VIP - naczynioaktywny peptyd jelitowy (*ang.*vasoactive intestinal peptide)

2. WSTĘP

2.1 Nowotwory neuroendokrynne: charakterystyka i podział

Guzy neuroendokrynne są grupą nowotworów o nietypowej formie, wywodzących się z komórek gruczołów wydzielania wewnętrznego, z komórek endokrynych umiejscowionych w obrębie tkanek gruczołowych lub z układu rozproszonych komórek endokrynych (*diffuse endocrine system*, DES). Termin „neuroendokryny” to złożony opis komórek, wykazujących mieszane morfologiczne i fizjologiczne cechy zarówno układu nerwowego jak i endokrynnego. Mamy do czynienia z połączeniem fenotypu prekursorów komórek nerwowych wykazujących ekspresję pewnych białek, jak chromograniny A (CgA), synaptofizyny (SYN) czy neuronospecyficjnej enolazy (*neuron specific enolase*- NSE) z fizjologiczną sekrecyjno-regulacyjną rolą przypisywaną komórkom endokrynnym [1].

Guzy neuroendokrynne żołądkowo-jelitowo trzustkowe (*gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor*, GEP-NET), stanowią najliczniejszą podgrupę nowotworów neuroendokrynych (*neuroendocrine tumor*, NET), wywodzą się z DES układu pokarmowego. W skład tego układu wchodzi szereg wyspecjalizowanych komórek zdolnych do produkcji, magazynowania oraz wydzielania hormonów peptydowych i amin biogennych. Komórki te biorą również udział w kontroli prawidłowej czynności, jak absorpcja i motoryka przewodu pokarmowego. Poza układem trawiennym nowotwory neuroendokrynne spotykane są w wielu innych narządach, między innymi w płucach, układzie moczowo-płciowym, grasicy, gruczole sutkowym, skórze. W obrębie układu wydzielania wewnętrznego do nowotworów neuroendokrynych zaliczane są guzy przysadki, nowotwory nadnerczy i przytarczyc czy rak rdzeniasty tarczycy.

Guzy neuroendokrynne opisane zostały po raz pierwszy ponad 100 lat temu i były uznawane za nowotwory o powolnym rozwoju w porównaniu do gruczolakoraków.

Historia guzów neuroendokrynych sięga XIX wieku kiedy trzech naukowców Langhans, Lubarsch i Ransom opisali po raz pierwszy niezwykle guzy wywodzące się z jelita cienkiego [2,3,4]. Jednak badaczem, który tak naprawdę rozpoczął dyskusję na temat tego, co nazywamy dzisiaj guzami neuroendokrynnymi żołądkowo-jelitowo-trzustkowymi (GEP-NETs), był patolog Siegrfried Oberndorfer (1876-1944), który wyodrębnił ten rodzaj guzów z innych form raka. W 1907 roku publikując pracę na ten temat we *Frankfurt Journal of Pathology*, po raz pierwszy użył sformułowania „karcinoid” (podobne do raka) [5]. Pomimo wstępnej charakterystyki tych guzów jako zmian łagodnych, w 1929 roku zmodyfikował swój pierwotny raport, opisując złośliwy potencjał tych guzów. Pierwszy opis konstelacji objawów

zespołu rakowiaka został przedstawiony w 1952 roku przez grupę szwedzkich naukowców (Biörck, Axen i Thorson) [6]. W pracy tej zrelacjonowano przypadek pacjenta prezentującego: napadowe zaczerwienienia twarzy, biegunki, obrzęki, świszczący oddech i niewydolność prawokomorową serca. Przyczyną tej ostatniej była obecność zwłókniałych złogów usytuowanych podwosierdziowo, co stanowi przyczynę rozwoju patologii, którą nazywamy dzisiaj „rakowiakowa choroba serca”. W 1953 roku Lembeck odkrył, że komórki enterochromafinowe zdolne są do produkcji serotoniny, co stanowiło podwalinę pod opis szeregu zespołów chorobowych spowodowanych nadmierną produkcją biologicznie czynnych substancji przez tkankę nowotworową [7]. W latach 50-tych XX wieku powstały również pierwsze opisy zespołu Zollingera-Ellisona czy zespołu Venera-Morrisona, które stanowią przykład objawów towarzyszących czynnym hormonalnie nowotworom neuroendokrynnym. W 1961 roku podjęto próbę wyjaśnienia zależności pomiędzy występowaniem rakowiaków, a nadmiernym rozplemem tkanki włóknistej w niektórych organach jak płuca czy zastawki serca. Przyczyna tego zjawiska nie jest do dziś do końca jasna, lecz nadal aktualne pozostają hipotezy sprzed ponad 50 lat, że za to zjawisko odpowiadać może wpływ serotoniny na fibroblasty lub aktywnych biologicznie czynników, jak tkankowy czynnik wzrostu (*connective tissue growth factor*, CTGF) wydzielanych przez guz [8]. Pierwszy podział guzów neuroendokrynnych został zaproponowany przez Williamsa i Sandlera na łamach czasopisma Lancet w 1963 roku [9]. Dokonano podziału guzów związanego z rozwojem poszczególnych narządów ze struktur prajelita. Z przedniej części prajelita (foregut) powstają: układ oddechowy, żołądek, dwunastnica, drogi żółciowe, trzustka. Z części środkowej prajelita (midgut), dokonuje się rozwój jelita cienkiego, wyrostka robaczkowego, prawej części okrężnicy, jąder i jajników. Z kolei z części tylnej prajelita (hindgut) wywodzą się: poprzecznicą, zstępnica, odbytnica.

W 1982 roku J.C Reubi zidentyfikował receptory somatostatynowe (*somatostatin receptor*, SSTR) na komórkach neuroendokrynnych stosując zarówno technikę immunohistochemiczną jak i metodę radioznakowania. [10]. Późniejsze badania nad SSTR pozwoliły zidentyfikować poszczególne podtypy tych receptorów i wykazać ich obecność na powierzchni guzów neuroendokrynnych, co stało się podstawą do rozwoju zarówno technik diagnostycznych jak i terapeutycznych tych nowotworów. Wyróżniamy pięć podtypów SSTR, z czego najczęściej w diagnostyce i terapii wykorzystuje się obecność podtypu 2 i 5 (SSTR2 i SSTR5). Również w 1982 roku zsyntetyzowano pierwszy analog somatostatyny, cykliczny oktapeptyd oznaczony symbolem SMS201-995 – oktreotyd [11]. Wprowadzono go do użytku w roku 1983, do leczenia hormonalnie czynnych guzów przysadki, trzustki i przewodu pokarmowego [12,13]. Przełomem w diagnostyce obrazowej guzów

neuroendokrynych było wprowadzenie somatostatynowej scyntygrafii receptorowej w 1989 roku [14], która uitorowała drogę rozwoju coraz to bardziej precyzyjnych metod detekcji, jak na przykład stosowana aktualnie pozytonowa tomografia emisyjna z zastosowaniem 68-Ga-DOTA-oktreotydu. W 1994 roku przeprowadzona zostaje pierwsza terapia izotopowa z zastosowaniem 111-Indu, w której analog somatostatyny połączony został ze źródłem promieniowania jonizującego [15]. Aktualnie w terapii izotopowej wykorzystywane są najczęściej analogi somatostatyny znakowane itrem-90 [⁹⁰Y] i lutetem-177 [¹⁷⁷Lu] lub kombinacja obu tych związków jako tak zwana terapia tandemowa. Poza tym w 1998 roku wprowadzony do terapii zostaje długodziałający analog somatostatyny- oktreotydu w postaci octanu, a następnie kolejne analogi somatostatyny - wapreotydu oraz lanreotydu, które największe powinowactwo wykazują wobec SSTR2 i SSTR5. Dalszy rozwój badań nad somatostatyną oraz jej analogami zaowocowała zsyntetyzowaniem w 2003 roku pasireotydu – analogu somatostatyny mającego powinowactwo do wszystkich podtypów receptora somatostatynowego, lecz o najmniejszym wobec SSTR4 [16].

Do roku 2000, kiedy ustanowiono klasyfikację guzów neuroendokrynych Światowej Organizacji Zdrowia (*World Health Organisation*, WHO), nowotwory rozwijające się z komórek rozlanego systemu neuroendokrynnego przewodu pokarmowego powszechnie określano terminem rakowiak. Guzy neuroendokryne wywodzące się z komórek wysp trzustkowych określano mianem wyspiaków. Z uwagi na małą przydatność kliniczną tego typu nazewnictwa podejmowano szereg prób wprowadzenia nowej, bardziej użytecznej w codziennej praktyce medycznej nomenklatury. Żadna jednak z propozycji nie uzyskała miana oficjalnie obowiązujących wytycznych. Sytuacja ta prowadziła do sporych utrudnień przy próbie analizy przebiegu klinicznego lub ustalenia sposobu postępowania diagnostyczno-liczniczego. W 2000 roku grupa europejskich patologów wypracowała klasyfikację, której głównym celem było przede wszystkim ujednoczenie i upowszechnienie na całym świecie wytycznych dotyczących nomenklatury tych nowotworów [17]. Zunifikowany schemat podziału guzów na trzy podstawowe kategorie uwzględnia pierwotne umiejscowienie narządowe nowotworu, jego wielkość oraz ocenę ewentualnego naciekania naczyń lub nerwów, a także istotną cechę, którą jest szybkość wzrostu nowotworu ocenianą na podstawie liczby figur podziału i/lub ekspresji antygenu proliferacyjnego Ki67. Wprowadzono pojęcia guza wysokozróżnicowanego oraz raka wysoko- i niskozróżnicowanego, raka mieszanego oraz zmian guzopodobnych. Szczegółowe dane dotyczące nazewnictwa przedstawiono w tabeli 1. Wytyczne te zostały następnie oficjalnie zarekomendowane przez ENETS w tworzonych wytycznych postępowania diagnostycznego i terapeutycznego nowotworów neuroendokrynych wywodzących się z układu

pokarmowego [18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28]. Ponadto guzy neuroendokryne zyskały dodatkowe podziały niezależnie od umiejscowienia na wysokoźródnicowane o łagodnym (1A) lub niepewnym przebiegu (1B) [1].

W latach 2006 i 2007 powstała klasyfikacja TNM, szeroko stosowana w onkologii do oceny stopnia zaawansowania choroby, dedykowana guzom neuroendokrynym i rekomendowana przez ENETS. Uwzględniono tutaj takie kryteria, jak ocena wielkości guza (T-tumor), obecność zmian przerzutowych w węzłach chłonnych (N-nodule) oraz istnienie przerzutów odległych (M-metastasis) [29,30]. Ponadto w literaturze spotykana jest klasyfikacja amerykańska rekomendowana przez AJCC/UICC (*American Joint Committee on Cancer/Union Internationale Contre le Cancer*) [31,32]. Pomimo dużej zgodności w opracowaniach tych istnieją różnice w klasyfikacji cechy T uwzględniające rozmiar ogniska pierwotnego oraz naciekanie przylegających narządów i naczyń nowotworów trzustki oraz wyrostka robaczkowego [33]. Ponadto w klasyfikacji amerykańskiej nie uwzględnia się raków neuroendokrynych o wysokiej złośliwości w klasyfikacji NET, włączając je do grupy gruczolakoraków.

Liczne towarzystwa naukowe na całym świecie zaczęły wprowadzać przewodniki dotyczące sposobu postępowania w nowotworach neuroendokrynych, uwzględniające dobór odpowiednich metod diagnostycznych, optymalnej terapii oraz schematów monitorowania tego typu chorób. W Polsce rekomendacje dotyczące postępowania z nowotworami neuroendokrynymi zostały opracowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych w 2008 roku [34]. Kolejne posiedzenia tego towarzystwa naukowego mają na celu uaktualnienie krajowych rekomendacji w świetle dynamicznego postępu wiedzy na temat tych nowotworów [35,36,37,38,39].

W 2010 roku przedstawiono nową, aktualnie obowiązującą, wersję klasyfikacji WHO dotyczącą nowotworów neuroendokrynych wywodzących się z układu pokarmowego. Modyfikacje dotyczą przede wszystkim nazewnictwa - wprowadzono uznane na świecie terminy: guz neuroendokryny (NET) oraz rak neuroendokryny (NEC) [40].

Termin „nowotwór neuroendokryny” można stosować zamiennie z określeniem „guz neuroendokryny”. Istotną cechą aktualnej klasyfikacji nowotworów neuroendokrynych jest ich podział na dwie kategorie: wysokoźródnicowane (*well-differentiated*) i niskoźródnicowane (*poorly-differentiated*). Cechami kluczowymi tego podziału są morfologia guza oraz stopień jego dojrzałości (grading), oceniony za pomocą liczby figur podziału w polu widzenia lub ekspresji antygenu proliferacyjnego Ki67. Ocenę stopnia dojrzałości można przeprowadzić na dwa sposoby. Pierwsza to ocena liczby figur podziału liczona w 10 dużych polach widzenia pod mikroskopem przy powiększeniu 400 razy (1 duże pole widzenia = 2 mm²).

Druga to ocena indeksu proliferacyjnego Ki67 za pomocą przeciwciała MIB1. Antygen Ki-67 jest obecny w komórce podczas wszystkich faz czynnych cyklu komórkowego (G1, S, G2 i mitozą), a niewykrywalny w fazie G0. Ocenia się liczbę komórek wykazujących jądrową reakcję barwną na 500-2000 badanych komórek. Ocenę aktywności proliferacyjnej ocenia się w tzw. „hot spots”, czyli w miejscach, gdzie komórki wykazują największą zdolność podziału. Oba sposoby oceny stopnia dojrzałości są subiektywną, półilościową metodą mogącą dawać rozbieżne wyniki w przypadku oceny przez różnych patomorfologów. Nie istnieje jednak inna obiektywna metoda oceny stopnia dojrzałości, dlatego wytyczne ENETS oraz WHO zaakceptowały obie te metody jako kluczowe do oceny rokowania oraz dalszego postępowania diagnostyczno-terapeutycznego. Szczegółowy podział nowotworów neuroendokrynych ze względu na stopień dojrzałości histologicznej znajduje się w tabeli 2.

Tab. 1 Klasyfikacja Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) nowotworów neuroendokrynych przewodu pokarmowego - aktualnie obowiązująca (WHO 2010) oraz wcześniejsze podziały

WHO 2010	WHO 2000	WHO 1980
1. Guz neuroendokryny G1 (NET G1) 2. Guz neuroendokryny G2 (NET G2) 3. Rak neuroendokryny, typ wielko- lub drobnokomórkowy	1. Wysoko różnicowany guz neuroendokryny (<i>well-differentiated neuroendocrine tumour</i> WDNET) 2. Wysoko różnicowany rak neuroendokryny (<i>well-differentiated neuroendocrine carcinoma</i> WDEC) 3. Nisko zróżnicowany rak neuroendokryny (<i>poorly differentiated endocrine carcinoma</i> PDEC)	I. Rakowiak (<i>carcinoid</i>)
4. Mieszany rak gruczołowo-neuroendokryny (<i>mixed adenoneuroendocrine carcinoma</i> MANEC)	4. Rak mieszany egzokryno-endokryny (<i>mixed exocrine-endocrine carcinoma</i> MEEC)	II. Mucocarcinoid III. Postać mieszana rakowiak-gruczolakorak (<i>mixed forms carcinoid-adenocarcinoma</i>)
5. Zmiany hiperplastyczne i przednowotworowe (<i>hyperplastic and preneoplastic lesions</i>)	5. Zmiany guzopodobne (<i>tumour-like lesions</i> TLL)	IV. Zmiany guzopodobne (<i>pseudotumour lesions</i>)

Tab. 2 Ocena stopnia dojrzałości histologicznej nowotworów neuroendokrynych przewodu pokarmowego

Stopień dojrzałości histologicznej	Aktywność mitotyczna (liczba figur podziału/10 dużych pól widzenia)	Indeks proliferacyjny Ki67 (% komórek)
G1- guzy wysokodojrzałe, o niskiej złośliwości	< 2	≤2
G2- guzy średniodjrzałe, o średniej złośliwości	2-20	3-20
G3- guzy niskodojrzałe, o wysokiej złośliwości	>20	>20

Nowotwory wysoko zróżnicowane zbudowane są z komórek przypominających prawidłowe komórki neuroendokryne, cechujących się małą lub umiarkowaną atypią jąder komórkowych, w których cytoplazmie obecne są ziarnistości neurosekrecyjne wykazujące silną i rozlaną ekspresję markerów neuroendokrynych: synaptofizyny i chromograniny A.

Synaptofizyna to integralna glikoproteina pierwotnie występująca w pęcherzykach presynaptycznych neuronów. Chromogranina A jest rozpuszczalną kwaśną glikoproteiną przechowywaną w ziarnistościach wydzielniczych komórek neuroendokrynych, będącą niespecyficznym, lecz użytecznym markerem zarówno w diagnostyce jak i ocenie skuteczności terapii guzów neuroendokrynych.

Guzy neuroendokryne słabo zróżnicowane rzadko posiadają struktury charakterystyczne dla komórek neuroendokrynych. Zwykle mają układ nieregularnych i rozlanych nacieków z komórek o nierównym obrysie jądra i zawierających cytoplazmę mniej obfitą i częściowo pozbawioną ziarnistości. Ekspresja markerów neuroendokrynych bywa z tego powodu tutaj zmienna [41]. Charakterystyczna cecha to częściej obecna ekspresja synaptofizyny przy słabej zwykle ekspresji chromograniny A.

Choć mechanizm nowotworzenia jest nieznan, to uznaje się, że powstawanie guzów neuroendokrynych związane jest z transformacją nowotworową ostatecznie zróżnicowanych komórek neuroendokrynych lub komórek prekursorowych tej linii. Postuluje się, że uszkodzenia struktury DNA na wczesnym etapie rozwoju tych komórek prowadzi do rozwoju niskozróżnicowanych raków neuroendokrynych (NEC). Z kolei powstanie guzów neuroendokrynych G1 (wcześniej zwanych wysokozróżnicowanymi guzami neuroendokrynymi) lub guzami G2 (wcześniej zwanymi wysokozróżnicowanymi rakami neuroendokrynymi) związane jest z uszkodzeniami struktury genetycznej na dalszym etapie rozwoju komórkowego lub w komórkach już częściowo zróżnicowanych [42].

Ocena stopnia dojrzałości histologicznej (grading) ma decydujące znaczenie przy wyborze dalszego postępowania diagnostyczno-leczniczego, gdyż daje nam informacje na temat tempa rozwoju nowotworu.

Podział lokalizacyjny i epidemiologia nowotworów neuroendokrynych układu pokarmowego:

- nowotwory neuroendokryne przełyku

Nowotwory neuroendokryne przełyku są niezwykle rzadkie. Zwykle występują w jego dolnej części i z reguły są nowotworami niskozróżnicowanymi zawierającymi elementy egzokryne w swej strukturze [43].

- nowotwory neuroendokryne żołądka

Nowotwory neuroendokryne żołądka stanowią około 1 % wszystkich guzów żołądka oraz stanowią około 20 % wszystkich nowotworów neuroendokrynych przewodu pokarmowego. Zapadalność na tego typu nowotwory szacowana jest na około 2 przypadki na 1 000 000 na rok bez istotnej przewagi płci [44]. Wyróżniamy kilka typów nowotworów.

Typ I, najczęstszy, (70-80% wszystkich nowotworów neuroendokrynych żołądka), wywodzący się głównie z komórek ECL, produkujących histaminę i prawie zawsze związany są z zanikowym zapaleniem błony śluzowej żołądka. Z reguły są to nowotwory wysokozróżnicowane, o niskiej aktywności proliferacyjnej (G1) zaliczające się do pierwszej grupy nowotworów według podziału WHO z 2010 roku, o niewielkiej inwazyjności, cechujące się dobrym rokowaniem.

Typ II również wywodzi się z komórek ECL, jednak związany jest z pierwotną hipergastrynemią i obrazem zespołu Zollingera-Ellisona. Występuje w 23-29% przypadków zespołu MEN1 [45]. Z reguły są to małe (1-2 cm), mnogie polipy, zlokalizowane w dnie i trzonie żołądka.

Nowotwory przyporządkowane do typu I i II charakteryzują się z reguły powolnym przebiegiem i przeważnie endoskopowe wycięcie zmiany jest skuteczną metodą terapii.

Typ III to sporadyczne guzy neuroendokryne żołądka nie kwalifikujące się do dwóch poprzednich podgrup. Stanowią około 15-25% wszystkich guzów neuroendokrynych żołądka. Osiągają często znaczne rozmiary (>1 cm) i mają tendencję do rozwoju agresywnych postaci nowotworu.

Typ IV (wyróżniany przez niektóre opracowania) to niskozróżnicowane raki neuroendokryne, które mogą zawierać w swojej strukturze również komponentę gruczolakoraka [46].

- nowotwory neuroendokryne dwunastnicy

Stanowią 2-3% wszystkich nowotworów neuroendokrynych wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz około 1-3 % wszystkich nowotworów wywodzących się z dwunastnicy [47]. Charakteryzują się małymi rozmiarami guza, niskim potencjałem do tworzenia przerzutów (27,4%) oraz niską zapadalnością na zespół rakowiaka (3,1 %) [48]. We wcześniejszych pracach podzielone były na pięć podgrup, na które składały się guzy typu gastrinoma, somatostatinoma, guzy nieczynne hormonalnie, przyzwojaki gangliocytowe oraz niskozróżnicowane raki neuroendokryne [1,49]. W opracowaniu wytycznych postępowania w przypadku nowotworów neuroendokrynych dwunastnicy rekomendowanych przez ENETS przedstawiono nową klasyfikację opartą na klasyfikacji WHO z 2010 dotyczącej nowotworów neuroendokrynych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych [47]. Nowotwory neuroendokryne G1: wysokozróżnicowane o niskiej aktywności proliferacyjnej (Ki67<2%), stanowią większość (50-75%) guzów wywodzących się z dwunastnicy. Są to najczęściej małe zmiany (wielkości <1 cm), ograniczone do śluzówki lub tkanki podśluzowej, nie naciekające naczyń. Kolejną podgrupę (G2) stanowią zmiany nowotworowe o pośredniej aktywności proliferacyjnej, stanowiące 25-50% wszystkich tego typu nowotworów. Grupa trzecia (G3) to raki neuroendokryne o wysokiej aktywności proliferacyjnej, stanowiące <1-3% wszystkich nowotworów neuroendokrynych dwunastnicy.

- nowotwory neuroendokryne jelita cienkiego

Częstość występowania szacowana jest według różnych rejestrów na 3,2 - 11,2 przypadki na 1 milion osób [50,51,52,53,54]. Największą ilość przypadków notuje się w szóstej i siódmej dekadzie życia, bez wyraźnej dominacji płci. W I i II stopniu zaawansowania klinicznego 5-letnie przeżycie jest bliskie 100%, spadając do 84,8 % w stadium IV zaawansowania. [55]. 5-letnie przeżycie w przypadku nowotworów G1 wynosi 93,8%, spadając do 50% w przypadku stopnia G3 [55]. Nowotwory neuroendokryne stanowią od 30 do 50% wszystkich nowotworów wywodzących się z jelita cienkiego [44,57,58]. Najczęstsza lokalizacja dotyczy końcowego odcinka jelita cienkiego w pobliżu zastawki krętniczokątnej. W około 5-7% w momencie rozpoznania stwierdza się zespół rakowiaka związany z obecnością zmian przerzutowych w wątrobie. Zmiany o wielkości poniżej 5 mm stwierdzane są najczęściej przypadkowo. Gdy średnica guza wynosi 1 cm, to u 30% pacjentów stwierdzane są zmiany przerzutowe w węzłach chłonnych, a zmiany o wielkości powyżej 2 cm w 100% dają zmiany przerzutowe [58]. Nowotwory te często znajdowane są w związku z poszukiwaniem ogniska pierwotnego rozsianego procesu nowotworowego lub w trakcie badania kolonoskopowego, gdy guz umiejscowiony jest w pobliżu zastawki krętniczokątnej. Z uwagi na zdolność do syntezy i wydzielania serotoniny oraz innych

związków aktywnych biologicznie, charakterystyczny zespół objawów klinicznych związanych z nadmierną ilością tych substancji w organizmie nazywa się zespołem rakowiaka, który występuje u 4-10% pacjentów.

- nowotwory neuroendokryne jelita grubego

Zlokalizowane są w około 11% w kątnicy, w 22% w wyrostku robaczkowym i okrężnicy wstępującej, 3% stanowią guzy poprzecznicy i zstępnicy, 10,5% występuje w esicy, a przeszło połowę (51%) stanowią guzy odbytnicy.

Nowotwory neuroendokryne wyrostka robaczkowego stanowią około 80 % wszystkich nowotworów stwierdzanych w tym odcinku przewodu pokarmowego [59]. Z reguły są to nowotwory wysokozróżnicowane, lokalizujące się w końcowej jego części, o wymiarach nie przekraczających 1-2 cm. Większość guzów jest niema klinicznie i jest wykrywana przypadkowo po interwencji chirurgicznej z powodu ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego.

Zapadalność wynosi około 0,15-0,6 na 100.000 osób na rok, z niewielką przewagą płci żeńskiej [27]. Przepuszczalnie rzeczywista ilość przypadków jest wyższa z uwagi na częstość appendektomii. Stwierdzenie tego nowotworu w badaniu histopatologicznym nie zawsze wiąże się ze zgłoszeniem do rejestru nowotworów, który dedykowany jest guzom złośliwym. Problem ten dotyczy z reguły wszystkich nowotworów neuroendokrynych, które do tej pory nie posiadają odpowiednich kodów w Międzynarodowej Statystycznej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych ICD-10. Przeżycie 5-letnie w przypadku całkowitej resekcji guza jest bardzo dobre i sięga 100%, natomiast uwzględniając wszystkie stopnie zaawansowania klinicznego to 5-letnie przeżycie osiąga 70-85% chorych [27].

Nowotwory wywodzące się z okrężnicy charakteryzują się zdecydowanie gorszym rokowaniem w porównaniu do guzów odbytnicy. Guzy te długo nie powodują specyficznych objawów, które mogłyby skłaniać do przeprowadzenia diagnostyki. Większość zmian zlokalizowanych w okrężnicy wykazuje duży potencjał złośliwości, stąd w momencie rozpoznania w około 30-40% przypadków stwierdza się przerzuty zarówno do regionalnych węzłów chłonnych jak i wątroby [61]. Przeżycie 5-letnie wynosi od 40 do 70%. [52,62,63] i jest najniższe ze wszystkich nowotworów przewodu pokarmowego. Zmiany zlokalizowane w okrężnicy stanowią około 7,5 % wszystkich guzów neuroendokrynych w badaniach amerykańskich [52,62,64], 4-7 % w badaniach europejskich [44,65,66] i 8% w badaniach azjatyckich [51]. Zapadalność na przestrzeni trzydziestu lat wzrosła dziesięciokrotnie z około 0,2 przypadku na 1000000 osób w 1973 do 2 przypadków na 1000000 osób w 2004 roku według danych zawartych w bazach danych amerykańskiego Narodowego Instytutu

Nowotworów SEER (*The Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*). Średnia wieku chorych w momencie rozpoznania wynosi 55-65 lat.

Guzy neuroendokrynne odbytnicy są to z reguły małe guzy o charakterze polipów najczęściej zlokalizowane w odległości do 20 cm od kresy odbytowo-skrónej na przedniej lub bocznej ścianie jelita. Zwykle znajdowane jest przypadkowo w trakcie badania endoskopowego dolnego odcinka przewodu pokarmowego przy niespecyficznych objawach klinicznych. Nowotwory te bardzo rzadko wydzielają serotoninę i dlatego zespół rakowiaka jest raczej niespotykany. W 75-85% zmiany mają charakter miejscowy i średnicę <2cm. W tych przypadkach rzadko dają zmiany przerzutowe, a wycięcie guza w całości uznawane jest za wyleczenie. Większe guzy są bardziej złośliwe - przerzuty odległe występują w 2-8%, a pięcioletnie przeżycie wynosi 75-88% [62].

Raki neuroendokrynne są nowotworami niskozróżnicowanymi o indeksie Ki67 powyżej 20%, odpowiadając stopniowi G3 stopnia dojrzałości histologicznej. Wyróżnia się dwie kategorie: raki neuroendokrynne wielkokomórkowe oraz drobnokomórkowe. Raki wielkokomórkowe najczęściej zlokalizowane są w początkowej części okrężnicy i stanowią około 75% wszystkich raków neuroendokrynnych jelita grubego. Raki neuroendokrynne drobnokomórkowe stanowią pozostałe 25 % i charakteryzują się najwyższą złośliwością. Z reguły zlokalizowane są one w dystalnej części okrężnicy oraz odbytnicy. Często współistnieją z rakami płaskonabłonkowymi lub gruczolakorakami.

- nowotwory neuroendokrynne trzustki

Stanowią 1-2% wszystkich nowotworów wywodzących się z tego narządu. Większość to guzy wysokozróżnicowane, zaliczane się do stopnia G1 i G2 według klasyfikacji WHO z 2010 roku. Zmiany te można podzielić na nieaktywne hormonalnie oraz wydzielające w nadmiarze hormony związane z charakterystycznymi objawami klinicznymi. Ocena częstotliwości zmian nieaktywnych hormonalnie w grupie nowotworów neuroendokrynnych trzustki cechuje się dużą rozbieżnością: jedne wskazują na 10-85% guzów trzustki [67], z kolei inne na 60-90% [68]. Niezależnie od aktywności hormonalnej są to z reguły nowotwory dobrze odgraniczone, najczęściej pojedyncze, wielkości od 1 do 5 cm. Nowotwory mnogie są rzadkie i powinny budzić podejrzenie zespołu MEN1 lub choroby von Hippel-Lindau.

Większość tych guzów należy do nowotworów wysokozróżnicowanych według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia z 2010 roku. Do niedawna do rozpoznania dochodziło w późnym okresie choroby, co związane było z występowaniem efektu masy guza lub pojawieniem się zmian przerzutowych [68]. Aktualnie postęp technik obrazowania powoduje, że zmiany te wykrywane są częściej przypadkowo przy mniejszych rozmiarach guza.

Zmiany przerzutowe w wątrobie występują u 32-73% pacjentów w momencie rozpoznania [68]. Roczna zapadalność u kobiet szacowana jest około 18 na 1000000 osób, a u mężczyzn 26 na 1000000 zgodnie z danymi zawartymi w SEER. Choroba najczęściej rozpoznawana jest w szóstej i siódmej dekadzie życia [52,69]. Mediana przeżywalności pacjentów z NF-PNET wynosi około 38 miesięcy i jest związana głównie ze stopniem zaawansowania klinicznego, a przeżycie 5-letnie dotyczy około 43% chorych [52].

Guzy wydzielające hormony, powodują występowanie charakterystycznych objawów klinicznych. Do grupy tej zalicza się guzy typu: insulinoma, VIP-oma (*vasoactive intestinal polypeptide*), glucagonoma, gastrinoma, somatostatynoma.

2.2 Somatostatyna i receptory somatostatynowe

Zidentyfikowanie w latach siedemdziesiątych XX wieku somatostatyny (SST, *somatostatin*; SRIH, *somatotropin release inhibiting hormone*; SRIF, *somatotropin release inhibiting factor*), produkowanego przez podwzgórze czynnika hamującego wydzielanie hormonu wzrostu (GH, *growth hormone*) zapoczątkowały badania nad tym hormonem [70]. Somatostatyna jest neurohormonem peptydowym występującym w dwóch postaciach molekularnych: 14-aminokwasowej (SST-14) oraz 28-aminokwasowej (SST-28). Syntetyzowana jest z 116-aminokwasowego łańcucha preprohormonu, powstającego w jądrach okołokomorowych podwzgórza. Na jego strukturę składa się 24-aminokwasowy łańcuch sygnałowy oraz 96-aminokwasowy łańcuch prohormonu somatostatyny, z którego z kolei wyodrębnia się 28-aminokwasowa struktura somatostatyny [71]. Częsteczka ta oraz produkt jej enzymatycznego oczyszczenia, czyli 14-aminokwasowa forma somatostatyny jest transportowana do wyniosłości pośrodkowej oraz zakończeń nerwowych w pobliżu naczyń podwzgórzowych, skąd przedostają się naczyniami wrotnymi do przedniego płata przysadki mózgowej z pominięciem systemowego układu krążenia. Somatostatyna ma bardzo krótki okres półtrwania wynoszący 1,5-3 minuty [72], co powoduje, że komórki produkujące ten hormon lub magazyny przy zakończeniach nerwowych muszą występować w bliskiej odległości od struktur docelowych dla somatostatyny. Somatostatyna na poziomie układu podwzgórzowo-przysadkowego w klasycznym ujęciu poza właściwościami hamującymi sekrecję hormonu wzrostu (*growth hormone*, GH) wykazuje również wpływ hamujący na hormon stymulujący tarczycę (*thyroid stimulating hormone*, TSH) z przedniego płata przysadki [72,73]. Somatostatyna pełni wiele innych funkcji, najczęściej o charakterze hamującym. Hormon ten został wykryty także w innych tkankach i narządach organizmu, gdzie wykazuje szereg fizjologicznych działań.

Cytoplazmatyczne pęcherzyki magazynujące SST ulokowane są także w innych częściach ośrodkowego układu nerwowego: korze i pniu mózgu, szyszynce, nerwie wzrokowym i słuchowym, siatkówce oraz w rdzeniu nerwowym [74]. Prekursory SST zostały również wykryte w przednim płacie przysadki mózgowej, sugerując, że SST może w rzeczywistości być syntetyzowana także tutaj i działać w mechanizmie auto i parakrynym [75]. Poza ośrodkowym układem nerwowym wykazano SST w wielu innych narządach i tkankach, między innymi w części endokrynnej trzustki (komórki delta) [74,76], w przewodzie pokarmowym [77,78,79], gdzie wytwarzana jest zarówno przez komórki D błony śluzowej należące do rozproszonego układu endokrynnego jak i lokalne zwoje nerwowe. Ponadto hormon ten wykazuje ekspresję w komórkach C tarczycy, gdzie współwystępuje z kalcytoniną oraz w śliniankach, gruczole krokowym, nerkach, łożysku, układzie limfatycznym, w tym w grasicy i ścianach naczyń krwionośnych, a także szpiku kostnym [72,73].

W poszczególnych narządach somatostatyna pełni funkcje regulacyjne, odpowiadające za utrzymanie homeostazy. Pierwotnie zdefiniowana cecha somatostatyny jaką było hamowanie hormonu wzrostu zachodzi zarówno przez hamowanie wydzielania GHRH z podwzgórza jak i przez działanie bezpośrednie na komórki somatotropowe przysadki.

W obrębie ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego SST wykazuje funkcje neuromodulacyjne: zwiększa uwalnianie serotoniny i dopaminy, zmniejsza uwalnianie noradrenaliny i GABA [96]. W przypadku obwodowych gruczołów endokrynnych, w tarczycy SST hamuje zarówno indukowane przez TSH wydzielanie hormonów przez tyreocyty [81,82], jak i stymulowaną przez TSH proliferację tyreocytów [83].

SST hamuje wydzielanie aldosteronu zarówno w sposób bezpośredni poprzez SSSTR w warstwie kłębkowej, jak i w sposób pośredni poprzez hamowanie syntezy reniny w nerkach. W trzustce SST wykazuje między innymi wpływ hamujący na sekrecję substancji aktywnych zarówno części endokrynnej (insuliny, glukagonu, polipeptydu trzustkowego) jak i egzokrynnej (enzymów trawiennych i dwuwęglanów). Ponadto hamuje wydzielanie gastryny, sekretyny, motyliny, cholecystokininy, neurotensyny, VIP, enteroglukagonu przez komórki przewodu pokarmowego. Wpływa hamująco i modulująco na funkcje przewodu pokarmowego, jak ruch robaczkowy jelit, opróżnianie żołądka, absorpcja węglowodanów, wapnia czy trójglicerydów. Zmniejsza ponadto przepływ krwi trzewnej. Wykazuje hamujące działanie na proliferację komórek błony śluzowej przewodu pokarmowego. Na poziomie pęcherzyka żółciowego SST hamuje zdolności kurczenia się i wypływu żółci w odpowiedzi na spożyty pokarm. Ponadto hamuje kurczliwość mięśniówki gładkiej naczyń. W obrębie

grasicy somatostatyna bierze udział w regulacji jej funkcjonowania oraz wykazuje wpływ na involucję tego narządu [84,85].

Na regulację wydzielania SST wpływa wiele substancji jak hormony, neuropeptydy, cytokiny czy czynniki wzrostu [72,73,86]. Wydzielanie SST indukowane jest między innymi przez GHRH, CRH, neurotensynę, interleukinę 1 i 6 (IL1, IL6) oraz TNF alfa [86,87]. Hamująco na wydzielanie SST wpływa GABA, TGF beta i leptyna [80]. Somatostatyna pełni funkcję inhibitora procesów komórkowych dotyczących sekrecji oraz proliferacji na drodze autokrynnej, parakrynnej jak i neuronalnej. Poza wpływem pośrednim na wzrost tkankowy poprzez hamowanie wydzielania hormonu wzrostu, SST wykazuje także działanie bezpośrednie antyproliferacyjne poprzez działanie na poziomie komórkowym poprzez receptory somatostatynowe.

Receptory somatostatynowe należą do rodziny receptorów błonowych związanych z białkiem G (GPCR – *ang. G protein coupled receptors*). Uczestniczą one w kaskadach sygnalizacyjnych, przekształcając sygnał zakodowany w strukturze liganda w sygnał rozpoznawany przez komórkę. Cechą charakterystyczną tej grupy receptorów, niezależnie od ich funkcji jest ich podobieństwo strukturalne. Wszystkie zbudowane są z pojedynczego łańcucha polipeptydowego siedmiokrotnie przechodzącego przez warstwę lipidową błony komórkowej. Domenę transbłonową wszystkich receptorów GPCR tworzy siedem hydrofobowych alfa-helis (TMH:I do TMH:VII) połączonych pętlami, trzy pętle znajdują się na zewnątrz komórki (EL:I do EL:III) oraz trzy wewnątrz komórki (IL:I do IL:III). N-końcowa domena zewnątrzkomórkowa odpowiedzialna za łączenie się z ligandem posiada miejsca dla glikozylacji, których ilość zależna jest od poszczególnych podtypów receptora. Po związaniu się substancji czynnej z zewnątrzkomórkową częścią receptora dochodzi do jego aktywacji, czego skutkiem są zmiany konformacji łańcucha polipeptydowego tworzącego pętle przezbłonowe, a następnie jego części C-końcowej znajdującej się po stronie cytozolowej, odpowiedzialnej za oddziaływanie z białkiem G. Skutkiem tego jest rozpoczęcie procesów biochemicznych we wnętrzu komórki. Pomiędzy helisami obecne są liczne wiązania wodorowe, które dodatkowo stabilizują strukturę receptorów GPCR. Receptory te wykazują ponadto duże podobieństwo sekwencyjne i strukturalne w rejonie transbłonowym, natomiast długość łańcucha białkowego w obszarze N- jak i C-końca oraz pętli łączących helisy podlega dużemu zróżnicowaniu. Wszystkie białka G mają, podobnie jak receptory z nimi związane, identyczny plan budowy i tworzą rodzinę trójpodjednostkowych, homologicznych białek o charakterze GTP-az (białek wiążących i hydrolizujących guanozyny-5'-trifosforan (GTP). Złożone są z 3 podjednostek: alfa, beta i gamma. Podjednostka alfa w stanie niepobudzonym połączona jest z cząsteczką GDP, co

powoduje, że białko G jako całość jest nieaktywne. Związanie ligandu przez receptor prowadzi do wymiany cząsteczki GDP na GTP. Powoduje to rozpad białka G na dwie składowe – kompleks alfa-GTP oraz kompleks podjednostek beta-gamma, które mogą swobodnie dyfundować w płaszczyźnie błony komórkowej. Oba powstałe aktywne kompleksy, mogą oddziaływać z kolei z innymi białkami, przenoszącymi sygnał jeszcze dalej do ostatecznych miejsc przeznaczenia, tworząc kaskady sygnalizacyjne. Czas funkcjonalnej aktywności składowych białek G uwarunkowany jest wewnętrzną zdolnością podjednostki alfa do hydrolizy związanego z nią GTP z powrotem do GDP. Gdy hydroliza ta dojdzie do skutku, cząsteczki alfa oraz kompleks beta-gamma ponownie się łączą w nieaktywne biologicznie białko G. To, jakie szlaki przekazywania informacji zostaną włączone w ten proces, zależy od podtypu zaangażowanego receptora somatostatynowego oraz jego lokalizację tkankową.

Wyróżniamy 5 podtypów receptora SST: SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR4, SSTR5. Geny odpowiedzialne za kodowanie poszczególnych receptorów somatostatynowych ulokowane są na różnych chromosomach. Gen dla SSTR1 znajduje się na chromosomie 14q13, dla SSTR2 na chromosomie 17q24, dla SSTR3 na chromosomie 22q13.1, dla SSTR4 na chromosomie 20p11.2, dla SSTR5 na chromosomie 16p13.3. Gen dla receptora SSTR2 koduje dwie izoforymy: 2a oraz 2b o wspólnej sekwencji aminokwasowej w przedziale 1-331, a różnica pomiędzy poszczególnymi podtypami polega na długości i sekwencji końca karboksylowego fragmentu łańcucha znajdującego się w cytoplazmie. SSTR2a zawiera sekwencję 369 aminokwasów, natomiast SSTR2b stanowi jego krótszy wariant zawierający 346 aminokwasów [88,89]. Sekwencje aminokwasowe poszczególnych receptorów somatostatynowych wykazują dość znaczącą homologię, sięgającą od 42 do 60% [88,90,91], spośród których receptor 1 i 4 wydają się być najbardziej do siebie podobne w swojej strukturze [91]. Istnieje także podobieństwo strukturalne poszczególnych podtypów receptora spośród różnych gatunków zwierząt. Receptory te wykazują ekspresję w wielu różnych miejscach ludzkiego organizmu, różniąc się pod względem ilości oraz kombinacji poszczególnych podtypów receptora w zależności od typu narządu [92,93,94,95]. Somatostatyna, oddziałując na swoje dla siebie receptory, wyzwała kaskadę procesów wewnątrzkomórkowych, którego następstwem najczęściej jest hamowanie procesów biochemicznych. Pobudzenie receptora skutkuje redukcją stężenia wewnątrzkomórkowego cAMP i Ca^{2+} z aktywacją białkowych fosfataz. Efekt końcowy zależy zarówno od rodzaju komórki docelowej, na której zlokalizowany jest receptor, jak i podtypu receptora lub receptorów na powierzchni komórki, a także od ligandu.

Efekt hamujący funkcje komórki osiągnięty może zostać poprzez cztery różne ścieżki:

- 1) zahamowanie aktywności cykazy adenylanowej z następczym obniżeniem stężenia wewnątrzkomórkowego cAMP [96,97], co jest charakterystyczne dla powstających wiązań pomiędzy ligandem a wszystkimi rodzajami SSTR
- 2) spadek wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} , związany z redukcją przezbłonowego napływu jonów wapnia do komórki spowodowany aktywacją i hiperpolaryzacją kanałów potasowych i zależnych od napięcia kanałów Ca^{2+} [98]
- 3) aktywacja białkowych fosfataz, jak kalcyneuryna hamująca w sposób specyficzny egzocytotę [99] oraz serynowo/treoninowych fosfataz [100], mających wpływ na kanały K^+ i Ca^{2+}
- 4) pobudzenie wewnątrzkomórkowej fosfatazy tyrozynowej [101,102], która poprzez szereg mechanizmów kaskadowych hamuje proliferację komórkową (zatrzymanie podziału komórkowego w fazie G1, co jest efektem aktywacji SSTR1, stymulacja ścieżki kinazy białkowej aktywowanej mitogenem - efekt aktywacji SSTR2, SSTR4, SSTR5) [103,104,105] czy wreszcie indukcja apoptozy poprzez aktywację receptora SSTR3 [106,107,108,109].

Cechą charakterystyczną nowotworów neuroendokrynych jest obecność SSTR. Postuluje się, że zarówno nowotwory wywodzące się z trzustki jak i z przewodu pokarmowego wykazują wysoką ekspresję receptorów, ponadto zmiany przerzutowe podobnie jak pierwotne cechują się ich obecnością. Najczęściej spotykanym podtypem jest SSTR2, a najrzadziej spotykanym SSTR4 [110]. Jednak gęstość ich ekspresji może różnić się pomiędzy poszczególnymi guzami [111]. W dostępnej literaturze dotyczącej ekspresji SSTR stosowano różne metody detekcji tych receptorów, gdyż istnieje możliwość zastosowania alternatywnych sposobów ich wykrywania. Sposoby te można podzielić na dwie grupy. Pierwsza to wykrywanie receptorów w warunkach *in vivo*, gdzie zastosowanie znajduje scyntygrafia receptorowa z użyciem analogów somatostatyny. Po podaniu znacznika, który składa się z analogu somatostatyny znakowanego emitującym promieniowanie jonizujące, cząsteczka ta wiąże się z miejscami wykazującymi ekspresję receptorów somatostatynowych. Następnie dokonuje się detekcji źródeł promieniowania w organizmie, a co za tym idzie lokalizacji zmian za pomocą technik medycyny nuklearnej. Technika ta pozwala na dokładne lokalizowanie guzów wykazujących ekspresję receptorów somatostatynowych, jednak z drugiej strony badanie ograniczone jest przede wszystkim do wykrywania obecności SSTR2 i w mniejszym stopniu SSTR5, gdyż stosowane obecnie analogi somatostatyny znakowane radionuklidem wykazują selektywność głównie wobec receptora SSTR2. Guzy niewykazujące ekspresji tego typu receptora mogą dawać wyniki fałszywie ujemne. Ponadto stosując tę technikę nie uzyskamy precyzyjnej informacji na temat lokalizacji receptorów na

poziomie komórkowym. W warunkach *in vitro* istnieje możliwość wykrywania receptorów somatostatynowych za pomocą różnych technik: autoradiografii, technikami biologii molekularnej, jak PCR, northern blot oraz hybrydyzacja *in situ*, a także metodami immunohistochemicznymi. Metody autoradiograficzne cechują się dużą czasochłonnością, są skomplikowane oraz wymagają użycia materiału świeżo mrożonego. Techniki biologii molekularnej pozwalają na precyzyjne wykrywanie poszczególnych podtypów receptora, jednak daje ona jedynie informację o występowaniu materiału pod postacią mRNA, co nie zawsze jest równoznaczne z występowaniem poszczególnych białek powstałych w procesie translacji. Ich wysoka specyficzność może dawać wyniki fałszywie dodatnie, gdy w badanym materiale znajdują się komórki nie będące guzem, a wykazujące ekspresję danego receptora, na przykład komórki układu odpornościowego lub komórki endotelium naczynia krwionośnego. Hybrydyzacja *in situ* oraz northern blot także identyfikują mRNA, nie zaś produkt białkowy w postaci łańcucha polipeptydowego, z którego zbudowany jest receptor. Zaletami badania immunohistochemicznego jest wykorzystywanie tego samego materiału, który służył do oceny histopatologicznej (skrawki parafinowe), możliwość wykrywania wszystkich podtypów receptora i możliwość precyzyjnej lokalizacji receptora w badanym materiale. Wprowadzenie do badań poliklonalnych przeciwciał specyficznych dla poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego pozwoliło na ocenę ich występowania w poszczególnych tkankach. Przeciwciała te skierowane są przeciwko sekwencji aminokwasowej zlokalizowanej w rejonie końca karboksylowego łańcucha polipeptydowego tworzącego strukturę receptora. Wykorzystane są tutaj sekwencje będące charakterystyczne dla poszczególnych podtypów receptora, co czyni tą metodę wiarygodną. Stosowanie różnych metod detekcji SSTR sprawia, że otrzymujemy odmienne wyniki, co związane jest z odmienną czułością i swoistością badań. Niewątpliwie zastosowana technika oceny ekspresji receptorów somatostatynowych ma istotny wpływ na wynik badania. Przykładowo zastosowanie techniki PCR w ocenie występowania SSTR2 w guzach typu insulinoma wykazała, że blisko 90% tych guzów wykazuje ekspresję tego receptora [112], co z kolei nie zostało potwierdzone w trakcie oceny występowania tego receptora w guzach neuroendokrynych trzustki przy użyciu technik immunohistochemicznych [113]. W badaniach tych wykazano niską procentowość występowania tego receptora w guzach typu insulinoma, w porównaniu do nowotworów niewydzielających, co potwierdzają wyniki badań scyntygraficznych z użyciem analogów somatostatyny. Wykazanie ekspresji receptorów somatostatynowych na powierzchni komórek nowotworowych guzów neuroendokrynych stanowi podstawę kwalifikacji do terapii analogami somatostatyny zarówno „zimnymi” jak i analogami somatostatyny związanymi z radionuklidem („gorące” analogi somatostatyny). Zastosowanie tych związków w terapii

guzów typu GEP-NET stanowi skuteczną metodę kontroli objawów choroby, redukcji stężenia markerów nowotworowych czy hamowaniu wzrostu guza. Oznaczanie SSTR może stanowić cenną informację o występowaniu poszczególnych jego podtypów przydatną w prognozowaniu przebiegu choroby i wyborze jak najlepszej metody leczenia.

3. CEL PRACY

Guzy neuroendokrynne stanowią grupę nowotworów, których rozpoznawalność z roku na rok rośnie. Ich często indolentny charakter rozwoju powoduje, że w momencie rozpoznania choroby mamy do czynienia z zaawansowanym procesem rozrostowym. Cechą charakterystyczną guzów neuroendokrynych jest obecność receptorów somatostatynowych. Właściwość ta jest wykorzystywana w diagnostyce i terapii tych chorób z użyciem analogów somatostatyny. Wyniki dotychczasowych badań ekspresji poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego są niejednoznaczne. Przyczyną tego są między innymi różne metody oznaczeń, różna metodologia oceny ekspresji oraz różna lokalizacja pierwotna badanych guzów.

Celem niniejszej pracy była:

- 1) Ocena ekspresji receptorów somatostatynowych w guzach neuroendokrynych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych metodą immunohistochemiczną z podziałem na poszczególne podtypy: SSTR1, obie izoformy podtypu 2 SSTR2a i SSTR2b, SSTR3, SSTR5 u wybranych chorych hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii w Poznaniu.
- 2) Analiza zależności między ekspresją SSTR a
 - a) stopniem aktywności mitotycznej,
 - b) umiejscowieniem pierwotnym guza,
 - c) wielkością guza,
 - d) zaawansowaniem klinicznym choroby.
- 3) Analiza porównawcza ekspresji SSTR pomiędzy guzami neuroendokrynymi przewodu pokarmowego i trzustki.
- 4) Ocena ekspresji SSTR w nowotworach o znanej lokalizacji pierwotnej i ognisk przerzutowych w wątrobie o nieznanym punkcie wyjścia.

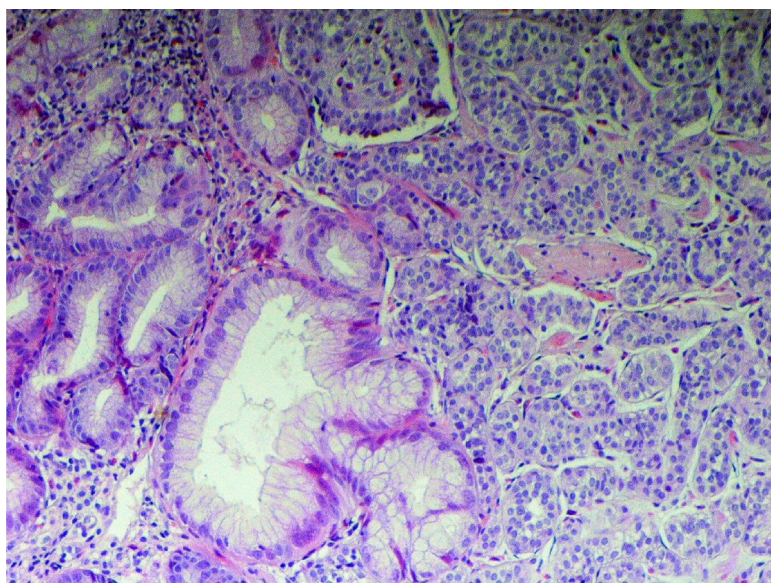
Na badania uzyskano zgodę (nr 969/10) Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

4. MATERIAŁ I METODY

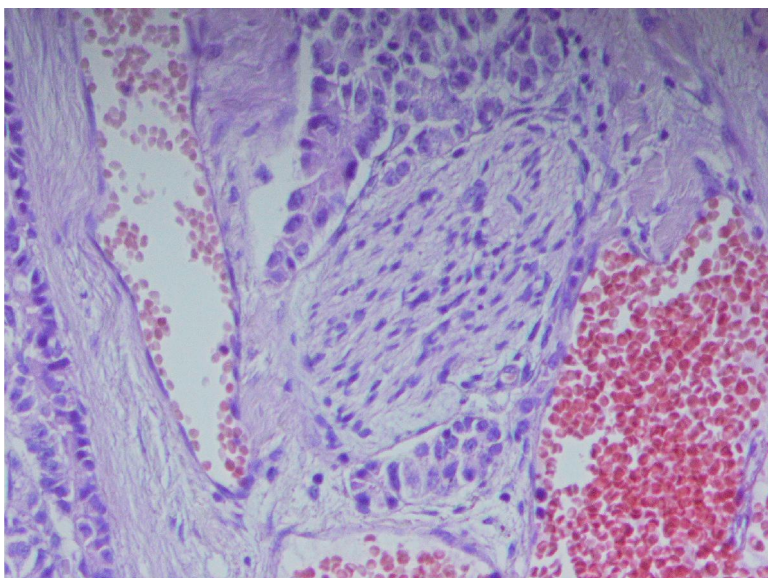
Analizie poddany był materiał archiwalny pochodzący od grupy pacjentów Kliniki Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych w Poznaniu hospitalizowanych w latach 2009 - 2012. Źródło stanowiły preparaty parafinowe, rutynowo ocenione wcześniej pod względem histopatologicznym, pochodzące od pacjentów poddanych zabiegom usunięcia guza lub pobrania materiału metodą biopsji gruboigłowej zmian przerzutowych do wątroby nowotworów o nieznanym umiejscowieniu pierwotnym.

Procedurę archiwizacji materiału przeprowadzono wg standaryzowanego protokołu. Materiał tkankowy utrwalano w 10% buforowanej formalinie o pH 7,4 i umieszczano w procesorze. Tkankę zatapiano w parafinie w temperaturze 58°C z zastosowaniem standardowych metod histopatologicznych. Z otrzymanych w ten sposób bloczków parafinowych skrawano na mikrotomie skrawki o grubości 4-5µm, które nakładano na szkiełka podstawowe, adhezyjne i pozostawiano na 2 godziny w temperaturze 58°C. W celu odparafinowania i prezentacji antygenów w skrawkach zastosowano nową metodę z użyciem aparatu PTLINK, firmy DAKO. Preparaty umieszczano w aparacie w buforze o niskim pH (bufor EnVision Flex) i poddawano inkubacji w temperaturze 95°C przez 20 minut, następnie przenoszono do buforu TBS (Tris-buffered saline).

W badaniach przy wykorzystaniu odpowiednich przeciwciał poliklonalnych w dwustopniowej metodzie peroksydazowej z użyciem zestawu EnVision™ Flex firmy Dako wykrywano następujące podtypy receptora somatostatynowego: SSTR1, SSTR2a, SSTR2b, SSTR3 oraz SSTR5.



Ryc. 1 Naciek nowotworu neuroendokrynnego pod prawidłową śluzówką żołądka (H+E, pow 100x)



Ryc. 2 Nowotwór neuroendokryny jelita cienkiego nacieka pień nerwowy (H+E, pow 200x)

4.1 Odczynniki i reagenty stosowane w badaniach

1. EnVision™ Flex Wash Buffer (20x), Code K8007; DAKO
2. Bufor do aparatu PTLINK- EnVision™ Flex Target Retrieval Solution, Low pH (50x), Code K 8005; DAKO
3. Wodoru Nadtlenek 30% cz.d.a.; firma Z.B.P."Chemed" Sp.zo.o.
4. Jako przeciwciała do wykrywania receptorów somatostatynowych użyto:

a) Antiserum against Somatostatin Receptor, type human SSTR 1: Code No.: SS-840, BIOTREND

Surowica zawierająca królicze przeciwciała, skierowane przeciwko sekwencji aminokwasów (RNGTCTSRITTL) tworzących karboksylowy koniec łańcucha polipeptydowego ludzkiego SSTR1.

b) Antiserum against Somatostatin Receptor, type human SSTR2A: Code No.: SS-800, BIOTREND

Surowica zawierająca królicze przeciwciała, skierowane przeciwko sekwencji aminokwasów znajdujących się w pozycji 355-369 (ETQRTLLNGDLQTSI) łańcucha polipeptydowego ludzkiego, szczurzego oraz mysiego podtypu receptora somatostatynowego 2a.

c) Antiserum against Somatostatin Receptor, type human SSTR2b: Code No.: SS-860, BIOTREND

Surowica zawierająca królicze przeciwciała, skierowane przeciwko sekwencji aminokwasów (FRNNKNRKK) tworzących koniec karboksylowy łańcucha polipeptydowego ludzkiego SSTR2b.

d) Antiserum against Somatostatin Receptor, type human SSTR3: Code No.: SS-850, BIOTREND

Surowica zawierająca królicze przeciwciała, skierowane przeciwko sekwencji aminokwasów (CQLLPQEASTGEEKSSTMRISYL) tworzących koniec karboksylowy łańcucha polipeptydowego ludzkiego SSTR3.

e) Antiserum against Somatostatin Receptor, type human SSTR 5: Code No.: SS-890, BIOTREND

Surowica zawierająca królicze przeciwciała, skierowane przeciwko sekwencji aminokwasów (CHRAAANGLMQTSKL) tworzących koniec karboksylowy łańcucha polipeptydowego ludzkiego SSTR5.

5. EnVision™ Flex Antibody Diluent, Code K8006; DAKO

6. EnVision™ Flex/HRP, Code K8002; DAKO

7. EnVision™ FlexDAB+Chromogen, Code K8002; DAKO

8. EnVision™ Flex Substrate Buffer, Code K8002; DAKO

9. EnVision™ Flex Hematoxylin, Code K8008; DAKO

10. Pertex HistoLab, Mounting medium for light microscopy. Art.Nr 00811

4.2 Metodyka badań

Badania wykonano w Pracowni Immunohistochemii Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii.

Barwienie wykonywano według następującego schematu:

1. Odparafinowanie skrawków poprzez inkubowanie w buforze EnVision™ Flex Low pH, w aparacie PTLINK w temperaturze 95°C - 20 minut.

2. Blokowanie aktywności endogennej peroksydazy: 3% roztwór nadtlenu wodoru - 10 minut.

3. Płukanie skrawków wodą bieżącą.

4. Płukanie w buforze - EnVision™ Flex Wash Buffer - 10 minut.

5. Inkubacja skrawków z poliklonalnymi przeciwciałami:

- anty SSTR2a – rozcieńczenie 1/4000; inkubacja 4 godziny

- anty SSTR5 – rozcieńczenie 1/4000; inkubacja 4 godziny

- anty SSTR3 – rozcieńczenie 1/4000; inkubacja 4 godziny

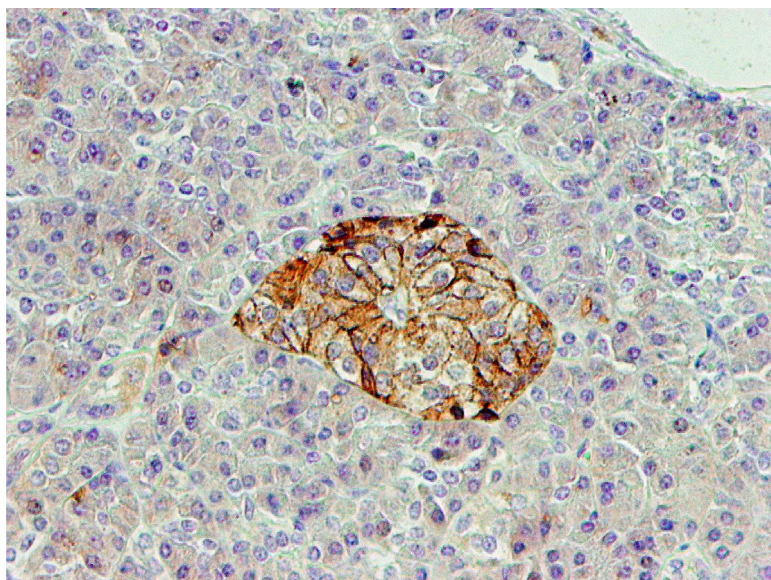
- anty SSTR1 – rozcieńczenie 1/4000; inkubacja 4 godziny

- anty SSTR2b – rozcieńczenie 1/4000; inkubacja 4 godziny

6. Płukanie w buforze - EnVision™ Flex Wash Buffer - 10 minut.

7. Inkubacja z kompleksem EnVision™ Flex/HRP - 20 minut.
8. Płukanie w buforze - EnVision™ Flex Wash Buffer - 10 minut.
9. Inkubacja skrawków z EnVision™ FlexDAB+Chromogen - 5 minut.
10. Płukanie w wodzie destylowanej- 10 minut.
11. Podbarwienie jąder komórkowych- EnVision™ Flex Hematoxylin - 3 minuty.
12. Płukanie wodą bieżącą.
13. Pozostawienie w wodzie destylowanej aż do zniebieszczenia jąder komórkowych - 10 minut.
14. Przeprowadzenie skrawków przez szereg alkoholowy o wzrastającym stężeniu i inkubacja w ksylenie.
15. Zamykanie preparatów w medium Pertex.

Jako kontrolę pozytywną wykonano reakcje immunohistochemiczne poszczególnych przeciwciał z wyspami trzustkowymi oraz zwojami nerwowymi z mięśniówki żołądka, które według licznych prac wykazują ekspresję wszystkich podtypów SSTR.



Ryc. 3 Wyspa trzustkowa jako pozytywna kontrola w badaniach immunohistochemicznych (pow. 200x)

Jako kontrolę negatywną zastosowano króliczą immunoglobulinę (IgG) zamiast swoistych przeciwciał.

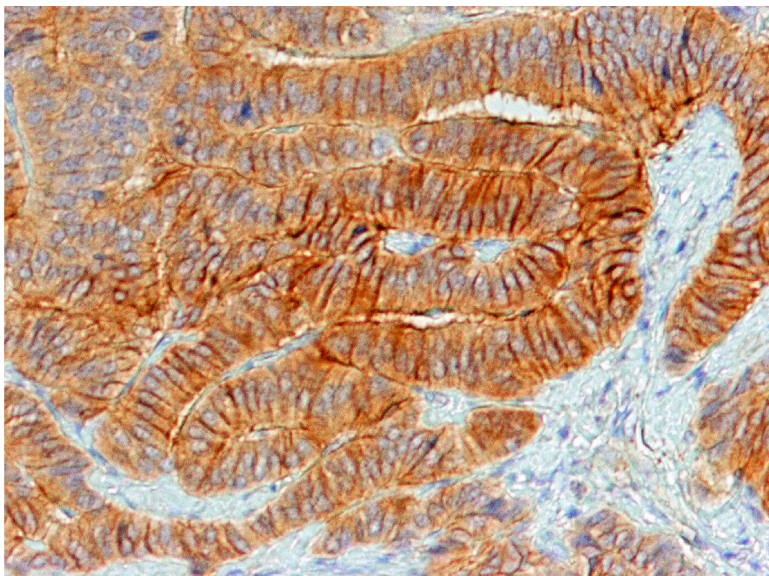
Wynik badania oceniano mikroskopowo niezależnie przez 2 patomorfologów. Wynik badania oceniano stosując punktową skalę immunoreaktywności (IRS) [114], w oparciu o punktową ocenę pozytywnych reakcji komórkowych oraz intensywności reakcji barwnej. Następnie odpowiednia liczba zsumowanych punktów została poddana nomenklaturze klasyfikacji IRS, opisując odczyn jako: 0 - negatywny, 1 - pozytywny, słaba ekspresja, 2 - pozytywny, umiarkowana ekspresja oraz 3 - pozytywny, silnie zaznaczona ekspresja.

Szczegółowe zasady oceny przedstawiono w tabeli 3.

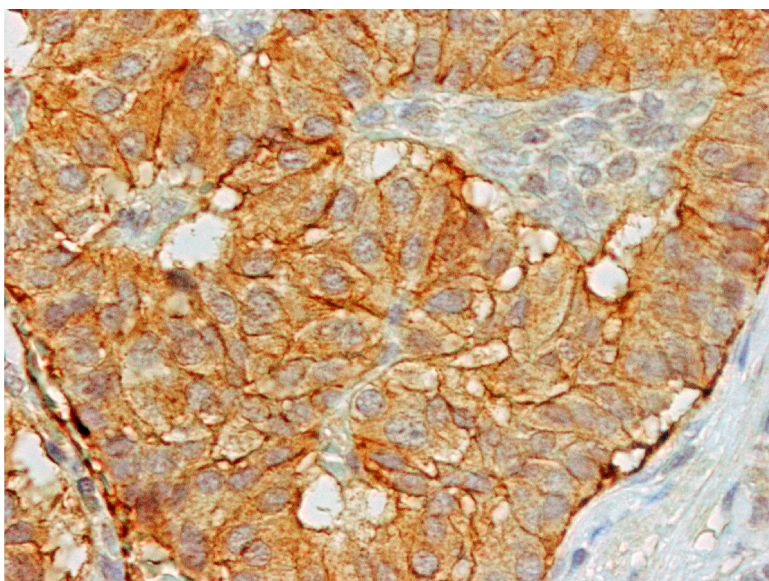
Tab. 3 IRS - skala immunoreaktywności

Procentowość pozytywnych reakcji komórkowych	Intensywność reakcji barwnej	= IRS (0 – 12)
0 = brak reakcji	0 = brak reakcji barwnej	0 – 1 = negatywna
1 = < 10% pozytywnych reakcji komórkowych	1 = łagodna reakcja	2 – 3 = łagodna
2 = 10-50% pozytywnych reakcji komórkowych	2 = umiarkowana reakcja	4 – 8 = umiarkowana
3 = 51-80% pozytywnych reakcji komórkowych	3 = intensywna reakcja	9 – 12 = silnie zaznaczona
4 = > 80% pozytywnych reakcji komórkowych		
<hr/>		
IRS – liczba punktów		IRS – klasyfikacja
<hr/>		
0 – 1		0 = negatywna
2 – 3		1 = pozytywna, słaba ekspresja
4 – 8		2 = pozytywna, umiarkowana ekspresja
9 – 12		3 = pozytywna, silnie zaznaczona ekspresja

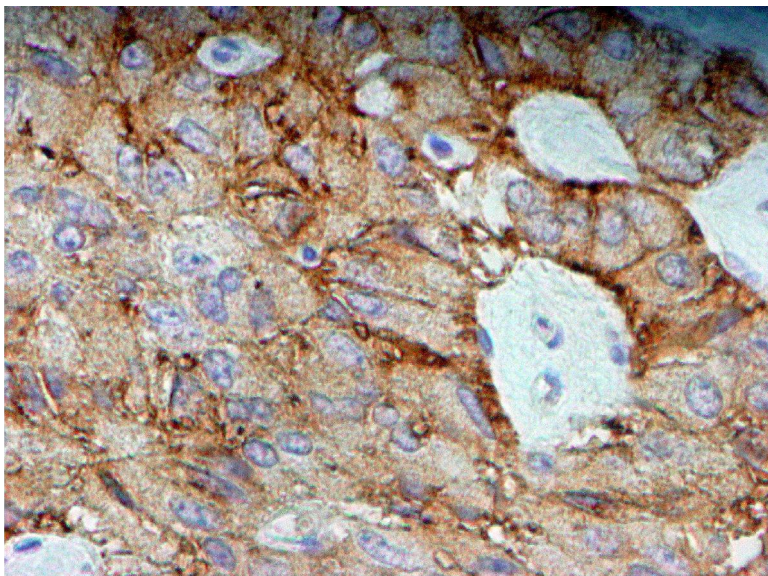
Za reakcję dodatnią przyjęto wyniki w skali IRS: 1,2 i 3, za reakcję ujemną przyjęto wynik 0.



Ryc. 4 Odczyn immunohistochemiczny na SSTR2a w nowotworze neuroendokrynnym jelita grubego (klasyfikacja IRS-3) (pow. 200x)



Ryc. 5 Odczyn immunohistochemiczny na SSTR5 w nowotworze neuroendokrynnym dwunastnicy (klasyfikacja IRS-2) (pow. 400x)



Ryc. 6 Odczyn immunohistochemiczny na SSTR3 w nowotworze neuroendokrynnym trzustki (klasyfikacja IRS-1) (pow. 400x)

4.3 Metody statystyczne

Badane cechy poddano wstępnej analizie statystycznej. Dane były mierzone na skali nominalnej, porządkowej lub ilościowej. W zależności od założonych celów w pracy wykorzystane zostały różne metody statystyczne. Dane ilościowe zostały opisane za pomocą średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego, mediany oraz wartości minimalnej i maksymalnej. Dane porządkowe i nominalne opisano liczebnościami oraz wartościami procentowymi. Wszystkie hipotezy statystyczne weryfikowano na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

W celu sprawdzenia czy badana zmienna ma rozkład normalny, tj. czy badaną próbę można uważać za wybraną losowo z populacji o rozkładzie normalnym wykorzystano zalecany w literaturze przedmiotu dla prób małych (o liczebności mniejszej od 2000) test Shapiro - Wilka.

Uzyskane wyniki testu Shapiro – Wilka dla zmiennej ilościowej (wiek), były następujące: w grupie kobiet $p=0,058$, w grupie mężczyzn $p=0,27$ co oznacza, że nie ma podstaw do odrzucenia hipotezy o normalności rozkładów. Zatem uprawnione było przeprowadzenie porównania za pomocą testu t-Studenta.

Następnie badane cechy poddano wstępnej analizie opisowej, podając rozkład procentowy, średnią, odchylenie standardowe i kwartyłe rozkładu w przypadku zmiennych ilościowych.

Do analiz porównawczych cech jakościowych zastosowano test Chi², a w przypadkach, gdy wartość (liczebność) oczekiwana kategorii była mała, dokładny test Fishera lub jego rozszerzenie na tabele większe niż 2x2 - test Fishera-Freemana-Haltona [115].

Obliczenia statystyczne przeprowadzono za pomocą programów PQStat wersja 1.6.2.906, Statistica PL 12.5 oraz pakietu statystycznego R 3.2.3. (R Development Core Team (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>).

4.4 Charakterystyka grupy

Badania prowadzono na materiale histopatologicznym uzyskanym od 52 pacjentów (w tym 25 mężczyzn w wieku od 32 do 69 lat oraz 27 kobiet w wieku od 26 do 73 lat w momencie rozpoznania choroby) ze zdiagnozowanym nowotworem neuroendokrynnym, w tym żołądka 6 pacjentów, dwunastnicy - 2 chorych, 14 - jelita cienkiego, 8 - jelita grubego (w tym 3 przypadki nowotworu wywodzącego się z wyrostka robaczkowego), 16 - trzustki oraz 6 pacjentów ze zmianami przerzutowymi w wątrobie z nieznanym punktem wyjścia nowotworu.

W oparciu o aktualnie obowiązującą klasyfikację GEP-NET Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2010 roku z uwzględnieniem stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu na podstawie ekspresji antygenu proliferacyjnego Ki67 w jądrach komórkowych guza, wyróżniono następujące podgrupy:

- guzy wysokodojrzałe w stopniu G1 (NET G1) – 32 przypadki,
- guzy w stopniu G2 (NET G2) - 14 przypadków,
- niskodojrzałe raki neuroendokrynnne (NEC) w stopniu G3 - 6 przypadków.

Szczegółowe dane na temat badanej grupy pacjentów zawiera tabela 4:

Tab. 4 Charakterystyka badanej grupy

Cecha		Kobiety (N=27)		Mężczyźni (N=25)		Łącznie (N=52)		p *
		n	%	n	%	N	%	
Loka- lizacja	Dwunastnica	0	0,00%	2	8,00%	2	3,85%	p=0,603
	Jelito cienkie	9	33,33%	5	20,00%	14	26,92%	
	Jelito grube	3	11,11%	2	8,00%	5	9,62%	
	Jelito grube (w.r)	2	7,41%	1	4,00%	3	5,77%	
	Nieznane	2	7,41%	4	16,00%	6	11,54%	
	Trzustka	9	33,33%	7	28,00%	16	30,77%	
	Żołądek	2	7,41%	4	16,00%	6	11,54%	
Grading	G1	21	77,78%	11	44,00%	32	61,54%	p=0,04
	G2	5	18,52%	9	36,00%	14	26,92%	
	G3	1	3,70%	5	20,00%	6	11,54%	
Cecha		Średnia (SD)	mediana (kwartyle)	Średnia (SD)	mediana (kwartyle)	Średnia (SD)	mediana (kwartyle)	p **
Wiek [lata]		57,41 (12,38)	60 (50 - 67,5)	54,56 (9,9)	57 (49 - 61)	56,04 (11,24)	57 (49 - 64,25)	p=0,367

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) W badanej grupie lokalizacja nowotworów neuroendokrynych nie różni się istotnie u mężczyzn i kobiet (p=0,603). W grupie kobiet i grupie mężczyzn, statystycznie istotnie różni się grading (p=0,04)

** Test t-Studenta (normalność rozkładu) W badanej grupie różnica średniego wieku kobiet i średniego wieku mężczyzn nie jest istotna statystycznie (p=0,367)

5. WYNIKI BADAŃ

Tab. 5 Charakterystyka badanych parametrów u chorych z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnej nowotworu, stopnia aktywności mitotycznej i zaawansowania klinicznego choroby.

L.p	Lokalizacja	G.	Ki67	S.	TNM	SSTR	SSTR	SSTR	SSTR	SSTR
						1	2a	2b	3	5
1	żołądek	G1	2%	IIIa	T4N0M0	1	1	0	1	1
2	żołądek	G1	2%	IIB	T3N0M0	1	2	1	1	1
3	żołądek	G1	2%	IV	T3N1M1	0	2	1	0	1
4	żołądek	G1	2%	IV	T4N1M1	1	2	1	1	1
5	żołądek	G3	22%	IV	T3N1M1	0	1	0	0	0
6	żołądek	G3	50%	IV	T4N1M1	0	0	0	0	0
7	dwunastnica	G1	2%	Ila	T2NxM0	1	3	1	1	2
8	dwunastnica	G2	5%	IIIb	T3N1M0	1	1	1	0	1
9	j.cienkie	G1	2%	IV	T2N1M1	1	2	1	0	1
10	j.cienkie	G1	2%	IIIa	T4N0M0	0	3	1	1	2
11	j.cienkie	G1	2%	IIB	T3N0M0	1	2	1	2	1
12	j.cienkie	G1	2%	IV	T2N1M1	1	1	0	0	0
13	j.cienkie	G1	2%	Ila	T2NxM0	1	2	1	2	1
14	j.cienkie	G1	1%	IIIa	T4N0M0	1	3	1	0	0
15	j.cienkie	G1	1%	IIIb	T3N1M0	1	3	1	0	1
16	j.cienkie	G1	2%	IV	T1NxM1	1	2	1	0	2
17	j.cienkie	G1	1%	IV	T2N1M1	1	2	1	0	0
18	j.cienkie	G1	1%	IIIb	T2N1M0	0	1	0	0	0
19	j.cienkie	G1	1%	IIIa	T4N0M0	1	2	1	1	2
20	j.cienkie	G2	10%	IV	T1NxM1	0	0	0	1	1
21	j.cienkie	G2	10%	IV	T2N1M1	1	0	0	0	0
22	j.cienkie	G3	90%	IV	T1NxM1	0	0	0	1	0
23	j.grube	G1	2%	Ila	T2N0M0	1	3	1	1	3
24	j.grube	G1	2%	IIB	T3NxM0	0	3	2	1	0
25	j.grube	G1	2%	Ila	T2N0M0	1	1	0	1	1
26	j.grube	G1	1%	IV	T2NxM1	1	2	1	0	1
27	j.grube	G1	2%	IV	T2N1M1	0	2	1	0	1
28	j.grube(w.r)	G1	2%	Ila	T2N0M0	1	2	2	1	1

29	j.grube(w.r)	G1	2%	IIIb	T2N1M0	0	0	0	0	1
30	j.grube(w.r)	G2	3%	IIa	T2N0M0	0	0	0	0	1
31	trzustka	G1	1%	IIa	T2N0M0	1	2	1	1	1
32	trzustka	G1	1%	I	T1N0M0	0	2	1	0	0
33	trzustka	G1	1%	IIIa	T4N0M0	1	2	1	1	2
34	trzustka	G1	2%	IIb	T3NxM0	1	1	1	0	1
35	trzustka	G1	2%	IV	T2N1M1	0	1	0	2	1
36	trzustka	G1	2%	IIIa	T4N0M0	1	3	1	0	1
37	trzustka	G1	2%	IIa	T2N0M0	1	3	1	1	1
38	trzustka	G1	2%	IV	T3N1M1	0	2	1	1	0
39	trzustka	G2	4%	IV	T2N1M1	0	3	2	1	0
40	trzustka	G2	5%	IV	T2NxM1	1	2	1	1	1
41	trzustka	G2	6%	IIIb	T3N1M0	1	1	0	0	1
42	trzustka	G2	6%	IIa	T2N0M0	0	0	0	1	1
43	trzustka	G2	10%	IV	T3N1M1	0	2	1	1	1
44	trzustka	G2	15%	IV	T1NxM1	1	1	2	1	0
45	trzustka	G2	15%	IV	T2N1M1	1	1	0	1	1
46	trzustka	G3	30%	IV	T2NxM1	0	0	0	0	0
47	nieznane	G1	2%	IV	TxNxM1	1	2	1	1	1
48	nieznane	G2	5%	IV	TxNxM1	0	2	1	0	2
49	nieznane	G2	5%	IV	TxNxM1	1	2	1	1	3
50	nieznane	G2	15%	IV	TxNxM1	1	2	1	1	1
51	nieznane	G3	25%	IV	TxNxM1	0	1	0	0	0
52	nieznane	G3	30%	IV	TxNxM1	0	1	0	0	0

Wyjaśnienie skrótów: G. - grading (stopień aktywności mitotycznej), S. - staging (stopień zaawansowania klinicznego choroby)

W kolejnych podrozdziałach zaprezentowano szczegółową analizę statystyczną uzyskanych wyników badań.

5.1 Wyniki rozkładu procentowego poszczególnych SSTR w zależności od stopnia intensywności reakcji w skali IRS

Tab. 6 Rozkład procentowy poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego w zależności od stopnia intensywności reakcji w skali IRS

IRS	SSTR1		SSTR2a		SSTR2b		SSTR3		SSTR5	
	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
0	21	40,38%	8	15,38%	18	34,62%	24	46,15%	16	30,76%
1	31	59,62%	13	25,00%	30	57,69%	25	48,08%	28	53,85%
2	0	0,00%	22	42,31%	4	7,69%	3	5,77%	6	11,54%
3	0	0,00%	9	17,31%	0	0,00%	0	0,00%	2	3,85%

Tab. 7 Rozkład procentowy poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego z najwyższą punktacją w skali IRS (3 punkty) w zależności od umiejscowienia pierwotnego nowotworu.

Receptor	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	% *	n	% *	n	% *
SSTR1	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
SSTR2a	1	50,00%	3	21,43%	2	40,00%
SSTR2b	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
SSTR3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
SSTR5	0	0,00%	0	0,00%	1	20,00%

Jelito grube (w.r) (N=3)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)	
N	% *	n	% *	n	% *	n	% *
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
0	0,00%	0	0,00%	3	18,75%	0	0,00%
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
0	0,00%	1	16,67%	0	0,00%	0	0,00%

5.2 Wyniki ekspresji SSTR wobec badanych parametrów: grading, lokalizacja pierwotna, wielkość guza, stopień zaawansowania klinicznego.

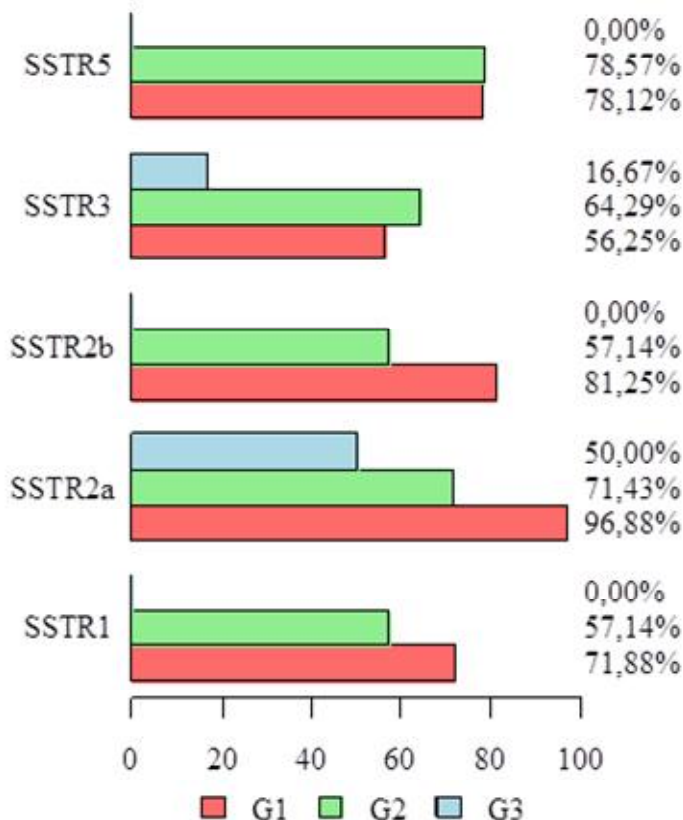
a) Wyniki badań z uwzględnieniem stopnia dojrzałości histologicznej (grading) zestawiono w tabeli 8 i wykresie 1.

Tab. 8 Charakterystyka badanych parametrów w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej

Receptor	G1 (N=32)		G2 (N=14)		G3 (N=6)		p **
	n	% *	n	% *	n	% *	
SSTR1	23	71,88%	8	57,14%	0	0,00%	p=0,004
SSTR2a	31	96,88%	10	71,43%	3	50,00%	p=0,003
SSTR2b	26	81,25%	8	57,14%	0	0,00%	p<0,001
SSTR3	18	56,25%	9	64,29%	1	16,67%	p=0,161
SSTR5	25	78,12%	11	78,57%	0	0,00%	p=0,001

* Odsetki nie sumują się do 100%, gdyż każdy pacjent mógł mieć reakcję „+” dla kilku receptorów.

** Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy ekspresją receptorów somatostatynowych SSTR1, SSTR2a, SSTR2b, SSTR3, SSTR5 a stopniem dojrzałości histologicznej (analizie poddano reakcje dodatnie niezależnie od stopnia intensywności reakcji w skali IRS: 1-3)



Wyk. 1 Udział dodatniej reakcji immunohistochemicznej wykrywającej poszczególne podtypy receptorów w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej (grading).

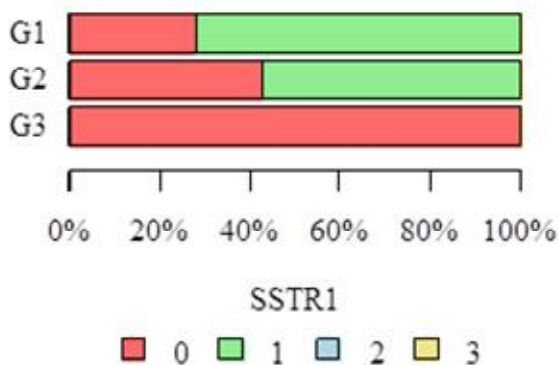
Wyniki zależności pomiędzy stopniem intensywności reakcji immunohistochemicznej poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego w skali IRS a stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu (grading) niezależnie od umiejscowienia nowotworu dla poszczególnych podtypów SSTR przedstawiono w tabelach 9 - 13 i na wykresach 2 - 6.

SSTR1

Tab. 9 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR1 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu (grading).

SSTR1 (IRS)	G1 (N=32)		G2 (N=14)		G3 (N=6)		p *
	n	%	n	%	n	%	
0	9	28,12%	6	42,86%	6	100,00%	p=0,004
1	23	71,88%	8	57,14%	0	0,00%	
2	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR1 w skali IRS a stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu (grading). Wartość $p=0,004$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



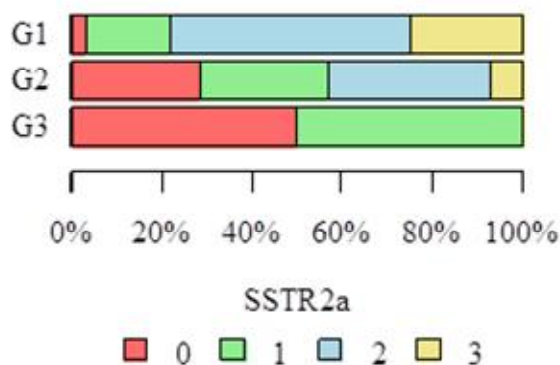
Wyk. 2 Nasilenie ekspresji SSTR1 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.

SSTR2a

Tab. 10 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2a w zależności od stopnia aktywności mitotycznej.

SSTR2a (IRS)	G1 (N=32)		G2 (N=14)		G3 (N=6)		p *
	n	%	n	%	n	%	
0	1	3,12%	4	28,57%	3	50,00%	p=0,003
1	6	18,76%	4	28,57%	3	50,00%	
2	17	53,12%	5	35,72%	0	0,00%	
3	8	25,00%	1	7,14%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2a w skali IRS a stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu (grading). Wartość $p=0,003$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



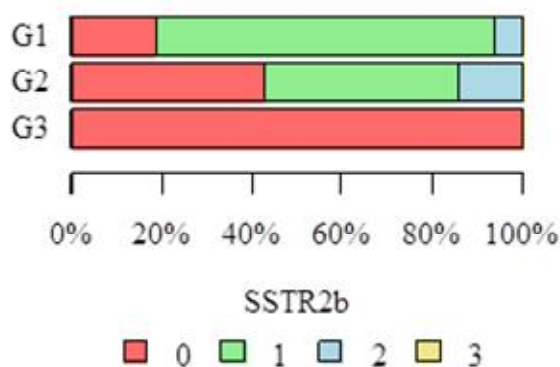
Wyk. 3 Nasilenie ekspresji SSTR2a w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.

SSTR2b

Tab. 11 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2b w zależności od stopnia aktywności mitotycznej.

SSTR2b (IRS)	G1 (N=32)		G2 (N=14)		G3 (N=6)		p *
	n	%	n	%	n	%	
0	6	18,75%	6	42,86%	6	100,00%	p=0,001
1	24	75,00%	6	42,86%	0	0,00%	
2	2	6,25%	2	14,28%	0	0,00%	
3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2b w skali IRS a stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu (grading). Wartość $p=0,001$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



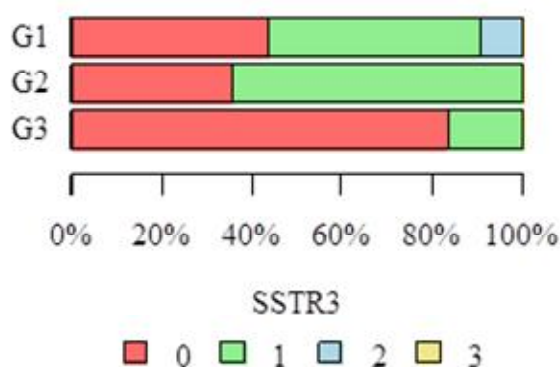
Wyk. 4 Nasilenie ekspresji SSTR2b w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.

SSTR3

Tab. 12 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR3 w zależności od stopnia aktywności mitotycznej.

SSTR3 (IRS)	G1 (N=32)		G2 (N=14)		G3 (N=6)		p *
	n	%	n	%	n	%	
0	14	43,75%	5	35,71%	5	83,33%	p=0,245
1	15	46,88%	9	64,29%	1	16,67%	
2	3	9,37%	0	0,00%	0	0,00%	
3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR3 w skali IRS a stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu (grading). Wartość $p=0,245$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



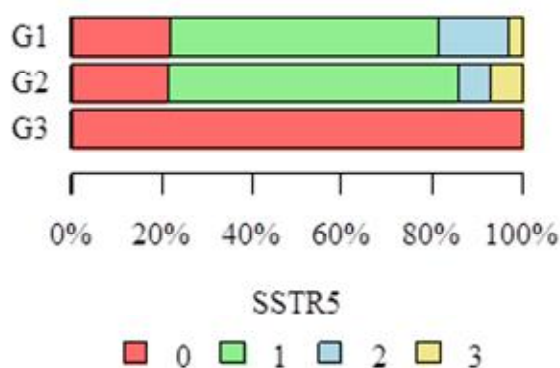
Wyk. 5 Nasilenie ekspresji SSTR3 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.

SSTR5

Tab. 13 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR5 w zależności od stopnia aktywności mitotycznej.

SSTR5 (IRS)	G1 (N=32)		G2 (N=14)		G3 (N=6)		p *
	n	%	n	%	n	%	
0	7	21,88%	3	21,43%	6	100,00%	p=0,013
1	19	59,38%	9	64,29%	0	0,00%	
2	5	15,62%	1	7,14%	0	0,00%	
3	1	3,12%	1	7,14%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR5 w skali IRS a stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu (grading). Wartość p=0,013 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 6 Nasilenie ekspresji SSTR5 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.

b) Obecność poszczególnych podtypów SSTR w zależności od pierwotnej lokalizacji nowotworu przedstawiono w tabeli 14 i wykresie 7.

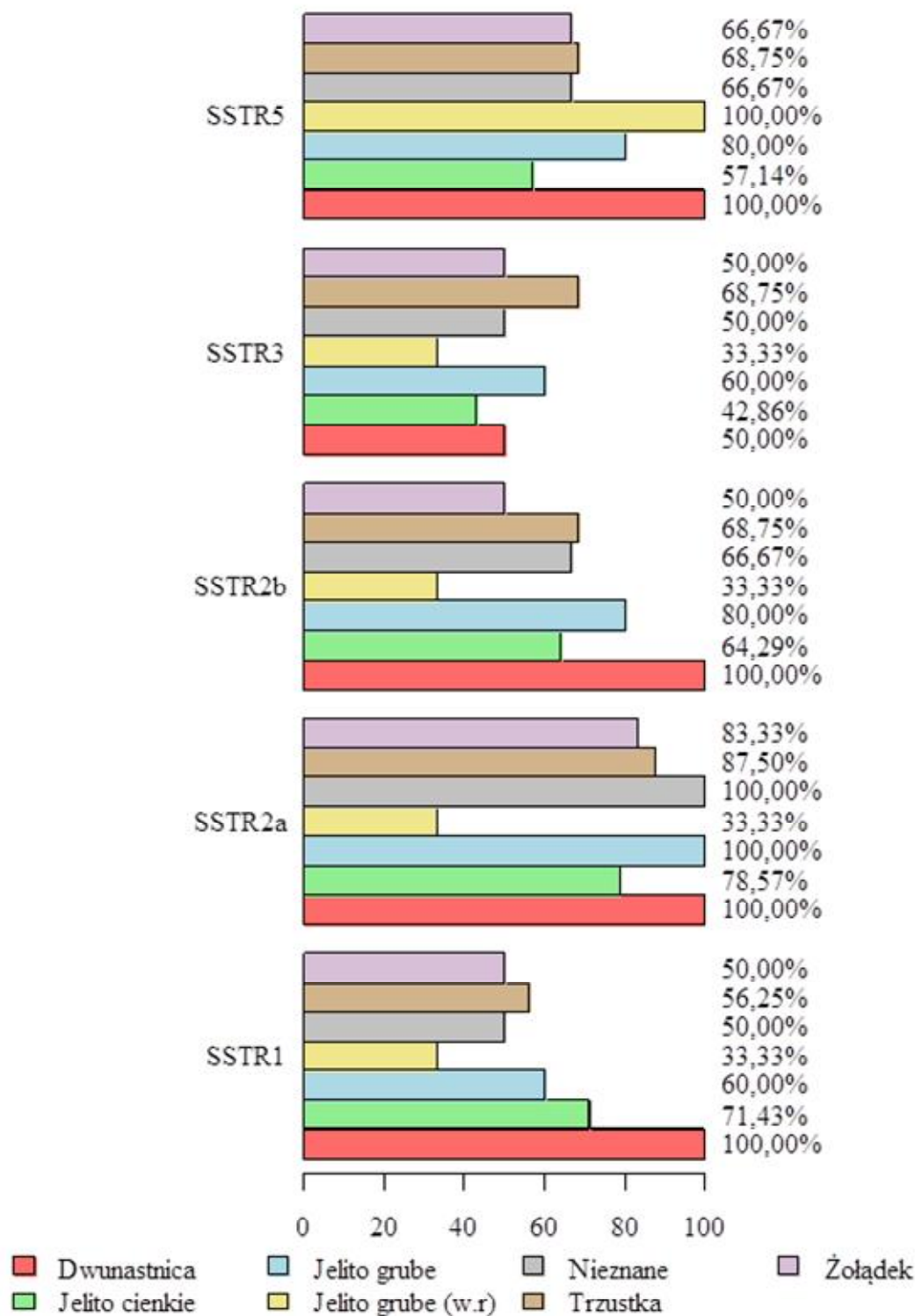
Tab. 14 Charakterystyka badanych parametrów w zależności od umiejscowienia pierwotnego.

Receptor	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	% *	n	% *	n	% *
SSTR1	2	100,00%	10	71,43%	3	60,00%
SSTR2a	2	100,00%	11	78,57%	5	100,00%
SSTR2b	2	100,00%	9	64,29%	4	80,00%
SSTR3	1	50,00%	6	42,86%	3	60,00%
SSTR5	2	100,00%	8	57,14%	4	80,00%

Receptor	Jelito grube (wyrostek robaczkowy) (N=3)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)		p **
	n	% *	n	% *	n	% *	n	% *	
SSTR1	1	33,33%	3	50,00%	9	56,25%	3	50,00%	p=0,794
SSTR2a	1	33,33%	6	100,00%	14	87,50%	5	83,33%	p=0,271
SSTR2b	1	33,33%	4	66,67%	11	68,75%	3	50,00%	p=0,82
SSTR3	1	33,33%	3	50,00%	11	68,75%	3	50,00%	p=0,847
SSTR5	3	100,00%	4	66,67%	11	68,75%	4	66,67%	p=0,888

* Dane liczbowe nie sumują się do 100%, gdyż każdy pacjent mógł mieć reakcję „+” dla kilku receptorów.

** Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy dodatnią reakcją immunohistochemiczną niezależnie od stopnia intensywności reakcji w skali IRS (IRS 1-3) poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego a lokalizacją pierwotną nowotworów. Wartości $p > 0,05$, zatem na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 7 Udział dodatnich reakcji immunohistochemicznych wykrywających poszczególne podtypy receptora somatostatynowego w zależności od umiejscowienia nowotworu.

Zależność pomiędzy stopniem intensywności reakcji immunohistochemicznej poszczególnych podtypów SSTR, a lokalizacją pierwotną nowotworu przedstawiono w tabelach 15-19 oraz na wykresach 8-12.

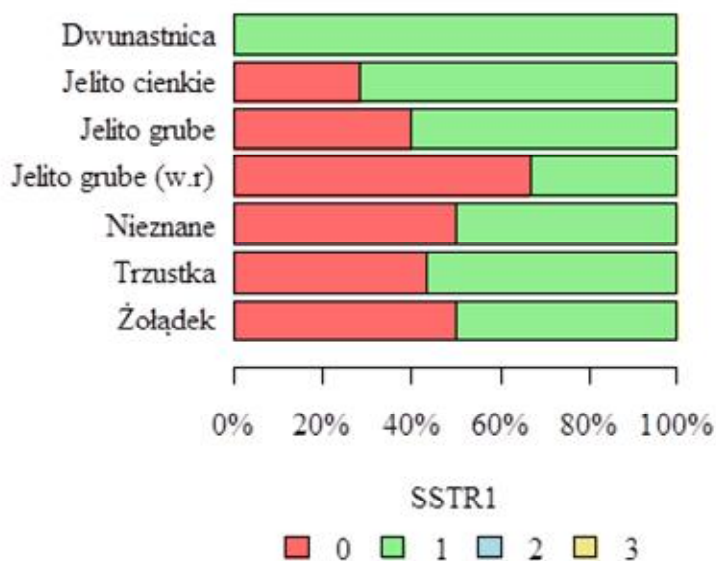
SSTR1

Tab. 15 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR1 w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu.

SSTR1 (IRS)	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	%	n	%	n	%
0	0	0,00%	4	28,57%	2	40,00%
1	2	100,00%	10	71,43%	3	60,00%
2	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%

Jelito grube (w.r) (N=3)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)		p *
n	%	n	%	n	%	n	%	
2	66,67%	3	50,00%	7	43,75%	3	50,00%	p=0,794
1	33,33%	3	50,00%	9	56,25%	3	50,00%	
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR1 w skali IRS a lokalizacją pierwotną nowotworu. Wartość p=0,794 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 8 Nasilenie ekspresji SSTR1 a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego

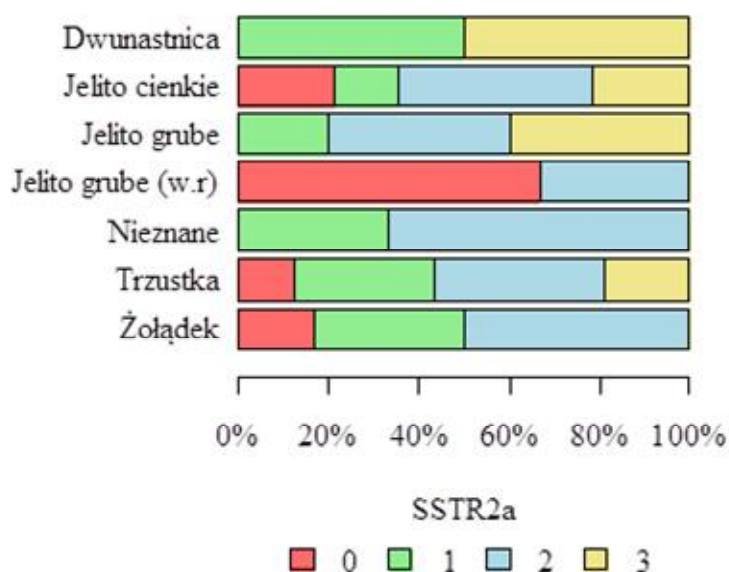
SSTR2a

Tab. 16 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2a w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu.

SSTR2a (IRS)	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	%	n	%	n	%
0	0	0,00%	3	21,43%	0	0,00%
1	1	50,00%	2	14,29%	1	20,00%
2	0	0,00%	6	42,86%	2	40,00%
3	1	50,00%	3	21,43%	2	40,00%

Jelito grube (w.r) (N=3)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)		p *
n	%	n	%	n	%	n	%	
2	66,67%	0	0,00%	2	12,50%	1	16,67%	p=0,678
0	0,00%	2	33,33%	5	31,25%	2	33,33%	
1	33,33%	4	66,67%	6	37,50%	3	50,00%	
0	0,00%	0	0,00%	3	18,75%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2a w skali IRS a lokalizacją pierwotną nowotworu. Wartość p=0,678 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 9 Nasilenie ekspresji SSTR2a a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.

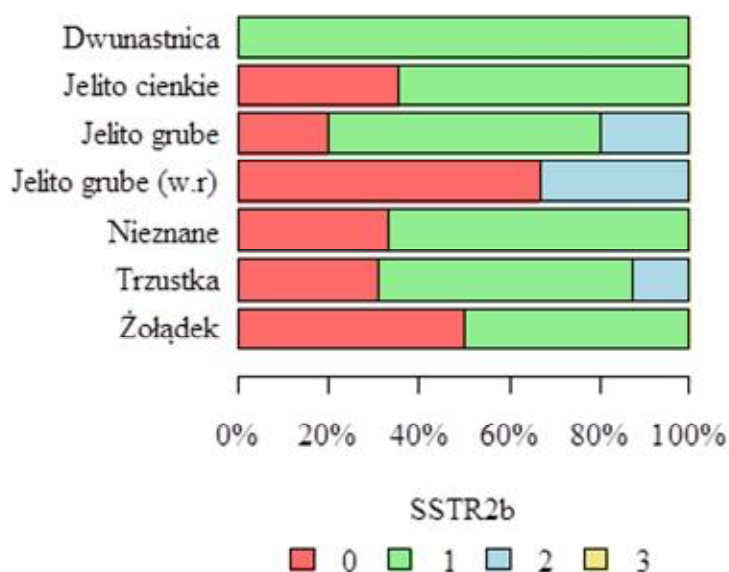
SSTR2b

Tab. 17 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2b w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu.

SSTR2b (IRS)	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	%	n	%	n	%
0	0	0,00%	5	35,71%	1	20,00%
1	2	100,00%	9	64,29%	3	60,00%
2	0	0,00%	0	0,00%	1	20,00%
3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%

Jelito grube (N=3) (wyrstek robaczkowy)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)		p *
n	%	n	%	n	%	n	%	
2	66,67%	2	33,33%	5	31,25%	3	50,00%	p=0,511
0	0,00%	4	66,67%	9	56,25%	3	50,00%	
1	33,33%	0	0,00%	2	12,50%	0	0,00%	
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2b w skali IRS a lokalizacją pierwotną nowotworu. Wartość p=0,511 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 10 Nasilenie ekspresji SSTR2b a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.

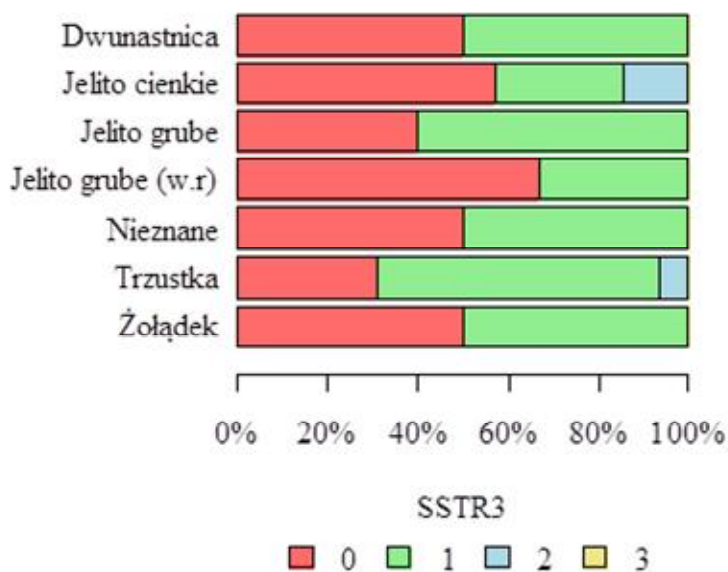
SSTR3

Tab. 18 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR3 w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu.

SSTR3 (IRS)	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	%	n	%	n	%
0	1	50,00%	8	57,14%	2	40,00%
1	1	50,00%	4	28,57%	3	60,00%
2	0	0,00%	2	14,29%	0	0,00%
3	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%

Jelito grube (N=3) (wyrostek robaczkowy)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)		p *
n	%	n	%	n	%	n	%	
2	66,67%	3	50,00%	5	31,25%	3	50,00%	p=0,909
1	33,33%	3	50,00%	10	62,50%	3	50,00%	
0	0,00%	0	0,00%	1	6,25%	0	0,00%	
0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR3 w skali IRS a lokalizacją pierwotną nowotworu. Wartość p=0,909 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 11 Nasilenie ekspresji SSTR3 a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.

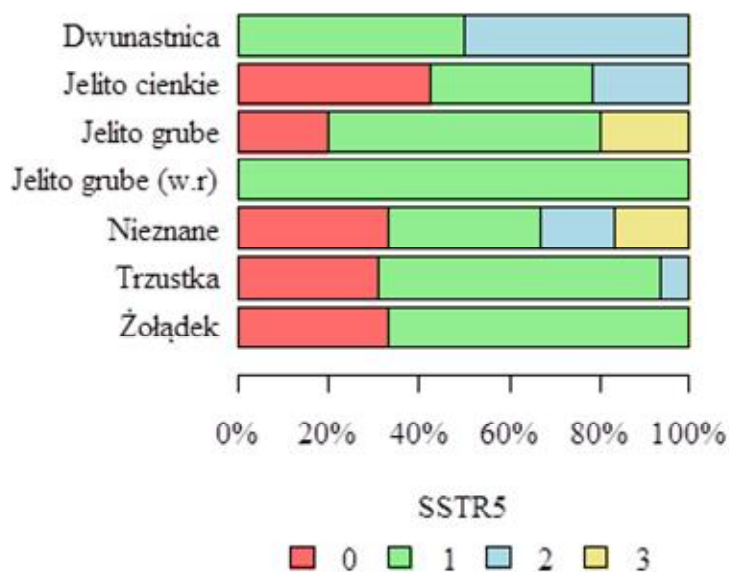
SSTR5

Tab. 19 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR5 w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu

SSTR5 (IRS)	Dwunastnica (N=2)		Jelito cienkie (N=14)		Jelito grube (N=5)	
	n	%	n	%	n	%
0	0	0,00%	6	42,86%	1	20,00%
1	1	50,00%	5	35,71%	3	60,00%
2	1	50,00%	3	21,43%	0	0,00%
3	0	0,00%	0	0,00%	1	20,00%

Jelito grube (N=3) (wyrostek robaczkowy)		Nieznane (N=6)		Trzustka (N=16)		Żołądek (N=6)		p *
n	%	n	%	n	%	n	%	
0	0,00%	2	33,33%	5	31,25%	2	33,33%	p=0,464
3	100,00%	2	33,33%	10	62,50%	4	66,67%	
0	0,00%	1	16,67%	1	6,25%	0	0,00%	
0	0,00%	1	16,67%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR5 w skali IRS a lokalizacją pierwotną nowotworu. Wartość p=0,464 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 12 Nasilenie ekspresji SSTR5 a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.

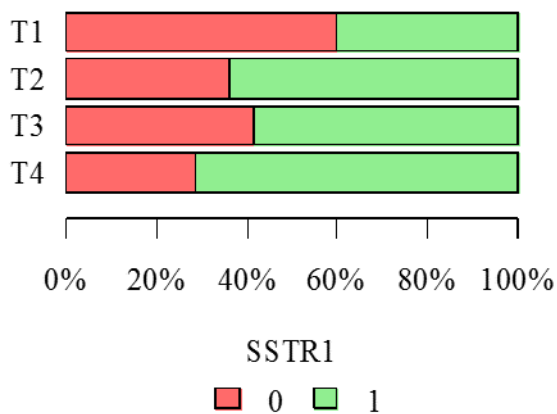
c) Wyniki ekspresji poszczególnych SSTR ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej (cecha T) przedstawiono w tabelach 20-24 oraz na wykresach 13-17.

SSTR1

Tab. 20 Charakterystyka intensywności ekspresji SSTR1 w skali IRS ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej.

SSTR1 (IRS)	Cecha T								p *
	T1		T2		T3		T4		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
0	3	60,00%	8	36,36%	5	41,67%	2	28,57%	p=0,741
1	2	40,00%	14	63,64%	7	58,33%	5	71,43%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR1 w skali IRS a rozmiarem zmiany pierwotnej nowotworu. Wartość $p=0,741$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



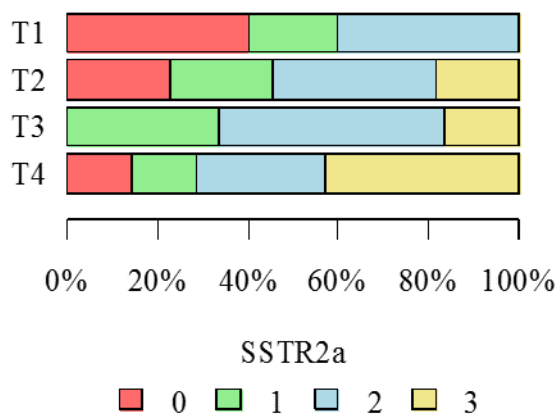
Wyk. 13 Udział stopnia ekspresji SSTR1 w zależności od cechy T.

SSTR2a

Tab. 21 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2a ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej.

SSTR2a (IRS)	Cecha T								p *
	T1		T2		T3		T4		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
0	2	40,00%	5	22,73%	0	0,00%	1	14,29%	p=0,534
1	1	20,00%	5	22,73%	4	33,33%	1	14,29%	
2	2	40,00%	8	36,36%	6	50,00%	2	28,57%	
3	0	0,00%	4	18,18%	2	16,67%	3	42,86%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2a w skali IRS a rozmiarem zmiany pierwotnej nowotworu. Wartość p=0,534 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



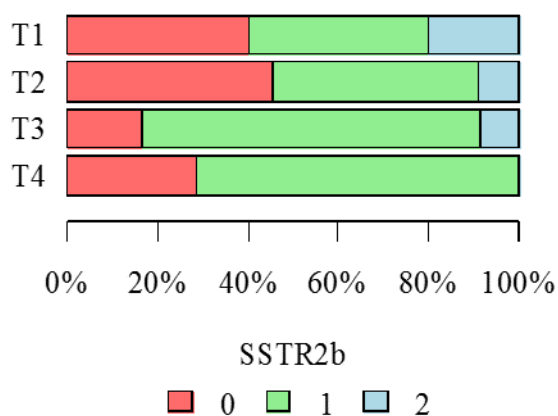
Wyk. 14 Udział stopnia ekspresji SSTR2a w zależności od cechy T.

SSTR2b

Tab. 22 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2b ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej.

SSTR2b (IRS)	Cecha T								p *
	T1		T2		T3		T4		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
0	2	40,00%	10	45,45%	2	16,67%	2	28,57%	p=0,487
1	2	40,00%	10	45,45%	9	75,00%	5	71,43%	
2	1	20,00%	2	9,09%	1	8,33%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2b w skali IRS a rozmiarem zmiany pierwotnej nowotworu. Wartość p=0,487 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



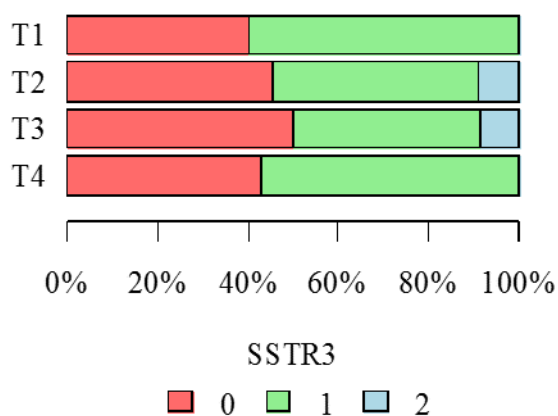
Wyk. 15 Udział stopnia ekspresji SSTR2b w zależności od cechy T.

SSTR3

Tab. 23 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR3 ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej.

SSTR3 (IRS)	Cecha T								p *
	T1		T2		T3		T4		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
0	2	40,00%	10	45,45%	6	50,00%	3	42,86%	p=1
1	3	60,00%	10	45,45%	5	41,67%	4	57,14%	
2	0	0,00%	2	9,09%	1	8,33%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR3 w skali IRS a rozmiarem zmiany pierwotnej nowotworu. Wartość p=1 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



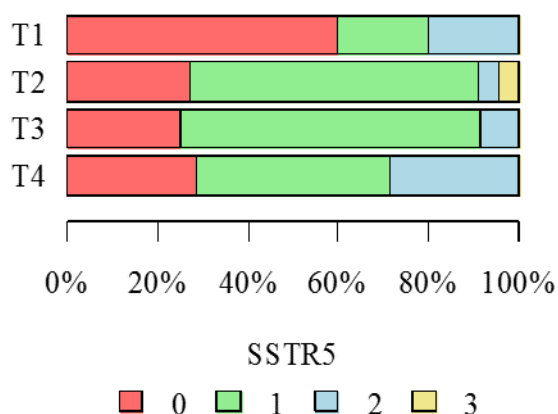
Wyk. 16 Udział stopnia ekspresji SSTR3 w zależności od cechy T.

SSTR5

Tab. 24 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR5 ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej.

SSTR5 (IRS)	Cecha T								p *
	T1		T2		T3		T4		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
0	3	60,00%	6	27,27%	3	25,00%	2	28,57%	p=0,414
1	1	20,00%	14	63,64%	8	66,67%	3	42,86%	
2	1	20,00%	1	4,55%	1	8,33%	2	28,57%	
3	0	0,00%	1	4,55%	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR5 w skali IRS a rozmiarem zmiany pierwotnej nowotworu. Wartość $p=0,414$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 17 Udział stopnia ekspresji SSTR5 w zależności od cechy T.

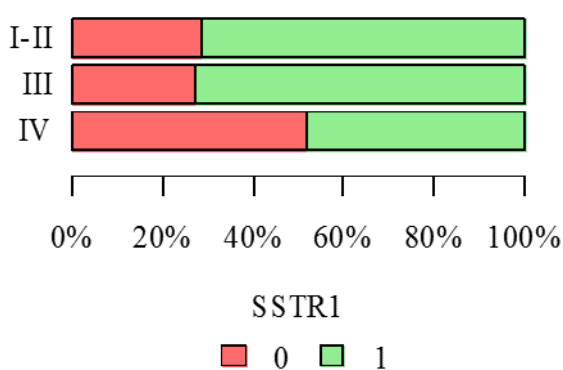
d) Wyniki analizy nasilenia ekspresji SSTR ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby przedstawiono w tabelach 25-29 oraz wykresach 18-22.

SSTR1

Tab. 25 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR1 ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.

SSTR1 (IRS)	Stopień zaawansowania klinicznego						p *
	I-II		III		IV		
	n	%	n	%	n	%	
0	4	28,57%	3	27,27%	14	51,85%	p=0,279
1	10	71,43%	8	72,73%	13	48,15%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR1 w skali IRS a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Wartość p=0,279 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



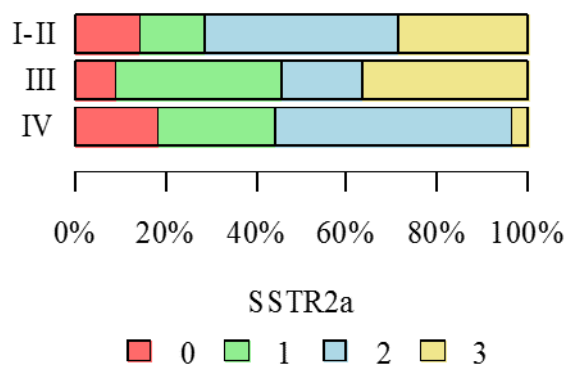
Wyk. 18 Udział stopnia ekspresji SSTR1 w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.

SSTR2a

Tab. 26 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2a ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.

SSTR2a (IRS)	Stopień zaawansowania klinicznego						p *
	I-II		III		IV		
	n	%	n	%	n	%	
0	2	14,29%	1	9,09%	5	18,52%	p=0,088
1	2	14,29%	4	36,36%	7	25,93%	
2	6	42,86%	2	18,18%	14	51,85%	
3	4	28,57%	4	36,36%	1	3,70%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2a w skali IRS a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Wartość $p=0,088$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



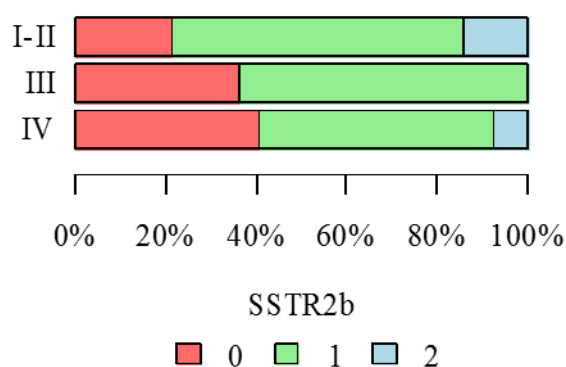
Wyk. 19 Udział stopnia ekspresji SSTR2a w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.

SSTR2b

Tab. 27 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2b ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.

SSTR2b (IRS)	Stopień zaawansowania klinicznego						p *
	I-II		III		IV		
	n	%	n	%	n	%	
0	3	21,43%	4	36,36%	11	40,74%	p=0,631
1	9	64,29%	7	63,64%	14	51,85%	
2	2	14,29%	0	0,00%	2	7,41%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2b w skali IRS a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Wartość p=0,631 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



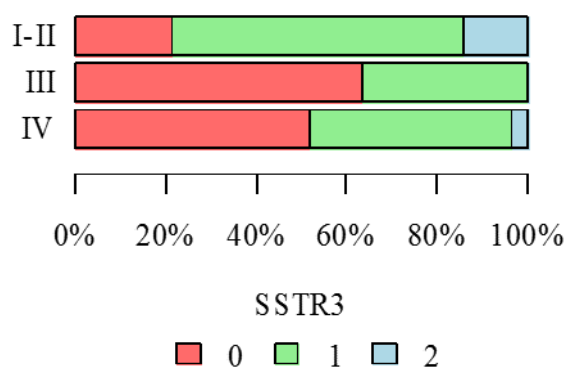
Wyk. 20 Udział stopnia ekspresji SSTR2b w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.

SSTR3

Tab. 28 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR3 ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.

SSTR3 (IRS)	Stopień zaawansowania klinicznego						p *
	I-II		III		IV		
	n	%	n	%	n	%	
0	3	21,43%	7	63,64%	14	51,85%	p=0,154
1	9	64,29%	4	36,36%	12	44,44%	
2	2	14,29%	0	0,00%	1	3,70%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR3 w skali IRS a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Wartość $p=0,154$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



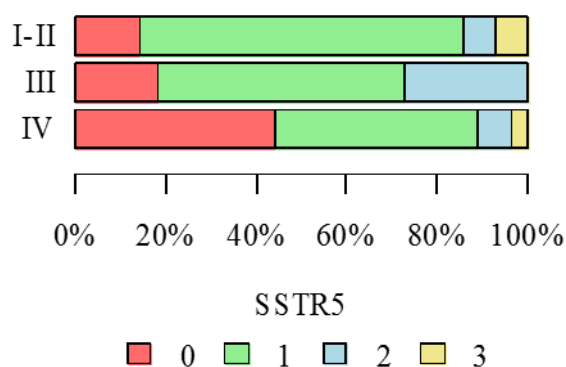
Wyk. 21 Udział stopnia ekspresji SSTR3 w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.

SSTR5

Tab. 29 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR5 ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.

SSTR5 (IRS)	Stopień zaawansowania klinicznego						p *
	I-II		III		IV		
	n	%	n	%	n	%	
0	2	14,29%	2	18,18%	12	44,44%	p=0,183
1	10	71,43%	6	54,55%	12	44,44%	
2	1	7,14%	3	27,27%	2	7,41%	
3	1	7,14%	0	0,00%	1	3,70%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR5 w skali IRS a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Wartość $p=0,183$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 22 Udział stopnia ekspresji SSTR5 w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.

5.3. Porównanie intensywności ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy nowotworami neuroendokrynnymi przewodu pokarmowego a nowotworami neuroendokrynnymi trzustki.

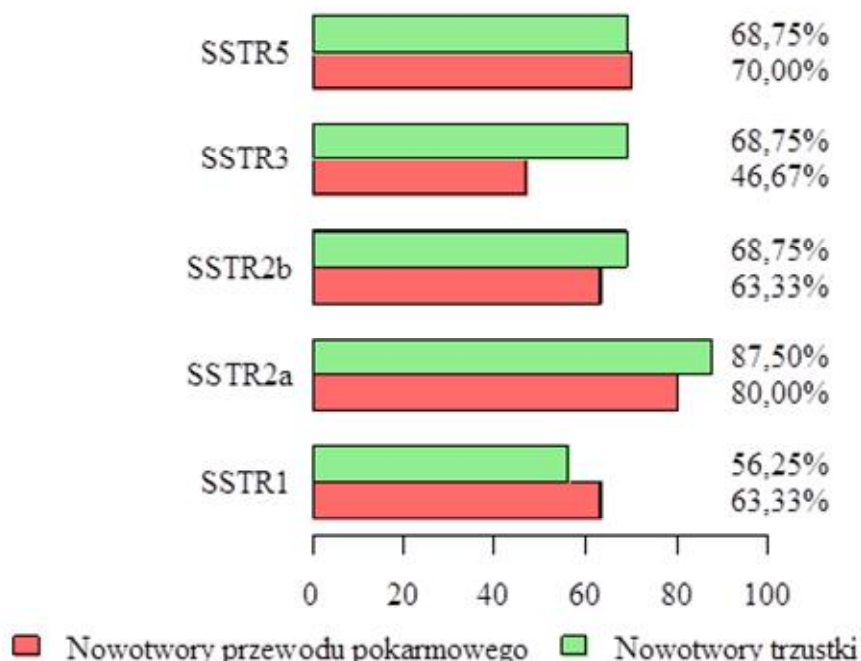
W tabeli 30 i na wykresie 23 zebrano przypadki, gdzie wynik reakcji immunohistochemicznej był pozytywny (1,2 lub 3 punkty w skali IRS).

Tab. 30 Charakterystyka porównawcza ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki

Receptor	Nowotwory przewodu pokarmowego (N=30)		Nowotwory trzustki (N=16)		p **
	n	% *	n	% *	
SSTR1	19	63,33%	9	56,25%	p=0,879
SSTR2a	24	80,00%	14	87,50%	p=0,694
SSTR2b	19	63,33%	11	68,75%	p=0,966
SSTR3	14	46,67%	11	68,75%	p=0,262
SSTR5	21	70,00%	11	68,75%	p=1

* Odsetki nie sumują się do 100%, gdyż każdy pacjent mógł mieć reakcję „+” dla kilku receptorów.

**Dla SSTR1, 2b i 3 test chi-kwadrat, dla pozostałych dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tab.) testowano zależność pomiędzy ekspresją receptorów somatostatynowych SSTR1, SSTR2a, SSTR2b, SSTR3, SSTR5 zmian wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz trzustki. Wartości $p > 0,05$ zatem na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 23 Udział pozytywnych reakcji immunohistochemicznych poszczególnych podtypów SSTR w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.

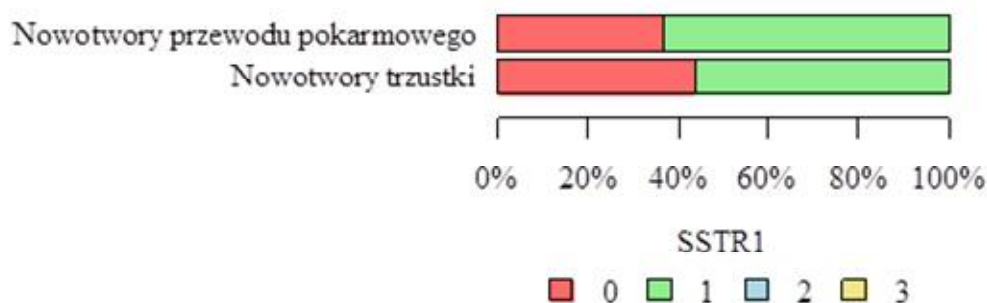
Szczegółowa analiza porównawcza intensywności reakcji immunohistochemicznej poszczególnych podtypów SSTR nowotworów neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki została przedstawiona w tabelach 31-35 oraz na wykresach 24-28.

SSTR1

Tab. 31 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR1 pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.

SSTR1 (IRS)	Nowotwory przewodu pokarmowego (N=30)		Nowotwory trzustki (N=16)		p *
	n	%	n	%	
0	11	36,67%	7	43,75%	p=0,879
1	19	63,33%	9	56,25%	
2	0	0,00%	0	0,00%	
3	0	0,00%	0	0,00%	

* Test chi-kwadrat testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR1 w skali IRS zmian wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz trzustki. Wartość p=0,879 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



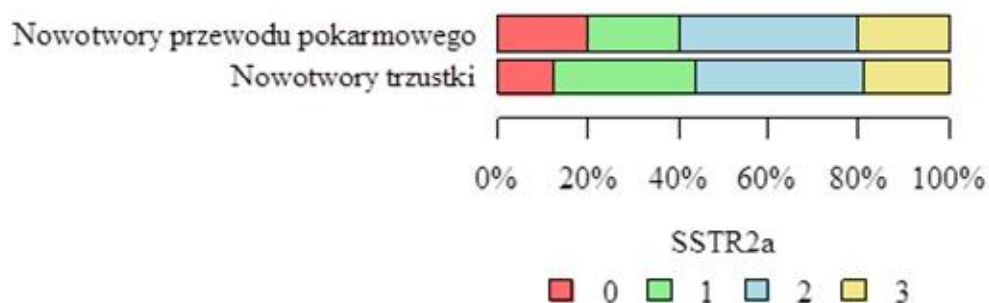
Wyk. 24 Intensywność ekspresji SSTR1 w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.

SSTR2a

Tab. 32 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2a pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.

SSTR2a (IRS)	Nowotwory przewodu pokarmowego (N=30)		Nowotwory trzustki (N=16)		p *
	n	%	n	%	
0	6	20,00%	2	12,50%	p=0,856
1	6	20,00%	5	31,25%	
2	12	40,00%	6	37,50%	
3	6	20,00%	3	18,75%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2a w skali IRS zmian wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz trzustki. Wartość $p=0,856$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



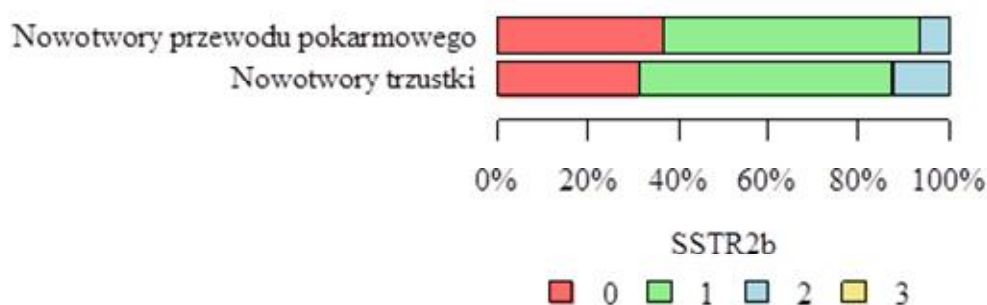
Wyk. 25 Intensywność ekspresji SSTR2a w nowotworach neuroendokrynych przewodu pokarmowego i trzustki.

SSTR2b

Tab. 33 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2b pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.

SSTR2b (IRS)	Nowotwory przewodu pokarmowego (N=30)		Nowotwory trzustki (N=16)		p *
	n	%	n	%	
0	11	36,67%	5	31,25%	p=0,805
1	17	56,67%	9	56,25%	
2	2	6,67%	2	12,50%	
3	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2b w skali IRS zmian wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz trzustki. Wartość p=0,805 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



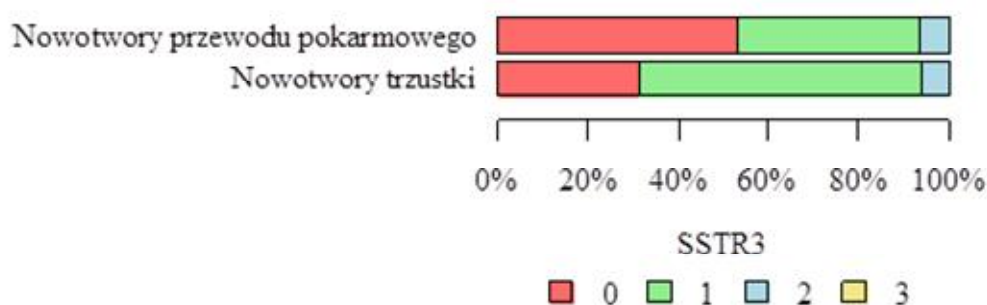
Wyk. 26 Intensywność ekspresji SSTR2b w nowotworach neuroendokrynych przewodu pokarmowego i trzustki.

SSTR3

Tab. 34 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR3 pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.

SSTR3 (IRS)	Nowotwory przewodu pokarmowego (N=30)		Nowotwory trzustki (N=16)		p *
	n	%	n	%	
0	16	53,33%	5	31,25%	p=0,301
1	12	40,00%	10	62,50%	
2	2	6,67%	1	6,25%	
3	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR3 w skali IRS zmian wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz trzustki. Wartość $p=0,301$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



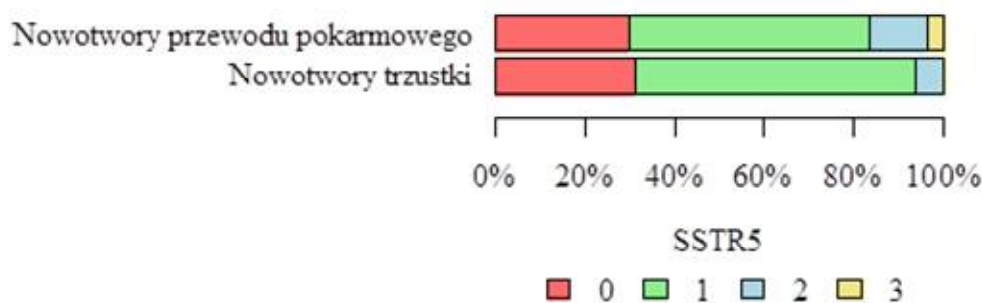
Wyk. 27 Intensywność ekspresji SSTR3 w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.

SSTR5

Tab. 35 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR5 pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.

SSTR5 (IRS)	Nowotwory przewodu pokarmowego (N=30)		Nowotwory trzustki (N=16)		p *
	n	%	n	%	
0	9	30,00%	5	31,25%	p=0,937
1	16	53,33%	10	62,50%	
2	4	13,33%	1	6,25%	
3	1	3,33%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR5 w skali IRS zmian wywodzących się z przewodu pokarmowego oraz trzustki. Wartość $p=0,937$ zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 28 Intensywność ekspresji SSTR5 w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.

5.4. Rozkład poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy nowotworami neuroendokrynnymi o znanej lokalizacji pierwotnej, a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia nowotworu.

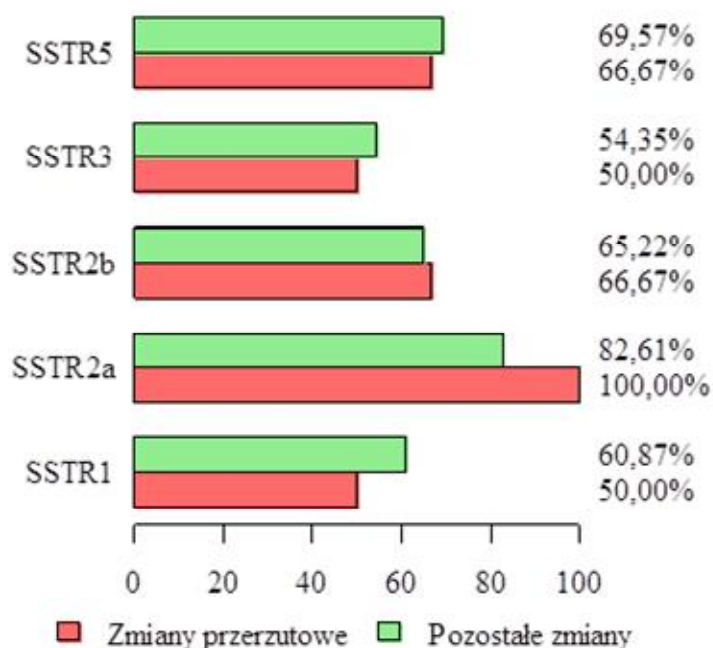
Zarówno w tabeli 36 jak i w wykresie 29 umieszczone są tylko przypadki reakcji pozytywnej (ocenionej w skali IRS na 1, 2 lub 3).

Tab. 36 Charakterystyka porównawcza ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.

Receptor	Zmiany przerzutowe (N=6)		Pozostałe zmiany (N=46)		p **
	n	% *	n	% *	
SSTR1	3	50,00%	28	60,87%	p=0,675
SSTR2a	6	100,00%	38	82,61%	p=0,573
SSTR2b	4	66,67%	30	65,22%	p=1
SSTR3	3	50,00%	25	54,35%	p=1
SSTR5	4	66,67%	32	69,57%	p=1

* Odsetki nie sumują się do 100%, gdyż każdy pacjent mógł mieć reakcję „+” dla kilku receptorów.

** Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy dodatnią reakcją immunohistochemiczną niezależnie od stopnia intensywności reakcji w skali IRS (IRS 1-3) poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego zmian o znanej lokalizacji pierwotnej i zmian przerzutowych o nieznanym punkcie wyjścia. Wartości $p > 0,05$, zatem na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 29 Udział pozytywnych reakcji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy zmianami pierwotnymi a przerzutowymi.

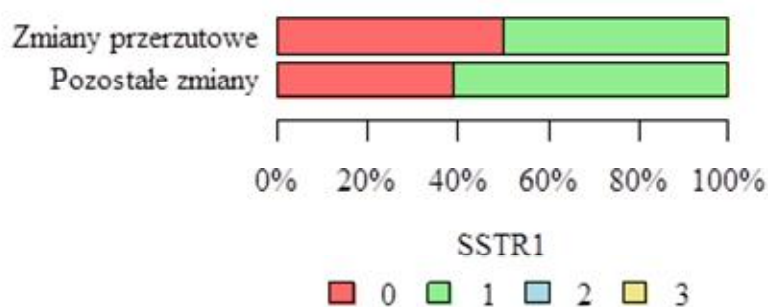
Porównanie intensywności ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy nowotworami neuroendokrynnymi o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi nowotworów o nieznanym umiejscowieniu pierwotnym przedstawiono w tabelach 37-41 oraz na wykresach 30-34.

SSTR1

Tab. 37 Charakterystyka porównawcza ekspresji SSTR1 w skali IRS pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.

SSTR1 (IRS)	Zmiany przerzutowe (N=6)		Pozostałe zmiany (N=46)		p *
	n	%	n	%	
0	3	50,00%	18	39,13%	p=0,675
1	3	50,00%	28	60,87%	
2	0	0,00%	0	0,00%	
3	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR1 w skali IRS zmian o znanej lokalizacji pierwotnej i zmian przerzutowych o nieznanym punkcie wyjścia. Wartość p=0,675 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



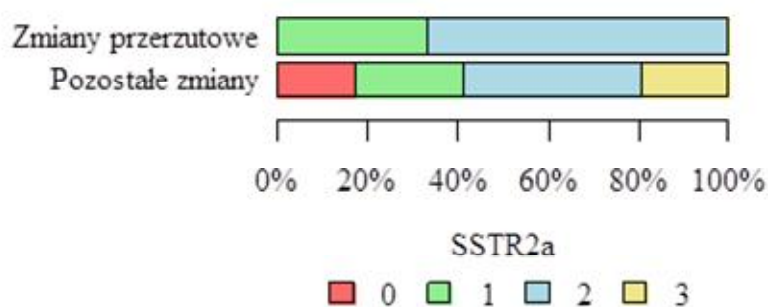
Wyk. 30 Intensywność ekspresji SSTR1 pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.

SSTR2a

Tab. 38 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR2a pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.

SSTR2a (IRS)	Zmiany przerzutowe (N=6)		Pozostałe zmiany (N=46)		p *
	n	%	n	%	
0	0	0,00%	8	17,39%	p=0,51
1	2	33,33%	11	23,91%	
2	4	66,67%	18	39,13%	
3	0	0,00%	9	19,57%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2a w skali IRS zmian o znanej lokalizacji pierwotnej i zmian przerzutowych o nieznanym punkcie wyjścia. Wartość p=0,51 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



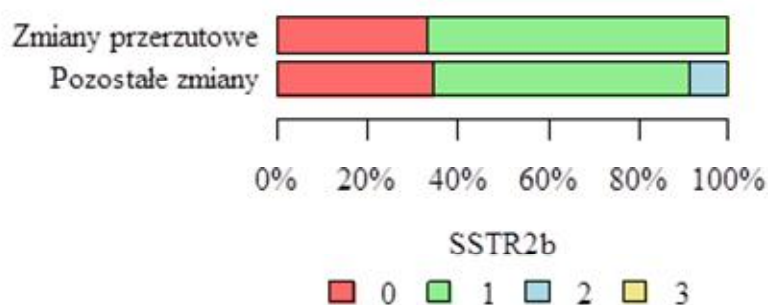
Wyk. 31 Intensywność ekspresji SSTR2a pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.

SSTR2b

Tab. 39 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR2b pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.

SSTR2b (IRS)	Zmiany przerzutowe (N=6)		Pozostałe zmiany (N=46)		p *
	n	%	n	%	
0	2	33,33%	16	34,78%	p=1
1	4	66,67%	26	56,52%	
2	0	0,00%	4	8,70%	
3	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR2b w skali IRS zmian o znanej lokalizacji pierwotnej i zmian przerzutowych o nieznanym punkcie wyjścia. Wartość p=1 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



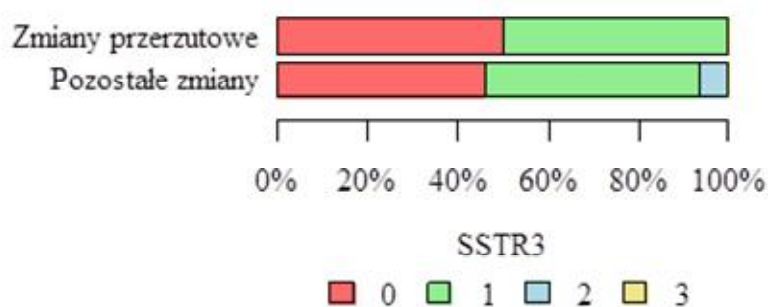
Wyk. 32 Intensywność ekspresji SSTR2b pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.

SSTR3

Tab. 40 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR3 pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.

SSTR3 (IRS)	Zmiany przerzutowe (N=6)		Pozostałe zmiany (N=46)		p *
	n	%	n	%	
0	3	50,00%	21	45,65%	p=1
1	3	50,00%	22	47,83%	
2	0	0,00%	3	6,52%	
3	0	0,00%	0	0,00%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR3 w skali IRS zmian o znanej lokalizacji pierwotnej i zmian przerzutowych o nieznanym punkcie wyjścia. Wartość p=1 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



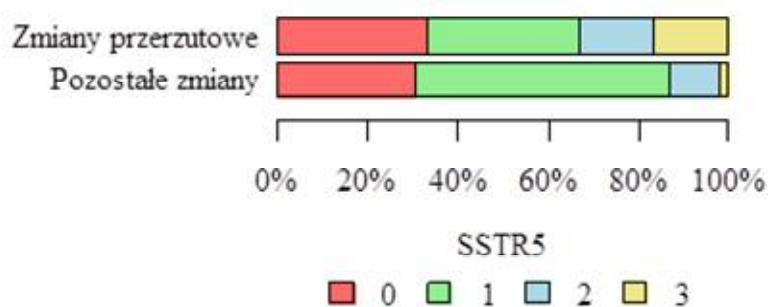
Wyk. 33 Intensywność ekspresji SSTR3 pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.

SSTR5

Tab. 41 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR5 pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.

SSTR5 (IRS)	Zmiany przerzutowe (N=6)		Pozostałe zmiany (N=46)		p *
	n	%	n	%	
0	2	33,33%	14	30,43%	p=0,201
1	2	33,33%	26	56,53%	
2	1	16,67%	5	10,87%	
3	1	16,67%	1	2,17%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy intensywnością reakcji immunohistochemicznej receptora somatostatynowego SSTR5 w skali IRS zmian o znanej lokalizacji pierwotnej i zmian przerzutowych o nieznanym punkcie wyjścia. Wartość p=0,201 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że nie istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



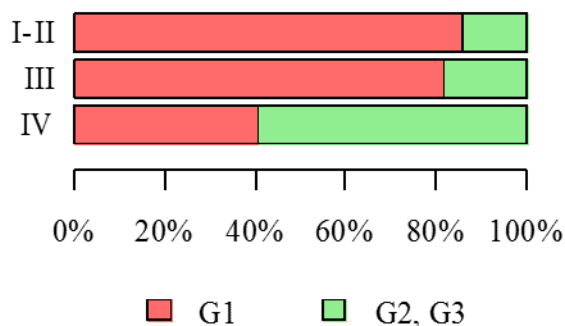
Wyk. 34 Intensywność ekspresji SSTR5 pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.

Dodatkowa analiza: wyniki zależności między stopniem aktywności mitotycznej nowotworu (grading) a stopniem zaawansowania klinicznego choroby (staging) znajdują się w tabeli 42 oraz na wykresie 35.

Tab. 42 Charakterystyka zależności między stopniem aktywności mitotycznej (grading) a stopniem zaawansowania klinicznego choroby (staging)

Grading	Stopień zaawansowania klinicznego						p *
	I-II		III		IV		
	n	%	n	%	n	%	
G1	12	85,71%	9	81,82%	11	40,74%	p=0,007
G2, G3	2	14,29%	2	18,18%	16	59,26%	

* Dokładny test Fishera (niskie wartości oczekiwane w tabeli) testowano zależność pomiędzy stopniem aktywności mitotycznej a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Wartość p=0,007 zatem na poziomie istotności $\alpha=0,05$ należy przyjąć, że istnieje zależność pomiędzy badanymi zmiennymi.



Wyk. 35 Zależność stopnia zaawansowania klinicznego choroby nowotworowej od stopnia aktywności mitotycznej nowotworu.

6. OMÓWIENIE

Częstość występowania nowotworów neuroendokrynych wśród rasy kaukaskiej szacowana jest na 2,5 do 5 przypadków na 100000 osób [52,53,116,117]. Na przestrzeni ostatnich dekad obserwuje się znaczący wzrost rozpoznawalności tych guzów, czego jedną z potencjalnych przyczyn jest między innymi stały rozwój technik diagnostycznych. Nowotwory neuroendokryne układu pokarmowego stanowią największą grupę spośród wszystkich nowotworów neuroendokrynych, a w momencie rozpoznania od 40 do 80% pacjentów wykazuje rozsiały proces rozrostowy [26,118]. Problem zarówno zaawansowania klinicznego choroby, jak i stale wzrastającej liczby chorych na nowotwory neuroendokryne przewodu pokarmowego stanowi wyzwanie dla współczesnej medycyny.

6.1 Badana grupa

Spośród 52 chorych objętych badaniem u około 88% stwierdzono guzy o niskim i pośrednim stopniu aktywności mitotycznej, z czego większość stanowiły wysoko dojrzałe nowotwory neuroendokryne (G1). Nierównomierny rozkład w podgrupach jest spowodowany faktem, że do Kliniki Endokrynologii kierowani są chorzy celem oceny stopnia zaawansowania klinicznego i kwalifikacji do ewentualnej terapii analogami somatostatyny (co rezerwowane jest dla zmian o niższym indeksie proliferacyjnym). W przypadku stwierdzenia guzów o wysokiej aktywności mitotycznej zalecanym postępowaniem z wyboru w przypadku zmian nieresekcyjnych jest chemioterapia i stąd pacjenci ci są przede wszystkim w opiece onkologicznej. Analiza poszczególnych stopni zaawansowania klinicznego potwierdza przeważnie skąpoobjawowy przebieg procesu nowotworowego, stąd u 27 badanych chorych wykazano IV stopień zaawansowania klinicznego choroby w momencie rozpoznania, co znajduje odzwierciedlenie w danych epidemiologicznych [52]. W badanej grupie stwierdzono statystycznie istotnie wyższy grading u mężczyzn. W dostępnym piśmiennictwie nie stwierdzono podobnych obserwacji. Można sądzić, że zbliżone dane uzyskali amerykańscy badacze w analizie obejmującej największą grupę chorych na nowotwory neuroendokryne [52], w której stwierdzono, że zmiany przerzutowe guza neuroendokrynego w momencie rozpoznania częściej obecne były u mężczyzn. Ponadto stwierdzono u mężczyzn krótszy okres przeżycia. Powyższe obserwacje sugerować mogą wyższy stopień aktywności mitotycznej u mężczyzn oraz predyspozycję do szybszego rozprzestrzeniania się choroby i krótszego czasu przeżycia.

W przedstawianych badaniach własnych nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w zakresie pierwotnej lokalizacji GEP-NET u kobiet i mężczyzn, natomiast badania amerykańskie sugerują zależność pomiędzy pierwotną lokalizacją guza a płcią [52]. Guzy żołądka, wyrostka robaczkowego i kątnicy zamiennie częściej stwierdzano u kobiet, natomiast guzy dwunastnicy, trzustki, jelita cienkiego czy odbytnicy u mężczyzn.

Wyniki badań Yao i wsp., podobnie do obserwacji własnych, nie wykazały zależności między wiekiem w momencie rozpoznania a płcią. We własnej grupie badanej najczęściej stwierdzono nowotwory neuroendokrynne trzustki (16 na 52 chorych), co nie jest zgodne z ogólnie dostępnymi danymi epidemiologicznymi [52]. Przyczyny tego można wiązać z jednej strony z profilem chorych kierowanych do Kliniki Endokrynologii, a z drugiej strony dostępnością materiału histopatologicznego do badań. Jeszcze do niedawna wskazywano, że jelito cienkie jest najczęstszą lokalizacją pierwotną wśród GEP-NET [52]. Najnowsze badania wskazują, że najczęstszymi nowotworami neuroendokrynnymi układu pokarmowego są zmiany wywodzące się z żołądka [21], co można tłumaczyć wzrastającą dostępnością do endoskopowych badań górnego odcinka przewodu pokarmowego.

6.2 Metodyka oceny badań immunohistochemicznych

W pracach badaczy oceniających ekspresję receptorów somatostatynowych z użyciem technik immunohistochemicznych zarówno w nowotworach typu GEP-NET, jak i w guzach z innych lokalizacji stosowane są różne metody ich oceny. Najczęściej są to metody półilościowe, których kryteria są definiowane przez autorów na potrzeby prezentowanej pracy. Dotychczas nie ustalono uniwersalnego systemu oceny nasilenia ekspresji receptorowej w przypadku nowotworów neuroendokrynnych. W tabeli 43 przedstawiono przykłady kilku prac, w których autorzy zastosowali różnorakie metody oceny stopnia ekspresji badanych receptorów somatostatynowych.

Tab. 43 Przykłady zastosowanych sposobów oceny ekspresji SSTR metodą immunohistochemiczną.

Autor pracy oraz zastosowana skala	Metodyka oceny za pomocą zastosowanej skali
Papotti et al. [110] - + ++ +++	Wynik negatywny <25 % komórek wykazało reakcję 25-50 % komórek wykazało reakcję >50% komórek wykazało reakcję
Volante et al. [119] 0 1 2 3	- w pracy tej badano jedynie SSTR2a brak reakcji reakcja tylko cytoplazmatyczna miejscowa lub rozlana reakcja błonowa niepełna <50% komórek reakcja błonowa pełna >50% komórek
Corleto et al. [120] 0 + ++ +++	- badania SSTR2a i SSTR5 brak reakcji łagodnie pozytywna reakcja umiarkowanie pozytywna reakcja intensywna reakcja
Miederer et al. [121] 0 1+ 2+ 3+	- badania SSTR2a ujemna reakcja łagodna niepełna reakcja błonowa umiarkowana pełna reakcja błonowa silna pełna reakcja błonowa
Pisarek H [122] +/- + ++ +++	śladowy odczyn słaby odczyn umiarkowany odczyn intensywny odczyn
Zamora et al. [123] negatywna miejsc. pozytywna pozytywna	brak ekspresji receptorowej <25% pozytywnych komórek z heterogenną reakcją >25% pozytywnych komórek z umiarkowaną/silną intensywnością reakcji
Sclafanil et al. [124] 1+ 2+ 3+	- badania SSTR2a i SSTR5 (pozytywna reakcja >5% komórek) -słabe zabarwienie, słabo widoczne przy małym powiększeniu -średnie zabarwienie, widoczne przy małym powiększeniu -silne zabarwienie, łatwo widoczne przy małym powiększeniu
Körner et al. [125] Mehta et al. [126] 0 1+ 2+ 3+ 4+	- badania SSTR2a - badania SSTR2a i SSTR5 brak reakcji słabe zabarwienie, <10% komórek umiarkowane zabarwienie umiarkowane rozlane zabarwienie do silnego, włączając zabarwienie obwodowe intensywne rozlane zabarwienie, włączając zabarwienie obwodowe

Brak jednolitych kryteriów oceny powoduje duże trudności w porównywaniu wyników badań. Podjęto próby adaptacji różnych skal obecnych w praktyce onkologicznej na

potrzeby ewaluacji ekspresji receptorów somatostatynowych. Jednym z przykładów jest skala IRS, pierwotnie użyta w celu oceny ekspresji receptora estrogenowego w raku piersi [127], która poddana została modyfikacji i poza oceną intensywności reakcji barwnej, ocenia również procentowość pozytywnych reakcji komórkowych [114,128]. Drugą skalą, którą zaadoptowano w pracach badawczych dotyczących występowania receptorów somatostatynowych jest skala Her2 wprowadzona w 1999 roku przez Dako (DakoCytomation), która służy ocenie ekspresji białka herceptyny na komórkach raka piersi za pomocą tzw. HercepTestu. Oparta jest ona na czterostopniowej skali, na którą składają się nasilenie reakcji barwnej oraz procentowa ilość komórek uczestnicząca w reakcji immunohistochemicznej. Trzecią skalą, która używana była w kilku pracach oceniających ekspresję receptorów somatostatynowych, jest tzw. skala H (H score - hormonal receptor score) [129,130]. Wynik punktowy tej skali stanowi skomplikowany wzór matematyczny zawierający również stopień nasilenia reakcji barwnej oraz procentową ilość komórek podlegających barwieniu. W pracy Specht i wsp [129] podjęto próbę porównania wyników badań immunohistochemicznych za pomocą wszystkich trzech skal oraz oceny korelacji z wynikiem RT-PCR. Najlepszą korelację pomiędzy skalą immunohistochemiczną a metodami molekularnymi RT-PCR uzyskano dla skali IRS. Ponadto przeprowadzono bezpośrednie porównanie wszystkich trzech skal immunohistochemicznych, które wykazało istotną zbieżność wyników, z czego największą korelację wyników zaobserwowano pomiędzy skalą IRS a HER2/neu. Z kolei w pracy Kaemmerer i wsp [131] wykazano istotną statystycznie korelację pomiędzy nasileniem reakcji immunohistochemicznej w skali IRS SSTR2a a SUV max ⁶⁸Ga-DOTA-NOC PET/CT, czego nie wykazano w stosunku do skali Her2/neu. Ze wszystkich trzech opisanych powyżej skal IRS wydaje się być najbardziej przydatna i praktyczna. Pozwala ona połączyć skalę nasilenia reakcji z procentowym udziałem pozytywnych reakcji komórkowych i nadać w klasyfikacji punktowej odpowiednią ocenę nasilenia reakcji. Z uwagi na fakt, że SSTR2a jest opisywany jako jedyny, który połączony jest z błoną komórkową, niezwykle trudno jest za pomocą skali Her2/neu scharakteryzować nasilenie reakcji w stosunku do pozostałych podtypów receptora [129]. Analiza dostępnych w piśmiennictwie danych sugerują zasadność przeprowadzania analiz ekspresji poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego za pomocą jednej z opisywanych skal, z których IRS wydaje się najbardziej przydatna, stąd zastosowano ją w badaniach własnych.

6.3 Ekspresja SSTR w badanych guzach

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano jednoczesną ekspresję różnych podtypów SSTR zarówno w nowotworach neuroendokrynych przewodu pokarmowego jak i trzustki. Podobne obserwacje poczynili wcześniej także inni autorzy [110,123,132,133,134]. Najczęściej stwierdzanym podtypem receptora jest SSTR2a, co potwierdza wcześniejsze obserwacje [110,119,123,135,136,137]. W niektórych doniesieniach wykazano najczęstsze występowanie SSTR1 i SSTR5 [138] lub samego SSTR1 [139,140].

W badaniach wskazujących na dominację podtypu 1 i 5 oceną objęto nie tylko guzy neuroendokryne przewodu pokarmowego, trzustki oraz zmiany o charakterze przerzutowym w wątrobie guzów o nieznanym punkcie wyjścia, ale także zmiany o innej lokalizacji pierwotnej jak płuca i grasica.

W badanej grupie analiza ekspresji poszczególnych podtypów SSTR wykazała najczęściej SSTR2a (84,6%), a następnie SSTR5 (69,2%), SSTR2b (65,3%), SSTR1 (59,6%) oraz SSTR3 (53,8%). W dostępnym piśmiennictwie podobnie najwyższą częstość ekspresji SSTR2a i SSTR5, stosując inną metodologię, opisał Zamora i wsp.[123]. Jednak w pracy tej nie oceniano ekspresji SSTR2b, natomiast badano ekspresję SSTR4, który okazał się najrzadziej spotykanym podtypem. W innych badaniach [137], oceną objęto SSTR2b, a szczegółowe wyniki były następujące: SSTR2a (61,8%), SSTR2b (48,6%), SSTR1 (39,4%), SSTR3 (38%), SSTR5 (37,8%) oraz SSTR4 (15,4%). Należy jednak brać pod uwagę, że w badaniach tych opublikowanych w 2011 roku zastosowano skalę oceny SSTR zaproponowaną przez Volante w 2007 roku [119] oraz użyto klasyfikacji guzów neuroendokrynych WHO z 2000 roku. W badaniach tych [119], na materiale 107 nowotworów neuroendokrynych układu pokarmowego, płuc, zmian przerzutowych w węzłach chłonnych i wątroby, raka rdzeniastego tarczycy oraz guzów neuroendokrynych grasicy, przysadki mózgowej, zwojów autonomicznych, oceniano głównie podtyp SSTR2a oraz SSTR3 i SSTR5. Uzyskane wyniki przedstawiały się następująco: w przypadku guzów dobrze zróżnicowanych SSTR2a 79%, SSTR5 71%, SSTR3 44%, a w przypadku niskozróżnicowanych raków neuroendokrynych odpowiednio 44%, 28% i 17%. W pracy tej wykazano wysoką zgodność wyników ekspresji SSTR2a z wynikami scyntygrafii z użyciem ¹¹¹Ind-DTPA0-oktreotydu. Ponadto oceniano efekt zastosowania oktreotydu LAR (*long acting release* - przedłużone uwalnianie) w podgrupie 28 chorych, u których zaobserwowano wysoką 75% zgodność między ekspresją SSTR2a a odpowiedzią na leczenie analogiem somatostatyny. Badania te wskazują, że SSTR2a jest głównym podtypem receptora wiązanego przez często stosowany w diagnostyce i terapii analog somatostatyny.

W pracach, w których podobnie jak w badaniach własnych, zastosowano skalę oceny IRS stwierdzono najczęstsze występowanie SSTR2a i SSTR3 (84%), a znacznie rzadsze SSTR1 i SSTR5 (32%) [131]. W pracy tej nie badano SSTR2b, natomiast zwraca uwagę wysoka częstość występowania SSTR4, którego ekspresja w innych opracowaniach wykazywana jest najrzadziej [147]. Analiza tych badań sugeruję, że oceną objęto materiał uzyskany zarówno ze zmiany pierwotnej jak i zmian przerzutowych, jednak nie analizowano ewentualnych różnic w ekspresji SSTR pomiędzy zmianą pierwotną a przerzutową. Zwraca uwagę zbieżność wyników pomiędzy obu pracami jeśli chodzi o ekspresję poszczególnych SSTR z najwyższą punktacją w klasyfikacji IRS (IRS 3). W obu pracach nie odnotowano żadnego wyniku pozytywnej silnej reakcji w przypadku SSTR1, a największą grupę stanowiły SSTR2a. Z kolei w badaniach niemieckich najwyższą punktację uzyskano także w niektórych przypadkach SSTR3, czego nie obserwowano w badaniach własnych. Przyczyną tych rozbieżności mogą być różnice zarówno w wykonanej ilości badań, jak i pochodzeniu materiału. Dokładniejsza interpretacja wymagałaby dalszych badań.

6.4 Ekspresja SSTR a stopień aktywności mitotycznej (grading)

W oparciu o uzyskane dane analizie poddano zależności pomiędzy stopniem aktywności mitotycznej a częstością pozytywnych reakcji immunohistochemicznych w klasyfikacji IRS dla poszczególnych podtypów SSTR. Istotnie statystyczną ujemną zależność pomiędzy gradingiem a ekspresją SSTR stwierdzono dla SSTR1, SSTR2a, SSTR2b i SSTR5. Podobną ujemną zależność wykazano także pomiędzy stopniem aktywności mitotycznej a stopniem intensywności reakcji immunohistochemicznej w skali IRS poszczególnych SSTR. Im wyższa aktywność mitotyczna, tym mniejsza intensywność reakcji wykazana została wobec wszystkich podtypów receptora za wyjątkiem SSTR3.

Obecności SSTR1 nie stwierdzono w ogóle ekspresji receptorowej w nowotworach G3, natomiast w pozostałych nowotworach (G1 i G2) odnotowano jedynie słabą pozytywną ekspresję (1 w klasyfikacji IRS) niezależnie od umiejscowienia pierwotnego.

Analiza występowania SSTR2a wykazuje najczęstszą ekspresję w nowotworach wysoko dojrzałych o niskiej aktywności mitotycznej (96,88%). Najczęściej obserwowano umiarkowaną ekspresję (IRS2), natomiast w przypadku nowotworów G3 stwierdzano jedynie słabą reakcję lub brak ekspresji.

Dla SSTR2b nie wykazano ekspresji w guzach G3, natomiast w pozostałych guzach stwierdzono jedynie umiarkowaną lub słabą intensywność reakcji.

SSTR3 jest jedynym podtypem, dla którego nie wykazano zależności pomiędzy stopniem aktywności mitotycznej nowotworu a ekspresją tego podtypu receptora. Cecha ta mogłaby wskazywać na zasadność doboru analogów somatostatyny o preferencyjnym powinowactwie wobec tego podtypu receptora w przypadku guzów o niższym stopniu dojrzałości histologicznej. Potencjalna użyteczność mogłaby mieć miejsce zarówno w diagnostyce obrazowej (scyntygrafia receptorowa, PET z użyciem analogów somatostatyny), gdzie guzy o wyższym indeksie proliferacyjnym Ki67 mogą dawać wyniki fałszywie ujemne, jak i w przypadku leczenia z użyciem zarówno zimnych i gorących analogów somatostatyny. Obserwacja ta wymaga dalszej analizy i weryfikacji w oparciu o większy materiał.

Obecności SSTR5 nie stwierdzono w żadnym nowotworze G3, natomiast ekspresja zbliżona była w przypadku guzów G1 i G2. Obserwacja ta uzasadnia stosowanie obecnie dostępnych SSA w diagnostyce i terapii guzów G1 i G2.

Analizując ekspresję SSTR w zależności do aktywności mitotycznej nowotworów, wykazano, że nowotwory dobrze zróżnicowane, wolno dzielące się cechowały się bardziej nasiloną ekspresją SSTR w porównaniu do nowotworów o wysokim indeksie mitotycznym, co zgodne jest z wynikami innych badań [119,123,140,141]. Jedyny wyjątek stanowi SSTR5, dla którego w badaniach własnych wykazano minimalnie wyższy odsetek pozytywnych reakcji w grupie G2 wobec G1 (odpowiednio 78,57% i 78,12%). W badaniach Zamora i wsp. [123] wykazano wyższy odsetek reakcji pozytywnych w przypadku nowotworów niskozróżnicowanych. Z kolei w pracy Yerci i wsp. [142], stwierdzono zależność pomiędzy ekspresją SSTR, a stopniem aktywności mitotycznej dla SSTR5 przy jej braku dla SSTR2. Podkreślić należy, że w pracy tej analizowano jedynie SSTR2 i SSTR5 przy zastosowaniu identycznej półilościowej oceny nasilenia ekspresji SSTR, jak Zamora i wsp [123]. Doniesienia badaczy japońskich w oparciu o wyniki badań z zastosowaniem zarówno metod immunohistochemicznych jak i biologii molekularnej (RT-PCR) nie wykazują różnic pomiędzy ekspresją poszczególnych podtypów SSTR z grupy G1 i G2, a rakami neuroendokrynnymi o szybkim podziale mitotycznym [139]. W piśmiennictwie dostępne są doniesienia wskazujące na lepsze rokowanie w przypadku guzów neuroendokrynnych wykazujących ekspresję SSTR2 i SSTR5 [143], co można tłumaczyć tym, że zmiany o niższym indeksie mitotycznym Ki67 charakteryzują się lepszym zróżnicowaniem histologicznym i przeważnie większą ekspresją tych receptorów.

Wobec różnorodności metod oceny ekspresji receptorowej indywidualnie przyjmowanych przez autorów prac brak jest możliwości pełnej analizy porównawczej tych wyników. Konfrontując wyniki własnych badań z danymi z piśmiennictwa, gdzie zastosowano skalę IRS [144], stwierdzono podobnie ujemną zależność pomiędzy stopniem

aktywności mitotycznej, a nasileniem ekspresji receptorowej. Im wyższy indeks Ki67, tym obserwowano mniejsze nasilenie reakcji barwnej w skali IRS. W badaniach Kaemmerera i wsp., w których nie stwierdzono istotności statystycznej tej zależności, oceniano wyłącznie obecność SSTR2a oraz stosowano królicze przeciwciała monoklonalne. Badania własne, w których stosowano królicze przeciwciała poliklonalne, dotyczyły wszystkich podtypów SSTR za wyjątkiem SSTR4, a analiza wyników badań wykazała istotną statystycznie ujemną zależność pomiędzy gradingiem a nasileniem ekspresji dla wszystkich podtypów za wyjątkiem SSTR3.

W badaniach własnych stwierdzono całkowity brak ekspresji jakiegokolwiek podtypu SSTR jedynie w 2 przypadkach nowotworów trzustki i żołądka o wysokim indeksem proliferacyjnym Ki67 odpowiednio 30% i 50%. Podobne obserwacje braku reakcji dla różnych podtypów SSTR odnotowali również inni autorzy [110,123]. Obserwację taką tłumaczyć można szybkim podziałem komórkowym i niskim zróżnicowaniem strukturalnym, związanym ze stopniową utratą charakterystycznych cech komórki w tym obecności SSTR. W materiale własnym w przypadku G3 wykazano, choć słabą (IRS 1), ekspresję podtypu SSTR2a w 3 przypadkach zmian z żołądka oraz zmian przerzutowych w wątrobie o nieznanym punkcie wyjścia, co może zależeć od indeksu mitotycznego bliskiego dolnej granicy dla tej grupy (wartość indeksu proliferacyjnego Ki67 odpowiednio 22%, 25% i 30%). Z kolei dość zaskakujący wydaje się fakt wykazania ekspresji SSTR2a, choć o małej intensywności ekspresji (IRS 1), w badanym jednym przypadku zmiany wywodzącej się z jelita cienkiego o bardzo wysokim indeksie mitotycznym (Ki67 90%). W oparciu o większość dostępnych w piśmiennictwie analiz spodziewać należałoby się tutaj, że tak szybki podział komórkowy, skutkować będzie całkowitą utratą receptorów. Istnieją jednak doniesienia Kaemmerer i wsp., że w przypadku guzów o wysokim indeksie mitotycznym nie odnotowano w żadnym przypadku całkowitego braku SSTR [145].

6.5 Ekspresja SSTR a lokalizacja pierwotna guza

W badanym materiale nie stwierdzono zależności pomiędzy pozytywną reakcją poszczególnych podtypów receptora a lokalizacją pierwotną nowotworu. W przypadku analizy rozkładu poszczególnych receptorów wobec lokalizacji pierwotnej nowotworu neuroendokrynnego zwraca uwagę wysoki odsetek wszystkich podtypów receptora w przypadku dwunastnicy. W guzach zlokalizowanych w obrębie wyrostka robaczkowego obecność SSTR5 wykazano we wszystkich przypadkach, natomiast tylko w części materiału ekspresję SSTR1, SSTR2a, SSTR2b oraz SSTR3. Porównanie tych wyników do danych

innych autorów jest trudne, gdyż niewiele jest prac uwzględniających dokładną lokalizację zmian w obrębie przewodu pokarmowego. Dane prezentowane są najczęściej zbiorczo, a jedynie w charakterystyce badanej grupy można znaleźć informacje o pochodzeniu narządowym materiału lub też wyniki badań są prezentowane w oparciu o inny podział guzów w neuroendokrynych, co utrudnia dokładną analizę porównawczą. Powyższe obserwacje należy traktować bardzo ostrożnie ze względu na małą liczebność badanej grupy. Planowane jest w przyszłości rozszerzenie badań i weryfikację obserwacji w oparciu o większy materiał.

6.6 Ekspresja SSTR a zaawansowanie kliniczne choroby

W przeprowadzonych badaniach własnych nie wykazano zależności pomiędzy ekspresją poszczególnych podtypów SSTR w zmianie pierwotnej a stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Dostępny materiał nie pozwalał na analizę porównawczą ekspresji SSTR ogniska pierwotnego i zależnych od niego zmianach przerzutowych.

Planowane jest w przyszłości rozszerzenie badań występowania poszczególnych podtypów SSTR równocześnie w ogniskach pierwotnych i przerzutowych. Nieliczne doniesienia sugerują brak różnic w ekspresji SSTR pomiędzy zmianami pierwotnymi a przerzutowymi nowotworów neuroendokrynych [110].

Analiza ekspresji SSTR wobec wielkości zmiany pierwotnej (cecha T) nie wykazała różnic w występowaniu badanych podtypów receptora. Częściowo zależec to może od zbieżności oceny zaawansowania klinicznego w stopniach I-IIIa z wielkością zmiany pierwotnej. Wyższe stopnie zaawansowania choroby nie wiążą się z taką zależnością. Zarówno stopień IIIB, czyli zajęcie węzłów chłonnych, jak i stopień IV (obecność przerzutów odległych), nie zależy od wielkości zmiany pierwotnej. W badanym materiale większość przypadków stanowiły nowotwory z grupy G1 i G2, więc zmiany o względnie wolnym tempie rozwoju, co sprawia, że dzielące się komórki mogą nadal tworzyć charakterystyczne cechy strukturalne, jakimi są między innymi SSTR.

6.7 Ekspresja SSTR w guzach przewodu pokarmowego i trzustki.

W przeprowadzonych badaniach własnych nie stwierdzono różnic w ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy guzami z przewodu pokarmowego, a zmianami wywodzącymi się z trzustki. Podobne obserwacje opublikował Papotti i wsp [110], natomiast w badaniach Zamora i wsp [123] odnotowano mniejsze nasilenie ekspresji SSTR w przypadku zmian wywodzących się z trzustki z wyjątkiem SSTR 3. W badanej grupie nie analizowano statusu hormonalnego pacjentów z GEP-NET, jednak w dostępnym piśmiennictwie istnieją

doniesienia wskazujące na większe nasilenie ekspresji SSTR w nowotworach trzustki hormonalnie czynnych [143]. Z kolei inne doniesienia mówią, że pośród czynnych hormonalnie nowotworów neuroendokrynych trzustki, słabszą ekspresję SSTR wykazują guzy typu insulinoma [146]. Kaemmerer i wsp. [144] porównywali ekspresję SSTR2a w guzach trzustki metodą immunohistochemiczną z oceną w skali IRS z danymi uzyskanymi metodą biologii molekularnej (RT-PCR) oraz wynikami badań obrazowych (^{68}Ga -DOTA-TOC PET/CT, ^{68}Ga -DOTA-NOC PET/CT, ^{68}Ga -DOTA-TATE PET/CT). Wykazano, że zarówno PCR jak i techniki immunohistochemiczne są porównywalnymi metodami oceny ekspresji SSTR. Ponadto nie wykazano istotności statystycznej w wartości SUV_{max} pomiędzy zmianami pierwotnymi, a przerzutowymi, ale wartości tego parametru różniły się między sobą zgodnie z wynikami ekspresji w skali IRS SSTR2a. Ponadto w publikacji tej wykazano istotną statystycznie różnicę w ekspresji receptora SSTR2a pomiędzy zmianami pierwotnymi a przerzutowymi. Wyższą punktację w skali IRS zanotowano w przypadku zmian pierwotnych. W badaniach własnych nie stwierdzono takiej zależności: częstość występowania reakcji pozytywnej poszczególnych SSTR nie różniła się istotnie statystycznie między zmianami z przewodu pokarmowego i trzustki. Dokładna analiza porównawcza nie jest jednak możliwa gdyż autorzy cytowanej wyżej pracy badali 17 preparatów zmian pierwotnych z trzustki oraz 22 próbek zmian przerzutowych, które przyjęto jako zmiany wtórne do ogniska pierwotnego w trzustce. W niniejszej pracy badano zmiany przerzutowe nowotworu o nieznannej lokalizacji pierwotnej.

6.8 Ekspresja SSTR: znana lokalizacja pierwotna guza a zmiana przerzutowa o nieznanym punkcie wyjścia nowotworu.

W badaniach własnych nie wykazano różnicy ani w zakresie występowania poszczególnych podtypów SSTR jak i nasilenia ich ekspresji pomiędzy guzami o znanej lokalizacji pierwotnej, a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia nowotworu. W momencie rozpoznania lokalizacja pierwotna nie jest możliwa do określenia u 9-13% pacjentów z rozpoznaniem GEP-NET [26,148]. Analizy szwedzkich naukowców wskazują, że najczęstszym organem zajęтым przez przerzuty jest wątroba, a najczęstszym źródłem tych zmian jest jelito cienkie [148]. Jako badania mogące ułatwić lokalizację ogniska pierwotnego sugeruje się: badanie czynników transkrypcyjnych (CDX-2, Islet-1, TTF-1) [149], badania obrazowe wykorzystujące techniki medycyny nuklearnej [150,151], badania endoskopowe górnego i dolnego odcinka przewodu pokarmowego, endoskopia kapsułowa [152], czy też badania endosonograficzne. Stosowanie różnych technik diagnostycznych nie daje jednak

pewności znalezienia ogniska pierwotnego - badania irańskie wskazują, że w 11 % lokalizacja pierwotna nadal pozostaje nieznana [153]. Identyfikacja pierwotnej lokalizacji nowotworu jest o tyle istotna, że pacjenci ze zmianami przerzutowymi o nieznannej lokalizacji cechują się gorszym rokowaniem, jeśli chodzi o przeżycie (średnio 11 miesięcy) w porównaniu do pacjentów z rozsianym procesem nowotworowym o znanym punkcie wyjścia (średnio 19 miesięcy) [148]. Określenie lokalizacji ogniska pierwotnego pozwala na podjęcie próby usunięcia zmiany pierwotnej lub redukcji zmiany nieresekcyjnej nawet w przypadku rozsianej choroby nowotworowej. Jeśli lokalizacja ogniska pierwotnego pozostaje nieznana, decyzje, co do dalszego postępowania powinny uwzględniać aktywność mitotyczną w materiale z biopsji, weryfikację aktywności hormonalnej, ocenę stopnia zajęcia wątroby przez zmiany przerzutowe i weryfikację ekspresji receptorów somatostatynowych [26].

6.9 Stopień aktywności mitotycznej a stopień zaawansowania klinicznego choroby

Analiza zależności stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu oraz stopnia zaawansowania klinicznego choroby wykazała istotność statystyczną: większemu zaawansowaniu choroby towarzyszył wyższy stopień aktywności mitotycznej. Szybkość podziału komórkowego nowotworu istotnie wpływa zarówno na rozrost zmiany pierwotnej, jak i na częstość oraz szybkość pojawiania się zmian przerzutowych zarówno w węzłach chłonnych, jak i w narządach odległych. Zmiany najbardziej agresywne, szybko dzielące się, związane są ze stwierdzeniem zaawansowanego procesu rozrostowego już w momencie rozpoznania choroby. W badaniach Panzuto i wsp. wykazano, że indeks proliferacyjny Ki67 jest niezależnym czynnikiem ryzyka progresji choroby nowotworowej w przypadku nowotworów neuroendokrynnych układu przewodu pokarmowego [154].

6.10 Punktacja skali IRS

W dostępnym piśmiennictwie, w którym analizowano ekspresję SSTR w oparciu o skalę IRS stwierdza się rozbieżności dotyczące oceny występowania receptorów w porównaniu do badań własnych. W pracach innych autorów wynik pozytywny przedstawiany jest dopiero od 2 punktów w klasyfikacji IRS czyli od „reakcja pozytywna, umiarkowana ekspresja”. Taka nomenklatura wprowadza chaos informacyjny, gdyż idąc tym tropem, konieczne byłoby traktowanie opisu punktu 1, czyli „reakcja pozytywna, słaba ekspresja” jako wynik negatywny. Chcąc uniknąć analizy części reakcji pozytywnych jako negatywne, zdecydowano o przedstawieniu wyników w formie takiej, jak stanowi opis poszczególnych punktów klasyfikacji IRS: punktacja 0 - reakcja negatywna, punktacja 1-3: reakcja

pozytywna, z podziałem następnie odpowiednio na „słaba ekspresja”, „umiarkowana ekspresja” i „silna ekspresja”. Wobec powyższych rozbieżności nie jest możliwa dokładna analiza porównawcza wyników badań własnych z wynikami innych autorów.

6.11 Kontrowersje związane z SSTR2b

W dostępnej literaturze istnieją rozbieżności dotyczące występowania SSTR2b w ludzkich tkankach. Część doniesień wskazuje, że jedynie podtyp 2a występuje u ludzi [131,155]. Z kolei autorzy innych prac, w których analizowano ekspresję SSTR wskazują na obecność SSTR2b u ludzi [89,137,147,156,157,158,159]. Diakatou i wsp. wykazali, że w SSTR2b był drugim najczęściej występującym podtypem zaraz za SSTR2a, który w większości prac wykazywany jest jako najczęściej występujący [137]. Analiza występowania receptorów somatostatynowych w prawidłowej tkance ludzkiej wykazała obecność SSTR2b między innymi w śliniankach, dnie żołądka, gruczołach dwunastniczych Brunnera, komórkach układu żółciowego [147]. W pracy polskich naukowców badających ekspresję SSTR między innymi w nowotworach neuroendokrynych płuc, grasicy, rakowiaka jelita cienkiego czy zmianach przerzutowych w wątrobie wykazano obecność SSTR2b w 2 na 15 analizowanych tkanek (13,3%), natomiast w żadnym przypadku nie wykazano SSTR4 [138]. W badaniach tych użyto te same komercyjnie dostępne przeciwciała, które zastosowano w przedstawionych badaniach własnych (SS-860). Wyniki własnych badań w oparciu o komercyjnie dostępne przeciwciała przeciwko ludzkiemu SSTR2b oraz SSTR2a, jak i wyniki powyżej cytowanych prac [89,137,147,156,157,158,159] wskazują na obecność obu izoform SSTR2 w nowotworach neuroendokrynych u ludzi.

6.12 Omówienie SSTR4

W pracy nie badano SSTR4 z powodu niedostępności na etapie wykonywania oznaczeń, odczynników do przeprowadzenia reakcji immunohistochemicznej dla tego podtypu receptora. Może być to związane z faktem, że SSTR4 jest do tej pory najmniej poznany, jak i najrzadziej występującym podtypem SSTR [138,155,160,161,162]. Aktualnie dostępne i stosowane analogi somatostatyny charakteryzują się najmniejszym powinowactwem do SSTR4 [163]. Obserwacja ta pozwala sądzić, że podtyp ten ma najmniejsze znaczenie w praktyce klinicznej.

6.13 Analiza hormonalna

W pracy nie przeprowadzono analizy hormonalnej, gdyż jedynie u dwóch chorych wykazano kliniczne cechy zespołu rakowiaka potwierdzone badaniami laboratoryjnymi (podwyższone stężeniem serotoniny oraz kwasu 5-hydroksyindolooctowego w dobowej zbiorce moczu). Daje to ograniczone możliwości zastosowania analiz statystycznych. W pozostałych przypadkach nie wykazano klinicznych cech nadmiernego stężenia hormonów lub amin biologicznie czynnych, stąd potraktowano wszystkie przypadki jako nieczynne hormonalnie. Planowane jest kontynuacja badań w zakresie ekspresji SSTR u chorych z wykładnikami czynności hormonalnej guzów neuroendokrynych.

6.14 Lokalizacja komórkowa SSTR

Wyniki oceny lokalizacji poszczególnych podtypów SSTR na poziomie komórkowym są rozbieżne. Sugeruje się występowanie SSTR2 tylko w położeniu błonowym [110, 134]. Z kolei inne prace wskazują zarówno na lokalizację błonową jak i cytoplazmatyczną SSTR2a [146,147]. W przedstawionych badaniach własnych w większości przypadków ekspresji SSTR2a stwierdzano lokalizację błonową, przy czym stopień zajęcia błony komórkowej przez receptor w reakcji barwnej był różny, od punktowej zmiany do zajęcia pełnego obwodu komórki. Ocena stopnia nasilenia reakcji na przykład za pomocą skali zaproponowanej przez Volante i wsp. [119] pomimo wykazanej dobrej korelacji z badaniami scyntygraficznymi w mojej opinii jest trudna i nie daje gwarancji należytej powtarzalności.

6.15 Nowe metody oznaczeń SSTR za pomocą technik immunohistochemicznych

Zastosowanie uniwersalnych sposobów oceny ekspresji SSTR, jakim mogłoby stać się IRS, ma jednak swoje ograniczenia związane z subiektywnością metody, co może wpływać na ocenę końcową i porównywanie wyników badań. W celu obiektywizacji wyników podjęto próby weryfikacji metod manualnych oraz automatycznych oceny ekspresji SSTR [164]. Metoda zaproponowana przez niemieckich naukowców wydaje się być ciekawa i może po szeregu kolejnych badań i modyfikacji metodologii pozwoli stworzyć standard oceny ekspresji receptorowej z pomocą programów komputerowych. Mogłoby to istotnie wpłynąć na możliwości obiektywnego porównania wyników badań.

Podsumowując, należy podkreślić, że konieczne są dalsze badania nad oceną zależności pomiędzy ekspresją SSTR, w szczególność SSTR2 i SSTR5, a przebiegiem choroby. Wydaje się, że ocena ekspresji SSTR powinna być wprowadzona do rutynowej

oceny histologicznej nowotworów neuroendokrynych i uwzględniana w wyborze dalszego postępowania. Poszerzenie wiedzy na temat ekspresji SSTR nie tylko w guzach neuroendokrynych, ale i w różnych tkankach i zespołach chorobowych może ułatwiać określenie nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Równolegle prowadzone badania nad syntezą związków o szerokim powinowactwie do różnych podtypów SSTR mają na celu uzyskanie skuteczniejszych metod diagnostycznych i terapeutycznych, czego przykładem może być na przykład 177Lu/68Ga-DOTA-AM3[165]. Jest to nowy radiopeptyd wykazujący wysokie powinowactwo do wszystkich 5 podtypów SSTR, co potencjalnie może czynić go doskonałym narzędziem w diagnostyce scyntygraficznej [166].

Wprowadzenie w 2010 roku klasyfikacji WHO nowotworów neuroendokrynych pozwoliło na uporządkowanie nomenklatury tych guzów oraz dość przejrzyste ich pogrupowanie. Ograniczeniem tej klasyfikacji jest podział nowotworów ze względu na aktywność mitotyczną na trzy grupy o dość nierównym zakresie wartości indeksu proliferacyjnego Ki67. W grupie NET G1 znajdują się nowotwory o indeksie mitotycznym do 2%, a więc guzy o stosunkowo homogenym zróżnicowaniu. Do kolejnej grupy (G2) należą nowotwory z indeksem proliferacyjnym od 3 do 20 %, co wiąże się z możliwością dużych rozbieżności w ekspresji SSTR. Postuluje się wprowadzenie zmian w tej grupie z wydzieleniem podgrup, lecz brak dotychczas konsensusu w tym zakresie. Grupę G3 stanowią najbardziej agresywne formy nowotworów o wysokim potencjale podziału komórkowego oraz największym rozrzucie wartości indeksu proliferacyjnego Ki67 (21-100%). Z tego powodu przebieg kliniczny guzów tej grupy może być bardzo zmienny i wymagać różnych strategii dalszego postępowania. Niektóre guzy z grupy G3, ale o względnie niskim jeszcze indeksie proliferacyjnym mogą wykazywać ekspresję SSTR, co uzasadnia rozważanie ewentualnej diagnostyki i terapii z zastosowaniem analogów somatostatyny. W przypadku tej grupy wydaje się być uzasadnione wprowadzenie także podgrup, które mogłyby ułatwić podejmowanie odpowiednich decyzji klinicznych. Istnieją doniesienia sugerujące, że stwierdzenie wartości indeksu proliferacyjnego Ki67 powyżej 55% powinno łączyć się ze wskazaniami do chemioterapii [118]. Obserwacja ta wymaga dalszych badań.

Analiza własnych wyników wskazuje kierunki dalszych badań, które na etapie przeprowadzania pracy nie były możliwe do zrealizowania. Szczególnie interesującą wydaje się być analiza ekspresji poszczególnych SSTR w nowotworach hormonalnie czynnych. Uzasadniona wydaje się także być analiza porównawcza ekspresji SSTR pomiędzy ogniskiem pierwotnym i jego przerzutami. Kolejnym ważnym celem dalszych badań jest ocena ekspresji SSTR in vitro dla wyboru metod diagnostyki in vivo i określenia planu terapeutycznego.

Ewaluacja wyników mogłaby dać odpowiedź na pytanie, jaki wpływ na wynik badania obrazowego ma obecność innych podtypów receptora poza SSTR2 i SSTR5, na których aktualnie w większości przypadków oparta jest diagnostyka. Niezwykle istotna dla dalszego poznania możliwości terapeutycznych tych nowotworów jest skonfrontowanie wyników ekspresji SSTR z danymi dotyczącymi odpowiedzi na leczenie zarówno „zimnymi” SSA, jak i terapii radioizotopowej. Z uwagi na stały postęp w badaniach dotyczących nowych ligandów dla SSTR, ocena występowania tych receptorów mogłaby pozwolić w przyszłości na optymalizowanie terapii. Opracowanie nowych związków: peptydowych i niepeptydowych SSA, selektywnych wobec poszczególnych podtypów SSTR agonistów, chimerycznych analogów lub też związków o szerokim powinowactwie do wszystkich podtypów SSTR mogłoby w istotny sposób polepszyć diagnostykę i terapię nowotworów neuroendokrynych. Analiza występowania SSTR powinna dotyczyć każdego pacjenta niezależnie od możliwości i efektów leczenia chirurgicznego.

Pomimo poszukiwania nowych leków o różnym mechanizmie działania (na przykład inhibitory szlaku m-Tor czy inhibitory angiogenezy) dla terapii nowotworów neuroendokrynych nie zastępują one SSA, a wykazują często działanie komplementarne. Rola SSA pozostaje nadal bardzo istotna i stąd poszerzanie wiedzy na temat receptorów somatostatynowych jest bardzo cenne.

7. WNIOSKI

1. Ekspresja receptorów somatostatynowych oceniana metodą immunohistochemiczną stwierdzana jest w większości przypadków nowotworów neuroendokrynnych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych. Poszczególne podtypy receptora występują często jednocześnie w obrębie guza choć o różnym nasileniu ekspresji.
2. Guzy neuroendokrynnne żołądkowo-jelitowo-trzustkowe charakteryzują się obecnością receptorów somatostatynowych, pośród których podtyp 2a jest najczęściej występującym podtypem tego receptora.
3. Istnieje zależność pomiędzy ekspresją receptorów somatostatynowych, a stopniem aktywności mitotycznej w przypadku podtypu 1, podtypu 2a, podtypu 2b i podtypu 5.
4. Stopień nasilenia ekspresji poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego nie jest związany z lokalizacją pierwotną nowotworu.
5. Ekspresja receptorów somatostatynowych w guzach neuroendokrynnych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych nie jest zależna od wielkości zmiany pierwotnej oraz stopnia zaawansowania klinicznego.
6. Nie ma różnic w ekspresji receptorów somatostatynowych pomiędzy nowotworami neuroendokrynnymi przewodu pokarmowego a trzustki.
7. Brak różnic w ekspresji receptorów somatostatynowych w guzach neuroendokrynnych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych pomiędzy ogniskami pierwotnymi i zmianami przerzutowymi nowotworów o nieznanym punkcie wyjścia.

8. STRESZCZENIE

Guzy neuroendokryne stanowią grupę nowotworów rozpoznawanych z roku na rok coraz częściej. W momencie stwierdzenia często proces chorobowy jest już zaawansowany. Cechą charakterystyczną guzów neuroendokrynych jest obecność receptorów somatostatynowych, co daje możliwość zastosowania analogów somatostatyny zarówno w diagnostyce, jak i terapii. Wyniki dotychczasowych badań ekspresji poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego są niejednoznaczne, co wynika z różnych stosowanych metod oznaczeń, odmiennymi metodologiami oceny ekspresji oraz niejednorodnym materiałem.

Celem pracy była badanie ekspresji poszczególnych podtypów receptorów somatostatynowych (SSTR1, SSTR2a, SSTR2b, SSTR3 i SSTR5) metodą immunohistochemiczną. Analizowano zależność między wynikami oznaczeń ekspresji a stopniem dojrzałości histologicznej guzów, lokalizacją pierwotną nowotworów, wielkością zmiany pierwotnej oraz stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Dokonano analizy występowania poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego w nowotworach wywodzących się z przewodu pokarmowego i trzustki. Oceniano ekspresję receptorów somatostatynowych w zmianach o znanej lokalizacji pierwotnej oraz ogniskach przerzutowych w wątrobie o nieznannej lokalizacji pierwotnej nowotworu. Stwierdzono jednoczesną obecność różnych podtypów receptorów somatostatynowych w większości przypadków nowotworów neuroendokrynych. Wyniki badań wskazują na zależność pomiędzy stopniem dojrzałości histologicznej nowotworu a ekspresją SSTR1, SSTR2a, SSTR2b i SSTR5. Nie wykazano zależności pomiędzy nasileniem ekspresji poszczególnych SSTR, a lokalizacją pierwotną nowotworu, wielkością guza oraz stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Badania nie wykazały różnic w ekspresji receptorów pomiędzy nowotworami neuroendokrynymi przewodu pokarmowego i trzustki. Nie obserwowano także różnic w ekspresji receptorów somatostatynowych pomiędzy guzami o znanej lokalizacji pierwotnej a ogniskami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia nowotworu. Z uwagi na zarówno aktualnie wykorzystywane w diagnostyce i terapii analogi somatostatyny, jak i kierunki badań nad nowymi związkami wykazującymi powinowactwo do receptorów somatostatynowych, ocena obecności tych receptorów może mieć istotny wpływ na wybór postępowania diagnostyczno-terapeutycznego.

9. ABSTRACT

Incidence of neuroendocrine tumors is rising every year. Proliferative disease is seen very often at the time of diagnosis. A characteristic feature of neuroendocrine tumors is the presence of somatostatin receptors, which enables the use of somatostatin analogs in diagnostics and therapy. The results of previous studies of somatostatin receptors expression are ambiguous, which are related with different methods of marking, a different methodology of evaluation of receptors expression and examination of tumors from different locations. The evaluation of the expression of particular somatostatin receptor subtypes (SSTR1, SSTR2a, SSTR2b, SSTR3 and SSTR5) by immunohistochemistry was done in this dissertation. Then, an analysis based on the results of receptor expression according to the histological grade of tumors, origin of the tumors, tumors' size and the staging was performed. In addition, a comparative analysis of particular somatostatin receptor subtypes between tumors of the gastrointestinal tract and pancreas was done. Comparison of somatostatin receptors expression between the lesions of the known primary location and metastatic foci in the liver of the unknown origin was also performed. Simultaneous presence of somatostatin receptors in the most cases of neuroendocrine tumors was demonstrated. The existence of a relationship between grading and the expression of studied somatostatin receptor subtypes, except SSTR3, was found. No relationships between the expression of SSTR and the location of the tumor, tumor's size and staging were noticed. No differences in the receptors expression pattern between neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and pancreas were found. There were also no differences in the expression of somatostatin receptors between tumors of known origin and metastases of unknown origin in the liver noticed. Due to different affinity to SSTR of both somatostatin analogues and new compounds used in the diagnostics and therapy of these tumors, the examination of these receptors may have a significant impact on clinical decisions.

10. PIŚMIENICTWO

1. Kloppel G, Perren A, Heitz PU. The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors: the WHO classification. *Ann NY Acad Sci.* 2004; 1014: 13-27.
2. Langhans T. Über einen Drüsen polyp im Ileum. *Virchow Arch Pathol Anat.* 1867;38:550-560.
3. Lubarsch O: Über den primären Krebs des Ileum, nebst Bemerkungen über das gleichzeitige Vorkommen von Krebs und Tuberkulose. *Virchow Archiv Pathol Anatom Physiol Klin Med.* 1867; 111: 280-317.
4. Ransom W: A case of primary carcinoma of the ileum. *Lancet.* 1890; 2: 1020-1023.
5. Oberndorfer S. Karzinoide Tumoren des Dünndarms. *Frankf Zschr Pathol.* 1907; 1:416-432.
6. Biörck G, Axen O, Thorson A. Unusual cyanosis in a boy with congenital pulmonary stenosis and tricuspid insufficiency. Fatal outcome after angiocardigraphy. *Am Heart J.* 1952; 44: 143-148.
7. Lembeck F. 5-hydroksytryptamine in a carcinoid tumor. *Nature.* 1953; 172: 910-911.
8. Moertel CG, Sauer WG, Dockerty MB, Baggenstoss AH. Life history of the carcinoid tumor of the small intestine. *Cancer.* 1961; 14: 901-912.
9. Williams ED, Sandler M. The classification of carcinoid tumours. *Lancet.* 1963. 1(7275): 238-239.
10. Reubi JC, Rivier J, Perrin M, Brown M, Vale W. Specific high affinity binding sites for somatostatin-28 on pancreatic beta-cells: differences with brain somatostatin receptors. *Endocrinology.* 1982; 110: 1049-1051.
11. Bauer W, Briner U, Doepfner W, Halber R, Huguenin R, Marbach P, Petcher TJ, Pless J. SMS201-995: A very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci* 1982; 31: 1133-1140.
12. Lamberts SWJ, Krenning EP, Reubi J-C. The role of somatostatin and its analogs in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocr Rev* 1991; 12: 450-482.
13. Lamberts SWJ, Van Der Lely AJ, de Herder WW. Drug therapy: Octreotide. *N Engl J Med* 1996; 334: 246-254.
14. Krenning EP, Bakker WH, Breeman WA, Koper JW, Kooij PP, Ausema L, Lameris JS, Reubi JC, Lamberts SW. Localisation of endocrine-related tumours with radioiodinated analogue of somatostatin. *Lancet.* 1989;1(8632):242-244.
15. Krenning EP, Kooij PP, Bakker WH, Breeman WA, Postema PT, Kwekkeboom DJ, Oei HY, de Jong M, Visser TJ, Reijs AE, et al. Radiotherapy with a radiolabeled somatostatin analogue, [¹¹¹In-DTPA-D-Phe¹]-octreotide. A case history. *Ann N Y Acad Sci.* 1994; 733:496-506.
16. Boerlin V, van der Hoek J, Beglinger Ch, Poon KW, Hartmann S, Dutreix C, Kovarik JM, Bruns Ch, Weckbecker G, Lewis I, Schnieper P, Hofland LJ, Lamberts SW. New insights on SOM230, a universal somatostatin receptor ligand. *J Endocrinol Invest.* 2003;26(8 Suppl):14-16.
17. Solcia E, Kloppel G, Sobin LH. Histological typing of endocrine tumours, 2nd edn. World Health Organization International Histological Classification of Tumours. 2000; Springer-Verlag, Heidelberg.
18. Rindi G, de Herder WW, O'Toole D et al. Consensus guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine tumors: Why such guidelines and how we went about it. *Neuroendocrinology.* 2006; 84: 155-157.
19. Ramage JK, Goretzki PE, Manfredi R et al. Consensus guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine tumours: well differentiated colon and rectum tumour/carcinoma. *Neuroendocrinology.* 2008; 87: 31-39.

20. Kloppel G, Couvelard A, Perren A et al. ENETS Consensus guidelines for the standards of care in neuroendocrine tumors: towards standardized approach to the diagnosis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours and their prognostic stratification. *Neuroendocrinology*. 2009; 90(2):162-6.
21. Delle Fave G, O'Toole D, Sundin A, Taal B, Ferolla P, Ramage JK, Ferone D, Ito T, Weber W, Zheng-Pei Z, De Herder WW, Pascher A, Ruszniewski P; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines Update for Gastroduodenal Neuroendocrine Neoplasms. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):119-24.
22. Niederle B, Pape UF, Costa F, Gross D, Kelestimur F, Knigge U, Öberg K, Pavel M, Perren A, Toumpanakis C, O'Connor J, O'Toole D, Krenning E, Reed N, Kianmanesh R; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines Update for Neuroendocrine Neoplasms of the Jejunum and Ileum. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):125-38.
23. Falconi M, Eriksson B, Kaltsas G, Bartsch DK, Capdevila J, Caplin M, Kos-Kudla B, Kwekkeboom D, Rindi G, Klöppel G, Reed N, Kianmanesh R, Jensen RT; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Patients with Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors and Non-Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):153-71.
24. Garcia-Carbonero R, Sorbye H, Baudin E, Raymond E, Wiedenmann B, Niederle B, Sedlackova E, Toumpanakis C, Anlauf M, Cwikla JB, Caplin M, O'Toole D, Perren A; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines for High-Grade Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors and Neuroendocrine Carcinomas. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):186-94.
25. O'Toole D, Kianmanesh R, Caplin M. ENETS 2016 Consensus Guidelines for the Management of Patients with Digestive Neuroendocrine Tumors: An Update. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):117-8.
26. Pavel M, O'Toole D, Costa F, Capdevila J, Gross D, Kianmanesh R, Krenning E, Knigge U, Salazar R, Pape UF, Öberg K; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Distant Metastatic Disease of Intestinal, Pancreatic, Bronchial Neuroendocrine Neoplasms (NEN) and NEN of Unknown Primary Site. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):172-85.
27. Pape UF, Niederle B, Costa F, Gross D, Kelestimur F, Kianmanesh R, Knigge U, Öberg K, Pavel M, Perren A, Toumpanakis C, O'Connor J, Krenning E, Reed N, O'Toole D; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines for Neuroendocrine Neoplasms of the Appendix (Excluding Goblet Cell Carcinomas). *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):144-52.
28. Ramage JK, De Herder WW, Delle Fave G, Ferolla P, Ferone D, Ito T, Ruszniewski P, Sundin A, Weber W, Zheng-Pei Z, Taal B, Pascher A; Vienna Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines Update for Colorectal Neuroendocrine Neoplasms. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):139-43.
29. Rindi G, Kloppel G, Alhman H et al. TNM staging of foregut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a trading system. *Virchows Arch*. 2006; 449: 395-401.
30. Rindi G, Kloppel G, Couvelard A et al. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a trading system. *Virchows Arch*. 2007; 451: 757-762.
31. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. *AJCC Cancer Staging Manual*. New York, Springer, 2010.
32. Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C. *TNM Classification of Malignant Tumours*. ed 7. Bognor Regis, Wiley-Blackwell, 2009.

33. Kloppel G, Rindi G, Perren A, Komminoth P, Klimstra DS. The ENETS and AJCC/UICC TNM classifications of the neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and the pancreas: a statement. *Virchows Arch* 2010; 456: 595-597.
34. Kos-Kudła B, Bolanowski M, Handkiewicz-Junak D et al. Zalecenia diagnostyczno-lecznicze w guzach neuroendokrynych układu pokarmowego (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynologia Polska* 2008; 59: 41-106.
35. Kos-Kudła B, Blicharz-Dorniak J, Handkiewicz-Junak D, Jarzab B, Jarzab M, Kunikowska J, Kuśnierz K, Król R, Królicki L, Krzakowski M, Nasierowska-Guttmejer A, Nowakowska-Duława E, Patkowski W, Szawłowski AW. Zalecenia ogólne dotyczące postępowania w nowotworach neuroendokrynych układu pokarmowego (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynol Pol.* 2013;64(6):418-43.
36. Rydzewska G, Cichocki A, Ćwikła JB, Foltyn W, Hubalewska-Dydejczyk A, Kamiński G, Lewczuk A, Nasierowska-Guttmejer A, Nowakowska-Duława E, Pilch-Kowalczyk J, Sowa-Staszczak A, Kos-Kudła B. Nowotwory neuroendokryne żołądka i dwunastnicy z uwzględnieniem gastrinoma — zasady postępowania (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynol Pol.* 2013;64(6):444-58.
37. Kos-Kudła B, Hubalewska-Dydejczyk A, Kuśnierz K, Lampe P, Marek B, Nasierowska-Guttmejer A, Nowakowska-Duława E, Pilch-Kowalczyk J, Sowa-Staszczak A, Rosiek V; Nowotwory neuroendokryne trzustki — zasady postępowania (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynol Pol.* 2013;64(6):459-79.
38. Bolanowski M, Bednarczuk T, Bobek-Billewicz B, Handkiewicz-Junak D, Jeziorski A, Nowakowska-Duława E, Steinhof-Radwańska K, Zajęcki W, Zemczak A, Kos-Kudła B. Nowotwory neuroendokryne jelita cienkiego i wyrostka robaczkowego — zasady postępowania (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynol Pol.* 2013;64(6):480-93.
39. Starzyńska T, Deptała A, Królicki L, Kunikowska J, Londzin-Olesik M, Nasierowska-Guttmejer A, Ruchała M, Strzelczyk J, Szawłowski A, Zgliczyński W, Kos-Kudła B. Nowotwory neuroendokryne jelita grubego — zasady postępowania (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynol Pol.* 2013;64(6):494-504.
40. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Thiese ND (red). WHO Classification of Tumours of the Digestive System. IARC, Lyon 2010: 13-14.
41. Nasierowska-Guttmejer A. Nowa klasyfikacja NET. *Oncorewiew.* 2011; 1: 41-48.
42. Schimmack S, Svejda B, Lawrence B, Kidd M, Modlin IM. The diversity and commonalities of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Langenbecks Arch Surg.* 2011; 396: 273-298.
43. Maru DM, Khurana H, Rashid A, Correa AM, Anandasabapathy S, Krishnan S, Komaki R, Ajani JA, Swisher SG, Hofstetter WL. Retrospective study of clinicopathologic features and prognosis of high-grade neuroendocrine carcinoma of the esophagus. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32(9):1404-1411.
44. Niederle MB, Hackl M, Kaserer K, Niederle B. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: the current incidence and staging based on the WHO and European Neuroendocrine Tumour Society classification: an analysis based on prospectively collected parameters. *Endocr Relat Cancer.* 2010;17(4):909-918.

45. Norton JA, Melcher ML, Gibril F, Jensen RT. Gastric carcinoid tumors in multiple endocrine neoplasia-1 patients with Zollinger-Ellison syndrome can be symptomatic, demonstrate aggressive growth, and require surgical treatment. *Surgery*. 2004;136(6):1267-74
46. Scherübl H, Cadiot G, Jensen RT, Rösch T, Stölzel U, Klöppel G. Neuroendocrine tumors of the stomach (gastric carcinoids) are on the rise: small tumors, small problems? *Endoscopy*. 2010;42(8):664-671.
47. Delle Fave G, Kwakkeboom DJ, Van Cutsem E, Rindi G, Kos-Kudla B, Knigge U, Sasano H, Tomassetti P, Salazar R, Ruzsniwski P; Barcelona Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with gastroduodenal neoplasms. *Neuroendocrinology*. 2012;95(2):74-87.
48. Soga J. Endocrinocarcinomas (carcinoids and their variants) of the duodenum. An evaluation of 927 cases. *J Exp Clin Cancer Res*. 2003;22:349-63.
49. Hoffmann KM, Furukawa M, Jensen RT. Duodenal neuroendocrine tumors: Classification, functional syndromes, diagnosis and medical treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005;19(5):675-97.
50. Ellis L, Shale MJ, Coleman MP. Carcinoid tumors of the gastrointestinal tract: trends in incidence in England since 1971. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(12):2563-2569.
51. Ito T, Sasano H, Tanaka M, Osamura RY, Sasaki I, Kimura W, Takano K, Obara T, Ishibashi M, Nakao K, Doi R, Shimatsu A, Nishida T, Komoto I, Hirata Y, Nakamura K, Igarashi H, Jensen RT, Wiedenmann B, Imamura M. Epidemiological study of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors in Japan. *J Gastroenterol*. 2010;45(2):234-43.
52. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after „carcinoid”: epidemiology and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol*. 2008; 26(18):3063-72.
53. Hauso O, Gustafsson BI, Kidd M et al. Neuroendocrine tumor epidemiology: contrasting Norway and North America. *Cancer*. 2008; 97(4): 934-959.
54. Landerholm K, Falkmer S, Järhult J. Epidemiology of small bowel carcinoids in a defined population. *World J Surg*. 2010 Jul;34(7):1500-1505.
55. Jann H, Roll S, Couvelard A, Hentic O, Pavel M, Müller-Nordhorn J, Koch M, Röcken C, Rindi G, Ruzsniwski P, Wiedenmann B, Pape UF. Neuroendocrine tumors of midgut and hindgut origin: tumor-node-metastasis classification determines clinical outcome. *Cancer*. 2011;117(15):3332-3341.
56. Barclay T, Schapira D. Malignant tumors of the small intestine. *Cancer*. 1983; 51:878-881
57. Lepage C, Bouvier AM, Manfredi S, Dancourt V, Faivre J. Incidence and management of primary malignant small bowel cancers: a well-defined French population study. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(12):2826-2832.
58. Stinner B, Kisker O, Zielke A, Rothmund M. Surgical management for carcinoid tumors of small bowel, appendix, colon, and rectum. *World J Surg*. 1996;20(2):183-188.
59. Pape UF, Perren A, Niederle B, Gross D, Gress T, Costa F, Arnold R, Denecke T, Plöckinger U, Salazar R, Grossman A; Barcelona Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with neuroendocrine neoplasms from the jejunum-ileum and the appendix including goblet cell carcinomas. *Neuroendocrinology*. 2012;95(2):135-156
60. Stinner B, Kisker O, Zielke A, Rothmund M. Surgical management for carcinoid tumors of small bowel, appendix, colon, and rectum. *World J Surg*. 1996 ;20(2):183-188.
61. Caplin M, Sundin A, Nilsson O, Baum RP, Klose KJ, Kelestimur F, Plöckinger U, Papotti M, Salazar R, Pascher A; ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine

- neoplasms: colorectal neuroendocrine neoplasms. Barcelona Consensus Conference participants. *Neuroendocrinology*. 2012;95(2):88-97.
62. Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer*. 2003;97(4):934-959.
 63. Maggard MA, O'Connell JB, Ko CY. Updated population-based review of carcinoid tumors. *Ann Surg*. 2004; 240(1):117-122.
 64. Jetmore AB, Ray JE, Gathright JB Jr, McMullen KM, Hicks TC, Timmcke AE. Rectal carcinoids: the most frequent carcinoid tumor. *Dis Colon Rectum*. 1992;35(8):717-725.
 65. Ploekinger U, Kloepfel G, Wiedenmann B, Lohmann R; representatives of 21 German NET Centers. The German NET-registry: an audit on the diagnosis and therapy of neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*. 2009;90(4):349-363.
 66. Garcia-Carbonero R, Capdevila J, Crespo-Herrero G, Díaz-Pérez JA, Martínez Del Prado MP, Alonso Orduña V, Sevilla-García I, Villabona-Artero C, Beguiristain-Gómez A, Llanos-Muñoz M, Marazuela M, Alvarez-Escola C, Castellano D, Vilar E, Jiménez-Fonseca P, Teulé A, Sastre-Valera J, Benavent-Viñuelas M, Monleon A, Salazar R. Incidence, patterns of care and prognostic factors for outcome of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NETs): results from the National Cancer Registry of Spain (RGETNE). *Ann Oncol*. 2010;21(9):1794-1803.
 67. Schimmack S, Svejda B, Lawrence B, Kidd M, Modlin IM. The diversity and commonalities of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Langenbecks Arch Surg*. 2011; 396: 273-298.
 68. Falconi M, Bartsch DK, Eriksson B, Klöppel G, Lopes JM, O'Connor JM, Salazar R, Taal BG, Vullierme MP, O'Toole D; Barcelona Consensus Conference participants. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms of the digestive system: well-differentiated pancreatic non-functioning tumors. *Neuroendocrinology*. 2012;95(2):120-134.
 69. Halfdanarson TR, Rabe KG, Rubin J, Petersen GM. Pancreatic neuroendocrine tumors (PNETs): incidence, prognosis and recent trend toward improved survival. *Ann Oncol*. 2008 ; 19(10):1727-1733.
 70. Brazeau P, Vale WW, Burgus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, Guillemin R, Hypothalamic peptide that inhibits the secretions of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973;179: 77-79.
 71. Shields D. In vitro biosynthesis of somatostatin. Evidence for two distinct preprosomatostatin molecules. *J Biol Chem*. 1980;255(24):11625-11628.
 72. Reichlin S. Somatostatin. *N Engl J Med*. 1983;309(24):1495-1501.
 73. Reichlin S. Somatostatin (second of two parts). *N Engl J Med*. 1983;309(24): 1556-1563.
 74. Johansson O, Hökfelt T, Elde RP. Immunohistochemical distribution of somatostatin-like immunoreactivity in the central nervous system of the adult rat. *Neuroscience*. 1984;13(2):265-339.
 75. Levy L, Bourdais J, Mouhieddine B, Benlot C, Villares S, Cohen P, Peillon F, Joubert D. Presence and characterization of the somatostatin precursor in normal human pituitaries and in growth hormone secreting adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(1):85-90.
 76. Hökfelt T, Efendić S, Hellerström C, Johansson O, Luft R, Arimura A. Cellular localization of somatostatin in endocrine-like cells and neurons of the rat with special references to the A1-cells of the pancreatic islets and to the hypothalamus. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*. 1975;200:5-41.
 77. Polak JM, Pearse AG, Grimelius L, Bloom SR. Growth-hormone release-inhibiting hormone in gastrointestinal and pancreatic D cells. *Lancet*. 1975 ;1(7918):1220-1222.

78. Orci L, Baetens D, Dubois MP, Rufener C. Evidence for the D-cell of the pancreas secreting somatostatin. *Horm Metab Res.* 1975;7(5):400-402.
79. Rufener C, Dubois MP, Malaisse Lagae F, Orci L. Immuno-fluorescent reactivity to anti-somatostatin in the gastro-intestinal mucosa of the dog. *Diabetologia.* 1975;11(4):321-4.
80. Pawlikowski M. Physiology of somatostatin. W: Pawlikowski M. Red. Somatostatin analogs in diagnostics and therapy. Landes Bioscience. 2007; 1-6.
81. Loos U, Raptis S, Birk J, Escobar-Jimenez F, Meyer G, Rothenbuchner G, Pfeiffer EF. Inhibition of TSH-stimulated radioiodine turnover and release of T4 and T3 in vivo by somatostatin. *Metabolism.* 1978; 27(9 Suppl 1):1269-1273.
82. Ahrén B, Ericsson M, Hedner P, Ingemansson S, Westgren U. Somatostatin inhibits thyroid hormone secretion induced by exogenous TSH in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;47(5):1156-1159.
83. Zerek-Meleń G, Lewiński A, Pawlikowski M, Sewerynek E, Kunert-Radek J. Influence of somatostatin and epidermal growth factor (EGF) on the proliferation of follicular cells in the organ-cultured rat thyroid. *Res Exp Med (Berl).* 1987;187(6):415-421.
84. Ferone D, van Hagen PM, Pivonello R, Colao A, Lamberts SW, Hofland LJ. Physiological and pathophysiological role of somatostatin receptors in the human thymus. *Eur J Endocrinol.* 2000;143 Suppl 1:S27-34
85. Ferone D, Pivonello R, Van Hagen PM, Dalm VA, Lichtenauer-Kaligis EG, Waaijers M, Van Koetsveld PM, Mooy DM, Colao A, Minuto F, Lamberts SW, Hofland LJ. Quantitative and functional expression of somatostatin receptor subtypes in human thymocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(5):E1056-66.
86. Patel YC. General aspect of the biology and function of somatostatin. In:Weil C, Muller EE, Thorner MO, Eds. *Basic and Clinical Aspects of Neuroscience.* Berlin: Springer-Verlag, 1992; Vo.4, 1-16.
87. Epelbaum J, Dournaud P, Fodor M, Viollet C. The neurobiology of somatostatin. *Crit Rev Neurobiol* 1994; 8: 25-44.
88. Reisine T, Bell GI. Molecular biology of somatostatin receptors. *Endocr Rev.* 1995;16(4):427-42.
89. Patel YC, Greenwood MT, Panetta R, Demchyshyn L, Niznik H, Srikant CB. The somatostatin receptor family. *Life Sci.* 1995;57(13):1249-65.
90. Bruno JF, Xu Y, Song J, Berelowitz M. Molecular cloning and functional expression of a brain-specific somatostatin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89(23):11151-5.
91. Yamada Y, Kagimoto S, Kubota A, Yasuda K, Masuda K, Someya Y, Ihara Y, Li Q, Imura H, Seino S, et al. Cloning, functional expression and pharmacological characterization of a fourth (hSSTR4) and a fifth (hSSTR5) human somatostatin receptor subtype. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993 Sep;195(2):844-52.
92. Reichlin S. Somatostatin. *N Engl J Med.* 1983; 309(24):1495-501.
93. Day R, Dong W, Panetta R, Kraicer J, Greenwood MT, Patel YC. Expression of mRNA for somatostatin receptor (sstr) types 2 and 5 in individual rat pituitary cells. A double labeling in situ hybridization analysis. *Endocrinology.* 1995;136(11):5232-5.
94. Kumar U, Laird D, Srikant CB, Escher E, Patel YC. Expression of the five somatostatin receptor (SSTR1-5) subtypes in rat pituitary somatotrophs: quantitative analysis by double-layer immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinology.* 1997 Oct;138(10):4473-6.
95. Csaba Z, Dournaud P. Cellular biology of somatostatin receptors. *Neuropeptides.* 2001; 35(1):1-23.

96. Patel YC, Srikant CB. Subtype selectivity of peptide analogs for all five cloned human somatostatin receptors (hsstr 1-5). *Endocrinology*. 1994;135(6):2814-2817.
97. Schindler M, Humphrey PP, Emson PC. Somatostatin receptors in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 1996; 50(1):9-47.
98. Petersenn S. W: Hormone action: basic and clinical aspects. Melmed S.(red.) Bioscientifica Ltd., Bristol. 2000; 43-61.
99. Renström E, Ding WG, Bokvist K, Rorsman P. Neurotransmitter-induced inhibition of exocytosis in insulin-secreting beta cells by activation of calcineurin. *Neuron*. 1996; 17(3):513-522.
100. White RE, Schonbrunn A, Armstrong DL. Somatostatin stimulates Ca(2+)-activated K⁺ channels through protein dephosphorylation. *Nature*. 1991 Jun 13;351(6327):570-573.
101. Florio T, Rim C, Hershberger RE, Loda M, Stork PJ. The somatostatin receptor SSTR1 is coupled to phosphotyrosine phosphatase activity in CHO-K1 cells. *Mol Endocrinol*. 1994 Oct;8(10):1289-1297.
102. Reardon DB, Wood SL, Brautigan DL, Bell GI, Dent P, Sturgill TW. Activation of a protein tyrosine phosphatase and inactivation of Raf-1 by somatostatin. *Biochem J*. 1996 ;314: 401-404.
103. Buscail L, Estève JP, Saint-Laurent N, Bertrand V, Reisine T, O'Carroll AM, Bell GI, Schally AV, Vaysse N, Susini C. Inhibition of cell proliferation by the somatostatin analogue RC-160 is mediated by somatostatin receptor subtypes SSTR2 and SSTR5 through different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92(5):1580-1584.
104. Viguierie N, Tahiri-Jouti N, Ayrat AM, Cambillau C, Scemama JL, Bastié MJ, Knuhtsen S, Estève JP, Pradayrol L, Susini C, et al. Direct inhibitory effects of a somatostatin analog, SMS 201-995, on AR4-2J cell proliferation via pertussis toxin-sensitive guanosine triphosphate-binding protein-independent mechanism. *Endocrinology*. 1989;124(2):1017-1025.
105. Sharma K, Patel YC, Srikant CB. C-terminal region of human somatostatin receptor 5 is required for induction of Rb and G1 cell cycle arrest. *Mol Endocrinol*. 1999; 13(1):82-90.
106. Sharma K, Patel YC, Srikant CB. Subtype-selective induction of wild-type p53 and apoptosis, but not cell cycle arrest, by human somatostatin receptor 3. *Mol Endocrinol*. 1996; 10(12):1688-1696.
107. Cheung NW, Boyages S.C. *Endocrinology*. 1995; 136: 4147-4181.
108. Roher S, Birzin E, Mosley E. *Science*. 1998; 282: 737-740.
109. Patel YC *J Endocrinol Invest* 1997; 20: 345-367
110. Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL, Bussolati G. Expression of somatostatin receptor types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch*. 2002 May;440(5):461-75.
111. Reubi JC. Somatostatin and other Peptide receptors as tools for tumor diagnosis and treatment. *Neuroendocrinology*. 2004;80 Suppl 1:51-6.
112. de Sá SV, Corrêa-Giannella ML, Machado MC, de Souza JJ, Pereira MA, Patzina RA, Siqueira SA, Machado MC, Giannella-Neto D. Somatostatin receptor subtype 5 (SSTR5) mRNA expression is related to histopathological features of cell proliferation in insulinomas. *Endocr Relat Cancer*. 2006;13(1):69-78.
113. Missiaglia E, Dalai I, Barbi S, Beghelli S, Falconi M, della Peruta M, Piemonti L, Capurso G, Di Florio A, delle Fave G, Pederzoli P, Croce CM, Scarpa A. Pancreatic endocrine tumors: expression profiling evidences a role for AKT-mTOR pathway. *J Clin Oncol*. 2010; 28(2):245-55.

114. Kaemmerer D, Peter L, Lupp A, Schulz S, Saenger J et al. Comparing of IRS and Her2 as immunohistochemical scoring schemes in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012; 5(3): 187–194.
115. Agresti A. *Categorical Data Analysis.* Wiley. 2002.
116. Hemminki K, Li X. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors: a nationwide epidemiologic study from Sweden. *Cancer.* 2001 Oct 15;92(8):2204-10.
117. Lepage C, Racht B, Coleman MP. Survival from malignant digestive endocrine tumors in England and Wales: a population-based study. *Gastroenterology.* 2007 Mar;132(3):899-904.
118. Merola E, Rinzivillo M, Cicchese N, Capurso G, Panzuto F, Delle Fave G. Digestive neuroendocrine neoplasms: A 2016 overview. *Dig Liver Dis.* 2016 Aug;48(8):829-35.
119. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, La Rosa S, Rapa I, Ferrero A, Mansueto G, Righi L, Garancini S, Capella C, De Rosa G, Dogliotti L, Colao A, Papotti M. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol.* 2007 Nov;20(11):1172-82
120. Corleto VD, Falconi M, Panzuto F, Milione M, De Luca O, Perri P, Cannizzaro R, Bordi C, Pederzoli P, Scarpa A, Delle Fave G. Somatostatin receptor subtypes 2 and 5 are associated with better survival in well-differentiated endocrine carcinomas. *Neuroendocrinology.* 2009;89(2):223-30
121. Miederer M, Seidl S, Buck A, Scheidhauer K, Wester HJ, Schwaiger M, Perren A. Correlation of immunohistopathological expression of somatostatin receptor 2 with standardised uptake values in 68Ga-DOTATOC PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009 Jan;36(1):48-52.
122. Pisarek H. Badanie ekspresji podtypów receptora somatostatynowego w ludzkich guzach neuroendokrynnych. *Folia Medica Lodziensia,* 2009, 36/1:5-73
123. Zamora V, Cabanne A, Salanova R, Bestani C, Domenichini E, Marmissolle F, Giacomi N, O'Connor J, Méndez G, Roca E; Buenos Aires and La Plata Argentina Argentum Working Group. Immunohistochemical expression of somatostatin receptors in digestive endocrine tumours. *Dig Liver Dis.* 2010 Mar;42(3):220-5.
124. Sciafani F, Carnaghi C, Di Tommaso L, Rodari M, Destro A, Rimassa L, Giordano L, Chiti A, Roncalli M, Santoro A. Detection of somatostatin receptor subtypes 2 and 5 by somatostatin receptor scintigraphy and immunohistochemistry: clinical implications in the diagnostic and therapeutic management of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Tumori.* 2011 Sep-Oct;97(5):620-8.
125. Körner M, Waser B, Schonbrunn A, Perren A, Reubi JC. Somatostatin receptor subtype 2A immunohistochemistry using a new monoclonal antibody selects tumors suitable for in vivo somatostatin receptor targeting. *Am J Surg Pathol.* 2012 Feb;36(2):242-52.
126. Mehta S, de Reuver PR, Gill P, Andrici J, D'Urso L, Mittal A, Pavlakis N, Clarke S, Samra JS, Gill AJ. Somatostatin Receptor SSTR-2a Expression Is a Stronger Predictor for Survival Than Ki-67 in Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Medicine (Baltimore).* 2015 Oct;94(40):e1281
127. Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe.* 1987 May;8(3):138-40.
128. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med.* 1985 Aug;109(8):716-21.

129. Specht E, Kaemmerer D, Sanger J, Wirtz RM, Schulz S, Lupp A. Comparison of immunoreactive score, HER2/neu score and H score for the immunohistochemical evaluation of somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms. *Histopathology*. 2015 Sep;67(3):368-77.
130. Lambertini C, Barzaghi-Rinaudo P, D'Amato L, Schulz S, Nuciforo P, Schmid HA. Evaluation of somatostatin receptor subtype expression in human neuroendocrine tumors using two sets of new monoclonal antibodies. *Regul Pept*. 2013 Nov 10;187:35-41.
131. Kaemmerer D, Peter L, Lupp A, Schulz S, Sanger J, Baum RP, Prasad V, Hommann M. Comparing of IRS and Her2 as immunohistochemical scoring schemes in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Int J Clin Exp Pathol*. 2012;5(3):187-94.
132. Reubi JC, Kvols LK, Waser B, Nagorney DM, Heitz PU, Charboneau JW, Reading CC, Moertel C. Detection of somatostatin receptors in surgical and percutaneous needle biopsy samples of carcinoids and islet cell carcinomas. *Cancer Res*. 1990 Sep 15;50(18):5969-77.
133. Fjallskog ML, Ludvigsen E, Stridsberg M, Oberg K, Eriksson B, Janson ET. Expression of somatostatin receptor subtypes 1 to 5 in tumor tissue and intratumoral vessels in malignant endocrine pancreatic tumors. *Med Oncol*. 2003;20(1):59-67.
134. Kulaksiz H, Eissele R, Rossler D, Schulz S, Hollt V, Cetin Y, Arnold R. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut*. 2002 Jan;50(1):52-60.
135. Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Laissue JA. Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med*. 2001 Jul;28(7):836-46. Erratum in: *Eur J Nucl Med* 2001 Sep;28(9):1433.
136. Oberg K, Kvols L, Caplin M, Delle Fave G, de Herder W, Rindi G, Ruszniewski P, Woltering EA, Wiedenmann B. Consensus report on the use of somatostatin analogs for the management of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Ann Oncol*. 2004 Jun;15(6):966-973.
137. Diakatou E, Kaltsas G, Tzivras M, Kanakis G, Papaliiodi E, Kontogeorgos G. Somatostatin and dopamine receptor profile of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: an immunohistochemical study. *Endocr Pathol*. 2011 Mar;22(1):24-30.
138. Pisarek H, Pawlikowski M, Kunert-Radek J, Kubiak R, Winczyk K. SSTR1 and SSTR5 subtypes are the dominant forms of somatostatin receptor in neuroendocrine tumors. *Folia Histochem Cytobiol*. 2010 Jan 1;48(1):142-7.
139. Mizutani G, Nakanishi Y, Watanabe N, Honma T, Obana Y, Seki T, Ohni S, Nemoto N. Expression of Somatostatin Receptor (SSTR) Subtypes (SSTR-1, 2A, 3, 4 and 5) in Neuroendocrine Tumors Using Real-time RT-PCR Method and Immunohistochemistry. *Acta Histochem Cytochem*. 2012 Jun 28;45(3):167-76.
140. Kim HS, Lee HS, Kim WH. Clinical significance of protein expression of cyclooxygenase-2 and somatostatin receptors in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer Res Treat*. 2011 Sep;43(3):181-8.
141. Srirajaskanthan R, Watkins J, Marelli L, Khan K, Caplin ME. Expression of somatostatin and dopamine 2 receptors in neuroendocrine tumours and the potential role for new biotherapies. *Neuroendocrinology*. 2009;89(3):308-314.
142. Yerci O, Sehitoglu I, Ugras N, Cubukcu E, Yuce S, Bedir R, Cure E. Somatostatin receptor 2 and 5 expressions in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors in Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(10):4377-81.

143. Song KB, Kim SC, Kim JH, Seo DW, Hong SM, Park KM, Hwang DW, Lee JH, Lee YJ. Prognostic Value of Somatostatin Receptor Subtypes in Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Pancreas*. 2016 Feb;45(2):187-92.
144. Kaemmerer D, Wirtz RM, Fischer EK, Hommann M, Sanger J, Prasad V, Specht E, Baum RP, Schulz S, Lupp A. Analysis of somatostatin receptor 2A immunohistochemistry, RT-qPCR, and in vivo PET/CT data in patients with pancreatic neuroendocrine neoplasm. *Pancreas*. 2015 May;44(4):648-54.
145. Kaemmerer D, Peter L, Lupp A, Schulz S, Sanger J, Prasad V, Kulkarni H, Haugvik SP, Hommann M, Baum RP. Molecular imaging with ⁶⁸Ga-SSTR PET/CT and correlation to immunohistochemistry of somatostatin receptors in neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011 Sep;38(9):1659-68.
146. Reubi JC. Peptide receptor expression in GEP-NET. *Virchows Arch*. 2007 Aug;451 Suppl 1:S47-50.
147. Taniyama Y, Suzuki T, Mikami Y, Moriya T, Satomi S, Sasano H. Systemic distribution of somatostatin receptor subtypes in human: an immunohistochemical study. *Endocr J*. 2005 Oct;52(5):605-11.
148. Riihimaki M, Hemminki A, Sundquist K5, Sundquist J, Hemminki K. The epidemiology of metastases in neuroendocrine tumors. *Int J Cancer*. 2016 Dec 15;139(12):2679-2686.
149. Lin X, Saad RS, Luckasevic TM, Silverman JF, Liu Y. Diagnostic value of CDX-2 and TTF-1 expressions in separating metastatic neuroendocrine neoplasms of unknown origin. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2007 Dec;15(4):407-14
150. Nakamoto Y, Sano K, Ishimori T, Ueda M, Temma T, Saji H, Togashi K. Additional information gained by positron emission tomography with (68)Ga-DOTATOC for suspected unknown primary or recurrent neuroendocrine tumors. *Ann Nucl Med*. 2015 Jul;29(6):512-8.
151. Tan TH, Lee BN, Hassan SZ. Diagnostic Value of (68)Ga-DOTATATE PET/CT in Liver Metastases of Neuroendocrine Tumours of Unknown Origin. *Nucl Med Mol Imaging*. 2014 Sep;48(3):2125.
152. Frilling A, Smith G, Clift AK, Martin J. Capsule endoscopy to detect primary tumour site in metastatic neuroendocrine tumours. *Dig Liver Dis*. 2014 Nov;46(11):1038-42.
153. Geramizadeh B, Kashkoe A, Malekhosseini SA. Liver Metastasis of Gastrointestinal Neuroendocrine Tumors: A Single Center Experience. *Hepat Mon*. 2016 Apr 30;16(5):e37293.
154. Panzuto F, Merola E, Rinzivillo M, Partelli S, Campana D, Iannicelli E, Pilozzi E, Mercantini P, Rossi M, Capurso G, Scarpa A, Cascinu S, Tomassetti P, Falconi M, Delle Fave G. Advanced digestive neuroendocrine tumors: metastatic pattern is an independent factor affecting clinical outcome. *Pancreas*. 2014 Mar;43(2):212-8
155. Cakir M, Dworakowska D, Grossman A. Somatostatin receptor biology in neuroendocrine and pituitary tumours: part 1--molecular pathways. *J Cell Mol Med*. 2010 Nov;14(11):2570-84.
156. Schulz S, Schulz S, Schmitt J, Wiborny D, Schmidt H, Olbricht S, Weise W, Roessner A, Gramsch C, Hollt V. Immunocytochemical detection of somatostatin receptors sst1, sst2A, sst2B, and sst3 in paraffin-embedded breast cancer tissue using subtype-specific antibodies. *Clin Cancer Res*. 1998 Sep;4(9):2047-52.
157. Moaen-ud-Din M, Yang LG. Evolutionary history of the somatostatin and somatostatin receptors. *J Genet*. 2009 Apr;88(1):41-53.
158. Theodoropoulou M, Stalla GK. Somatostatin receptors: from signaling to clinical practice. *Front Neuroendocrinol*. 2013 Aug;34(3):228-52.
159. Atkinson H, England JA, Rafferty A, Jesudason V, Bedford K, Karsai L, Atkin SL. Somatostatin receptor expression in thyroid disease. *Int J Exp Pathol*. 2013 Jun;94(3):226-9.

160. Reubi JC, Waser B. Concomitant expression of several peptide receptors in neuroendocrine tumours: molecular basis for in vivo multireceptor tumour targeting. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003 May;30(5):781-93.
161. Liu Q, Cescato R, Dewi DA, Rivier J, Reubi JC, Schonbrunn A. Receptor signaling and endocytosis are differentially regulated by somatostatin analogs. *Mol Pharmacol*. 2005 Jul;68(1):90-101.
162. Weckbecker G, Lewis I, Albert R, Schmid HA, Hoyer D, Bruns C. Opportunities in somatostatin research: biological, chemical and therapeutic aspects. *Nat Rev Drug Discov*. 2003 Dec;2(12):999-1017.
163. Bruns C, Lewis I, Briner U, Meno-Tetang G, Weckbecker G. SOM230: a novel somatostatin peptidomimetic with broad somatotropin release inhibiting factor (SRIF) receptor binding and a unique antisecretory profile. *Eur J Endocrinol*. 2002 May;146(5):707-16.
164. Kaemmerer D, Athellogou M, Lupp A, Lenhardt I, Schulz S, Luisa P, Hommann M, Prasad V, Binnig G, Baum RP. Somatostatin receptor immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: comparison between manual and automated evaluation. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014 Jul 15;7(8):4971-80.
165. Fani M, Mueller A, Tamma ML et al Radiolabeled bicyclic somatostatin-based analogs: a novel class of potential radiotracers for SPECT/PET of neuroendocrine tumors. *J Nucl Med* 2010; 51: 1771–1779.
166. Opalińska M, Hubalewska-Dydejczyk A, Sowa-Staszczak A, Stefańska A. NEN - the role of somatostatin receptor scintigraphy in clinical setting. *Nucl Med Rev Cent East Eur*. 2016;19(2):118-25.

11. SPIS TABEL

Tab. 1 Klasyfikacja Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) nowotworów neuroendokrynnych przewodu pokarmowego - aktualnie obowiązująca (WHO 2010) oraz wcześniejsze podziały	9
Tab. 2 Ocena stopnia dojrzałości histologicznej nowotworów neuroendokrynnych przewodu pokarmowego	10
Tab. 3 IRS - skala immunoreaktywności	27
Tab. 4 Charakterystyka badanej grupy	31
Tab. 5 Charakterystyka badanych parametrów u chorych z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnej nowotworu, stopnia aktywności mitotycznej i zaawansowania klinicznego choroby	32
Tab. 6 Rozkład procentowy poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego w zależności od stopnia intensywności reakcji w skali IRS	34
Tab. 7 Rozkład procentowy poszczególnych podtypów receptora somatostatynowego z najwyższą punktacją w skali IRS (3 punkty) w zależności od umiejscowienia pierwotnego nowotworu	34
Tab. 8 Charakterystyka badanych parametrów w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej	35
Tab. 9 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR1 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu (grading)	36
Tab. 10 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2a w zależności od stopnia aktywności mitotycznej	37
Tab. 11 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2b w zależności od stopnia aktywności mitotycznej	38
Tab. 12 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR3 w zależności od stopnia aktywności mitotycznej	39
Tab. 13 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR5 w zależności od stopnia aktywności mitotycznej	40
Tab. 14 Charakterystyka badanych parametrów w zależności od umiejscowienia pierwotnego	41
Tab. 15 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR1 w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu	43
Tab. 16 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2a w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu	44
Tab. 17 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR2b w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu	45
Tab. 18 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR3 w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu	46
Tab. 19 Charakterystyka nasilenia reakcji immunohistochemicznej w skali IRS dla SSTR5 w zależności od lokalizacji pierwotnej nowotworu	47
Tab. 20 Charakterystyka intensywności ekspresji SSTR1 w skali IRS ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej	48
Tab. 21 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2a ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej	49
Tab. 22 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2b ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej	50
Tab. 23 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR3 ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej	51
Tab. 24 Charakterystyka intensywności ekspresji w skali IRS SSTR5 ze względu na rozmiar zmiany pierwotnej	52

Tab. 25 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR1 ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.	53
Tab. 26 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2a ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.	54
Tab. 27 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2b ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.	55
Tab. 28 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR3 ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.	56
Tab. 29 Charakterystyka rozkładu intensywności ekspresji w skali IRS SSTR5 ze względu na stopień zaawansowania klinicznego choroby.	57
Tab. 30 Charakterystyka porównawcza ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.	58
Tab. 31 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR1 pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.	59
Tab. 32 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2a pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.	60
Tab. 33 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR2b pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.	61
Tab. 34 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR3 pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.	62
Tab. 35 Charakterystyka porównawcza intensywności ekspresji w skali IRS SSTR5 pomiędzy zmianami wywodzącymi się z przewodu pokarmowego oraz trzustki.	63
Tab. 36 Charakterystyka porównawcza ekspresji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.	64
Tab. 37 Charakterystyka porównawcza ekspresji SSTR1 w skali IRS pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.	65
Tab. 38 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR2a pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.	66
Tab. 39 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR2b pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.	67
Tab. 40 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR3 pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.	68
Tab. 41 Charakterystyka porównawcza ekspresji w skali IRS SSTR5 pomiędzy zmianami o znanej lokalizacji pierwotnej a zmianami przerzutowymi o nieznanym punkcie wyjścia.	69
Tab. 42 Charakterystyka zależności między stopniem aktywności mitotycznej a stopniem zaawansowania klinicznego choroby.	70
Tab. 43 Przykłady zastosowanych sposobów oceny ekspresji SSTR metodą immunohistochemiczną.	73

12. SPIS WYKRESÓW

Wyk. 1 Udział dodatniej reakcji immunohistochemicznej wykrywającej poszczególny podtyp receptora w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej (grading).....	35
Wyk. 2 Nasilenie ekspresji SSTR1 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.....	36
Wyk. 3 Nasilenie ekspresji SSTR2a w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.....	37
Wyk. 4 Nasilenie ekspresji SSTR2b w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.....	38
Wyk. 5 Nasilenie ekspresji SSTR3 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.....	39
Wyk. 6 Nasilenie ekspresji SSTR5 w zależności od stopnia dojrzałości histologicznej nowotworu.....	40
Wyk. 7 Udział dodatnich reakcji immunohistochemicznych wykrywających poszczególne podtypy receptora somatostatynowego w zależności od umiejscowienia nowotworu.....	42
Wyk. 8 Nasilenie ekspresji SSTR1 a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego	43
Wyk. 9 Nasilenie ekspresji SSTR2a a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.....	44
Wyk. 10 Nasilenie ekspresji SSTR2b a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.....	45
Wyk. 11 Nasilenie ekspresji SSTR3 a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.....	46
Wyk. 12 Nasilenie ekspresji SSTR5 a lokalizacja pierwotna nowotworu neuroendokrynnego.....	47
Wyk. 13 Udział stopnia ekspresji SSTR1 w zależności od cechy T.....	48
Wyk. 14 Udział stopnia ekspresji SSTR2a w zależności od cechy T.....	49
Wyk. 15 Udział stopnia ekspresji SSTR2b w zależności od cechy T.....	50
Wyk. 16 Udział stopnia ekspresji SSTR3 w zależności od cechy T.....	51
Wyk. 17 Udział stopnia ekspresji SSTR5 w zależności od cechy T.....	52
Wyk. 18 Udział stopnia ekspresji SSTR1 w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.....	53
Wyk. 19 Udział stopnia ekspresji SSTR2a w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.....	54
Wyk. 20 Udział stopnia ekspresji SSTR2b w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.....	55
Wyk. 21 Udział stopnia ekspresji SSTR3 w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.....	56
Wyk. 22 Udział stopnia ekspresji SSTR5 w zależności od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.....	57
Wyk. 23 Udział pozytywnych reakcji immunohistochemicznych poszczególnych podtypów SSTR w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.....	58
Wyk. 24 Intensywność ekspresji SSTR1 w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.....	59
Wyk. 25 Intensywność ekspresji SSTR2a w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.....	60
Wyk. 26 Intensywność ekspresji SSTR2b w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.....	61
Wyk. 27 Intensywność ekspresji SSTR3 w nowotworach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego i trzustki.....	62

Wyk. 28 Intensywność ekspresji SSTR5 w nowotworach neuroendokrynych przewodu pokarmowego i trzustki.....	63
Wyk. 29 Udział pozytywnych reakcji poszczególnych podtypów SSTR pomiędzy zmianami pierwotnymi a przerzutowymi.	64
Wyk. 30 Intensywność ekspresji SSTR1 pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.....	65
Wyk. 31 Intensywność ekspresji SSTR2a pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.....	66
Wyk. 32 Intensywność ekspresji SSTR2b pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.....	67
Wyk. 33 Intensywność ekspresji SSTR3 pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.....	68
Wyk. 34 Intensywność ekspresji SSTR5 pomiędzy zmianami przerzutowymi a pozostałymi zmianami.....	69
Wyk. 35 Zależność stopnia zaawansowania klinicznego choroby nowotworowej od stopnia aktywności mitotycznej nowotworu.....	70

13. SPIS RYCIN

Ryc. 1 Naciek nowotworu neuroendokrynnego pod prawidłową śluzówką żołądka (H+E, pow 100x).....	23
Ryc. 2 Nowotwór neuroendokrynnny jelita cienkiego nacieka pień nerwowy (H+E, pow 200x).....	24
Ryc. 3 Wyspa trzustkowa jako pozytywna kontrola w badaniach immunohistochemicznych (pow. 200x)	26
Ryc. 4 Odczyn immunohistochemiczny na SSTR2a w nowotworze neuroendokrynnym jelita grubego (klasyfikacja IRS-3) (pow. 200x).....	28
Ryc. 5 Odczyn immunohistochemiczny na SSTR5 w nowotworze neuroendokrynnym dwunastnicy (klasyfikacja IRS-2) (pow. 400x).....	28
Ryc. 6 Odczyn immunohistochemiczny na SSTR3 w nowotworze neuroendokrynnym trzustki (klasyfikacja IRS-1) (pow. 400x).....	29