

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Marta A. Velinović

**ODREĐIVANJE GENETIČKIH I
PROTEINSKIH BIOMARKERA U
PACIJENATA SA KARCINOIDOM BRONHA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Marta A. Velinović

**DEFINING GENETIC AND PROTEIN
BYOMARKERS IN PATIENTS WITH LUNG
CARCINOID**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018.

DEFINING GENETIC AND PROTEIN BYOMARKERS IN PATIENTS WITH LUNG CARCINOID

ABSTRACT

Purpose: Neuroendocrine tumors (NET) of the lung are heterogeneous and include typical carcinoids (TC), atypical carcinoids (AC), large cell NE carcinoma (LCNEC) and small-cell carcinoma (SCLC), all with different clinicopathological profiles and relative grades of malignancy. Although differences between carcinoids and high grade SCLC and LCNEC are recognized, precise differences and behavior of TC and AC have not been clearly defined. The aim of this study was to define in more detail the differences in the clinical behavior of TC and AC, and to establish new prognostic factors of overall survival (OS), by determining the levels of genetic expression of *IGF-1R*, *ERCC1*, *Bax*, *p53*, *Bcl2* as well as the *Bcl2/Bax* ratio.

Methods: A total of 52 surgically resected pulmonary carcinoid tumors were collected. The histopathological diagnosis was made by consensus between two experienced pathologists according to the WHO classification. Gene expressions were evaluated by quantitative Real-time PCR.

Results: The confirmed prognostic factors for OS are pTNM T ($p < 0.01$), pTNM N ($p < 0.05$), the clinical stage ($p < 0.05$), type of surgery ($p < 0.01$) and PH tumor type ($p < 0.05$). *Bcl2* mRNA level and *Bcl2/Bax* ratio were found to have a potential for discrimination the PH type of tumor (AC vs TC) with ROC cut-off values 0.1451 and 0.3015, respectively, but without confirmed statistically significant impact on OS.

Conclusion: *Bcl2* expression and *Bcl2/Bax* ratio might be valuable as independent diagnostic parameters in lung carcinoids. Therapeutic approaches using the attenuation of *Bcl2* or upregulation of *Bax* might prove useful in lung NETs. As the PH type of carcinoids (AC/TC) has an impact on the OS, research on a larger sample size could also examine the prognostic potential of *Bcl2* and *Bcl2/Bax* for OS.

Key words: *Bcl2*, *Bcl2/Bax* ratio, lung carcinoid; overall survival, prognostic factor.

Scientific area: Medicine

Specific scientific area: Pulmology

ODREĐIVANJE GENETIČKIH I PROTEINSKIH BIOMARKERA U PACIJENATA SA KARCINOIDOM BRONHA

REZIME

Cilj: Neuroendokrini tumori (NET) pluća su heterogena grupa tumora koji obuhvataju tipične karcinoide (TC), atipične karcinoide (AC), krupnoćelijske karcinome (LCNEC) i mikroćelijski karcinom pluća (SCLC). Svi ovi tumori imaju različite kliničko- patološke profile kao i različite stepene maligniteta. Iako su danas jasnije definisane razlike između karcinoida bronha i tumora visokog gradusa maligniteta poput SCLC i krupnoćelijskog carcinoma pluća; precizne razlike u biološkom ponašanju između TC i AC još uvek nisu jasno definisane. Cilj ovog ispitivanja je bio da jasnije definišu razlike u kliničkom ponašanju između TC i AC kao i da se ustanove prognostički faktori od značaja za ukupno preživljavanje. Merenjem nivoa genetskih ekspresija za *IGF-1R*, *ERCC1*, *Bax*, *p53*, *Bcl2* kao i odnosa *Bcl2/Bax* imali smo cilj da jasnije definišemo prognostičke i prediktivne faktore za karcinoide pluća.

Metode: U rad je uključeno ukupno 52 pacijenta koji su hirurški lečeni sa postavljenom dijagnozom TC ili AC. Histopatološka dijagnoza je postavljena konsezusom od strane dva iskusna patologa u skladu sa WHO klasifikacijom za ove tumore. Genske ekspresije su određivane metodom kvantitativne detekcije Real-time PCR.

Rezultati: Potvrđeni prognostički faktori za OS su pTNM T ($p < 0.01$), pTNM N ($p < 0.05$), klinički stadijum ($p < 0.05$), vrsta operacije ($p < 0,01$) i PH tip tumora ($p < 0.05$). *Bcl2* mRNA nivoi ekspresije i *Bcl2/Bax* odnos su potvrđeni kao faktori koji imaju potencijal za diskriminaciju između PH podtipa tumora (AC u odnosu na TC) sa dobijenim ROC cut-off vrednostima od 0.1451 za *Bcl2* i 0.3015 za *Bcl2/Bax* ali bez potvrđenog statističkog značaja za uticaj na OS.

Zaključak:: *Bcl2* ekspresija kao i *Bcl2/Bax* odnos mogu biti korisni kao nezavisni dijagnostički parametri kod karcinoida bronha. U budućnosti, terapijski pristupi kojima se može uticati na modifikacije apoptotičkih mehanizama sa blokiranjem *Bcl2* ili pojačanjem ekspresije *Bax* mogu se pokazati kao korisni kod plućnih NETa. Obzirom da PH tip karcinoida (AC/TC) ima uticaj na OS, dalja ispitivanja na većoj grupi pacijenata doprinela bi jasnijem definisanju prognostičkog potencijala *Bcl2* i *Bcl2/Bax* za OS.

Ključne reči: *Bcl2*, *Bcl2/Bax* odnos, karcinoidi pluća, ukupno preživljavanje, prognostički faktori.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Pulmologija

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Istorijat	1
1.2. Incidenca i epidemiologija	3
1.3. Klasifikacija	4
1.4. Patohistologija i morfološki nalaz kod TC i AC	8
1.4.1. Morfološki nalaz kod TC i AC pluća	8
1.4.2. Imunohistohemija TC i AC pluća	9
1.4.2.1. Synaptophysin	9
1.4.2.2. CD56	10
1.4.2.3. ChromograninA.....	10
1.4.2.4. Thyreoid transcription factor-1 (TTF-1)	10
1.4.2.5. Cytokeratin – AE1/AE3	10
1.4.2.6. Specifični neuroendokrini markeri	10
1.4.2.7. Proliferativni marker Ki-67	11
1.5. Topografska lokalizacija	11
1.6. Rana tumorogeneza plućnih NET-a	12
1.7. Molekularna patogeneza i prognostički faktori.....	14
1.8. Klinička slika	20
1.9. Dijagnostika karcinoida bronha	23
1.10. Stejdžing.....	27
1.11. Prognoza.....	28
1.12. Terapija	30
1.12.1. Hirurško lečenje karcinoida bronha	31
1.12.2. Terapija SSA i Bioterapija	33
1.12.3. Hemioterapija	36
1.12.4. Molekularna terapija	37
1.12.5. Radioterapija	38
1.12.6. Lečenje hepatičkih metastaza	39
2. CILJEVI.....	41
3. MATERIJAL I METODE.....	42
4. REZULTATI.....	45
4.1. Karakteristike ispitanika, simptomi i znaci bolesti	45

4.2. Operativno lečenje i stejdžing	48
4.3. Nivoi ekspresije za IGF-1R, p53, Bax, ERCC1, Bcl2, Bcl2/Bax i njihove korelacije.....	50
4.4. Diskriminativni potencijal nivoa ekspresija <i>IGF-1R, p53, Bax, ERCC1, Bcl2 i Bcl2/Bax</i>	52
4.5. Korelacije ekspresija u odnosu na kliničke parametre	54
4.5.1. IGF-1R	54
4.5.2. p53.....	54
4.5.3. ERCC 1	55
4.5.4. Bax	56
4.5.5. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na kliničke parametre (za ROC analizom dobijenu cut off vrednost 0,145 za Bcl2)	57
4.5.6. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na kliničke parameter (za ROC analizom dobijenu cut off vrednost 0,301 za Bcl2/Bax).....	63
4.6. Poređenja patohistološkog podtipa tumora (TC i AC) u odnosu na kliničke parametre	70
4.7. Prognostički faktori za ukupno preživljavanje	75
5. DISKUSIJA.....	83
6. ZAKLJUČCI.....	96
7.LITERATURA	98

1. UVOD

Neuroendokrini tumori (NET) su heterogena grupa tumora porekla ćelija difuznog neuroendokrino sistema. Ove vrste ćelija prisutne su u različitim tkivima u telu tako da NET-i mogu nastati na različitim lokalizacijama u organizmu. NET-i se najčešće javljaju u gastrointestinalnom traktu, bronhopulmonalnom sistemu i urogenitalnom traktu. Neuroendokrini sistem u organizmu čine ćelije, koje mogu biti pojedinačne ili u grupama a koje imaju sposobnosti da sintetišu veliki broj hormona, peptida ili biogenih produkata tako da tumori porekla ovih ćelija, u zavisnosti od mesta nastanka kao i karakteristika same ćelije, mogu imati različite hormonalne profile. (1,2)

Neuroendokrini tumori u plućima potiču od plućnih neuroendokrinih ćelija koje se mogu naći kao pojedinačne ili u malim klasterima kada se nazivaju neuroepitelijalna tela (3). NET-i pluća čine od 25 do 27% svih neuroendokrinih tumora, ali su u poređenju sa ostalim primarnim tumorima pluća retiki i čine samo 1% do 2% svih plućnih tumora (4,5,6). Karcinoidi bronha čine zaseban podtip NET-a pluća, i oni su u odnosu na druge tumore jedinstveni po posebnim morfološkim, ultrastrukturnim, imunohistohemijskim i molekularnim karakteristikama kako u odnosu na druge tumore pluća, tako i u odnosu na karcinoide drugih vanplućnih lokalizacija (1,2,4).

NET-i pluća se danas klasifikuju u dve grupe: dobro i slabo diferentovane NET-e. U ove dve grupe raspoređena su četiri subtipa NET-a: (1) dobro diferentovani tumori niskog malignog potencijala : *Tipični Karcinoidi* (TC); (2) dobro diferentovani tumori, intermedijarnog malignog potencijala : *Atipični Karcinoidi* (AC), (3) slabo diferentovani tumori visokog gradusa maligniteta : *Krupnoćelijski Neuroendokrini tumori* (*Large Cell - LCNET*) i (4) slabo diferentovani tumori visokog gradusa maligniteta : *Mikroćelijski karcinom pluća* (*Small Cell Lung Cancer - SCLC*)(4,7).

1.1. Istorijat

Termin *Karcinoidi* je prvi put upotrebljen 1907. godine od strane Oberndorfera (1,5). U svojim istraživanjima, u nekim tumorima creva Oberndorfer je naišao na enterohromafilne ćelije i zaključio je da su ovi tumori porekla endokrinih ćelija inerstinalne mukoze(1,8). Sugerišući maligni potencijal i manju agresivnost u odnosu na

adenokarcinome creva, a da bi ih diferencirao od adenokarcinoma, Oberndorfer ih naziva „*karcinomu slični*“ odnosno *karcinoidi* (8). U literaturi se može pronaći da se ovaj tip tumora opisuje i ranije, i to prvi put od strane Laeneca 1831. godine. Merling 1838. godine, Langhans 1867. godine i Lubarch 1888. godine takođe opisuju *karcinoide* porekla ileuma (9).

Istorijski, od samog zapažanja postojanja ovih tumora, karcinoidi su se definisali i karakterističnim histološkim bojenjem. Najznačajnije bojenje je bojenje sa srebrom (1,10). Za karcinoide je karakteristično da ili (1) *vezuju i redukuju srebro* (argentaфина reakcija) ili (2) *vezuju srebro ali bez redukcije* (argirofilna reakcija). Otkriće argentaфиних ćelija interstinalne mukoze, istraživanje njihove distribucije i porekla rezultiralo je saznanjima o postojanju difuznog neuroendokrinog sistema ćelija. U brojnim radovima Feyter je izučavao distribuciju argentaфиних ćelija i pronašao je da su one difuzno raspoređene celom dužinom digestivnog trakta i da su najčešće u Meckelovom divertikulumu, terminalnom delu ileuma i apendiksu ali se mogu naći i u svim tkivima koja su embrionalno porekla iz primitivnog creva (poput pljuvačnih žlezda, sluzokoža bronha, pankreasnih kanala, žučne kese, želuca i genitourinarnog kanala)(11). Uporedo sa distribucijom ovih ćelija otkrivena su i njihova endokrina svojstva. Od strane Erspamera (1940. god.), Rapporta (1948. god.) i nešto kasnije od strane Asera i saradnika (1952. god.) izolovan je a zatim i definisan serotonin kao važan produkt ovih ćelija (12,13). Thorson (1954 god.) prvi put opisuje karcinoidni sindrom. Brojne manifestacije ovog sindroma autor vezuje za produkciju serotonina od strane tumora, što je potvrđeno i nalazom visokih koncentracija 5-hidroksi-indolacetatne kiseline (5-HIAA) u serumu i urinu pacijenata sa ovim sindromom(14).

U nekim endokrinim ćelijama neurosekretorne granule se mogu uočiti nakon bojenja srebrom tek posle dodavanja redukcionih supstanci. Ovakve ćelije označene kao argirofilne, otkrivaju se u onim tkivima i organima koji u embrionalnom razvoju nastaju iz prednjeg dela (*foregut*) primitivnog creva. To su: bronhi, štitna žlezda, želudac, duodenum, izvodni kanali pankreasa. Većina karcinoida ovog područja ne sadrže enzim aromatična-L-aminodekarboksilaza koji katalizuje prelaz 5-hidriksitriptofana u serotonin. Zbog toga postoji argirofilija i mali sadržaj serotonina u karcinoidima ovih lokalizacija.

Na osnovu postavki o difuznoj distribuciji ćelija sa hormonskom aktivnosti, Feyter je izradio koncept perifernog endokrinog sistema ćelija. Ćelije ovog sistema je nazvao svetlim ćelijama (Helle zelle) i zaključio je da na svakom mestu gde se nalaze imaju iste morfološke karakteristike i osobine. Prvi radovi vezani za ovu vrstu ćelija i njihove endokrine karakteristike, kao i sam naziv „svetle ćelije“ vezuje se za Frohlich-a i 1949. godinu(15). U radovima Bench-a, Grilelich-a kao i Liebow-a ukazano je na vezu ovih ćelija sa karcinoidom kao i sa mikrocelularnim karcinomom bronha. Osim ovih autora i mnogi drugi, poput Warrena i Gaffey-a bave se izučavanjem ultrastrukturnih karakteristika neuroendokrinih ćelija (16,17,18).

1.2. Incidenca i epidemiologija

U poslednjih trideset godina beleži se porast incidence neuroendokrinih tumora, tako da i karcinoide bronha danas srećemo mnogo češće u kliničkoj praksi. Prema bazi podataka Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) u SAD, koja sadrži podatke o 20436 NET-a, od 1973. do 2004. godine, ustanovljeno je da su karcinoidi činili 0,66% od svih maligniteta za taj period, a da se incidenca povećavala sa stopom 3-10% godišnje u zavisnosti od podtipa tumora, tako da je sa 0,3 slučaja na 100 000 u 1973. godini porasla na 1,35 slučajeva na 100 000 u 2004. godini (2,19). U korelaciji sa podacima iz SAD i epidemiološke analize u Evropi, unazad dvadeset godina ukazuju na povećanje incidence plućnih neuroendokrinih tumora, naročito TC (6,20). Incidenca karcinoida i u Evropi je približno sa 0,2 na 100 000 godišnje(21) u poređenju sa 1994. godinom, kada su NET činili oko 0,75% svih neoplazmi, rasla, tako da je 2004. godine i u Evropi objavljeno da NET-i čine 1,25% svih maligniteta (6,19). Danas i u Evropi i SAD, karcinoidi imaju incidencu od 0,2 do 2/100 000/ godišnje sa porastom incidence oko 6% godišnje nevezano za pridružene demografske faktore. Kao rezultat povećanja incidence, ovi tumori danas predstavljaju značajan klinički problem. Takođe je primećeno i da se incidence između različitih NET-a razlikuju, pa tako u poređenju sa porastom incidence dobro diferentovanih NET-a, u poslednjih dvadeset godina, beleži se stalan pad incidence SCLC (6).

Povećanja ukupne incidence NET-a delimično se može objasniti i napredovanjem i uvođenjem novih senzitivnih dijagnostičkih metoda i protokola koji se primenjuju, ali i rezultatom povećanog interesovanja kliničara za ovaj tip tumora.

Iako su raniji podaci ukazivali da se TC se javljaju tri do četiri puta češće od AC, danas se smatra da je odnos TC :AC oko 8-10:1 , što danas AC čini najređim NET-ima pluća. Postoji podjednaka distribucija između polova za ove dve vrste tumora, mada je primećeno da u grupi mlađih pacijenata sa TC žene dvostruko češće oboljevaju (21,22). Samo kod manjeg broja pacijenata sa TC postoji udruženost sa pušenjem, i to najčešće sa manjim brojem paklo- godina. Iako su slabo diferentovani NET-i pluća (SCLC na primer) jasno povezani sa pušenjem ne postoji jasna veza između nastanka dobro diferentovanih NET-a sa pušenjem tako da obe vrste karcinoida (TC i AC) često nastaju kod nepušača (23).

Iako se najčešće javljaju sporadično, kod oko 5% pacijenata bronhijalni karcinoidi mogu biti deo familijarnog sindroma kada su udruženi sa MEN tip1 sindromom (familijarno autozomalno-dominantan sindrom koji karakteriše udruženost postojanja tumora hipofize, pankreasa, paratireoidne žlezde i neuroendokrinih tumora porekla prednjeg dela primitivnog creva)(24). Izuzetno retko udruženi su sa von Hippel-Lindau sindromom i neurofibromatozom (24,25).

1.3. Klasifikacija

U klasifikaciji NET-a pluća, u prošlosti je korišćena različita terminologija, koja se menjala u zavisnosti od dinamičnih saznanja vezanih za biologiju ovih tumora (26). Ranije korišćena klasifikacija karcinoida, bazirana na embrionalnom poreklu obuhvatala je podelu na: (1) *foregut* karcinoide (pluća, timus, želudac, pankreas i duodenum), (2) *midgut* (od duodenuma ipod Tretzovog ligamenta do proksimalnog transverzalnog kolona) i (3) *hindgut* karcinoide (distalni kolon i rektum)(5,26). Danas se ova klasifikacija smatra arhaičnom, mada se u određenim slučajevima pominje (na primer pri histološkim i molekularnim analizama).

Radovi Trivisa i Arrigonija kao i drugih autora doveli su i do današnje klasifikacije i koncepta NET-a (26,27,28). 2000. godine Svetska Zdravstvena Organizacija (WHO) prihvatila je klasifikaciju baziranu na karakteristikama samog tumora kada je za celu grupu ovih tumora uveden pojam *Neuroendokrini tumori* (NET), a grupa NET-a pluća je podeljena na: (1) dobro diferentovane NET-e koji uključuju : tipične karcinoide (TC) i atipične karcinoide (AC) i (2) slabo diferentovane neuroendokrine tumore u koje spadaju

LCNEC (krupnoćelijski karcinom, *Large Cell Neuroendokrini Karcinom*) i SCLC (*Small Cell Lung Carcinoma* - mikroćelijski karcinom)(29,30). Ova klasifikacija je bazirana na veličini tumora , proliferativnoj stopi, lokalizaciji, diferencijaciji i hormonskim produktima. U ovoj klasifikaciji termin *karcinoid* je korišćen kao sinonim za dobro diferentovane NET-e. Tabela 1.

Tabela 1. 1999-2000 SZO Kriterijumi za dijagnostiku Neuroendokrinih tumora

Tip Tumora	Kriterijumi
Tipični karcinoid	Morfologija karcinoida, do 2 mitoze/2mm ² (10 HPF), Bez nekroze i veličine 0,5cm ili veći
Atipičan karcinoid	Morfologija karcinoida, ≥2 do 10 mitoz/2mm ² (10 HPF), Sa nekrozom.
Large Cell NET	Neuroendokrini morfologija, (organoidna gnezda, palisadne rozete, trabekule), Visok mitotski indeks ≥ 10/2mm ² , Nekroza (često velike zone), karakteristike NSCLC, Pozitivno imunohistohemijsko bojenje na jedan ili više neuroendokrinih markera i / ili neuroendokrine granule viđene elektronskim mikroskopom.
Mikroćelijski karcinom	Mala veličina ćelija, oskudna citoplazma, Jedro: sitno granuliran nuklearni hromatin, nedostatak nukleolusa ili mali nukleolus, Visok mitotski indeks, >11 mitoz/2mm ² (10 HPF), Česte nekroze, često i u velikim zonama.

HPF – high power field.

Modifikacijom histoloških kriterijuma za dijagnostiku bronhijalnih karcinoida koja je predložena od strane Trivisa i kolega, 2004. godine WHO klasifikacijom plućnih tumora

definisani su i WHO dijagnostički kriterijumi za tipični karcinoid : tumor sa karcinoidnom morfologijom i manje od 2 mitoze/2mm² (10 HPH), bez nekroze i veličine 0,5cm ili veći. Atipični karcinoid je tada definisan kao tumor karcinoidne morfologije sa 2-10 mitozama/2mm² i /ili nekrozom(30,31). Tabela 2

Tabela 2. Dijagnostički kriterijumi za Tipičan i Atipičan karcinoid (WHO 2004)

Tipičan karcinoid	Karcinoidna morfologija tumora sa manje od 2 mitoze na 2mm ² i bez nekroze,
Atipičan karcinoid	Karcinoidna morfologija tumora sa 2 do 10 mitozama na 2mm ² i /ili fokusima nekroze.

2004 WHO klasifikacija neuroendokrinih tumora je histološka klasifikacija koju čine četiri subtipa tumora: tipični karcinoid (NET niskog stepena maligniteta), atipični karcinoid (NET srednjeg stepena maligniteta). Ova klasifikacija TC i AC svrstava u bronhijalne karcinoide. Druga dva subtipa NET tumora visokog stepena maligniteta čine : krupnoćelijski neuroendokrini karcinom (Large Cell -LCNEC) i mikroćelijski karcinom pluća (SCLC) (30,31). U ovoj klasifikaciji definisane su i neuroendokrine lezije koje čine čitav spektar , sa jedne strane od hiperplastičnih neuroendokrinih ćelijskih lezija : tumorleta i difuzne neuroendokrine ćelijske hiperplazije (DIPNECH), pa sve do neuroendokrinih tumora visokog stepena maligniteta poput Large cell neuroendokrinih karcinoma i mikroćelijskog karcinoma sa neuroendokrinom diferencijacijom. Duž ovog spektra tipični karcinoidi (TC) i atipični karcinoidni tumori (AC) se smatraju tumorima niskog i srednjeg stepena maligniteta. Neuroendokrini (NE) hiperplazija se definiše kao proliferacija neuroendokrinih ćelija, koje mogu biti u obliku pojedinačnih ćelija ili ćelijskih klastera u bronhijalnom epitelu. U najvećem broju slučajeva NE hiperplazija se javlja kao slučajan nalaz na okolnom tkivu ne vezano za postojanje karcinoida bronha kod postojanja različitih inflamatornih ili fibroznih promena poput bronhiektazija, fibroznih promena na plućima sa postojanjem ground glass intersticijskih promena ili hroničnog apscesa ili tuberkuloze. Ukoliko je NE promena nodularna i manja od 0,5cm

ona se naziva tumorletom i karakteristično nema mitozu, oblasti nekroze i ima nizak Ki-67 indeks. Najčešće se detektuje slučajno na CT-u kao subsantimetarski nodul u plućima. DIPNECH je izuzetno redak nalaz i predstavlja rasprostranjenu NE ćelijsku hiperplaziju na disajnim putevima sa pojavom multiplih tumorleta. Ona se smatra preinvazivnom lezijom i povezana je sa povišenim rizikom od nastanka TC i AC. DIPNECH se može javiti i u obliku intersticijalne plućne bolesti sa pratećom fibrozom pluća. Postoje dva oblika manifestacije DIPNECH-a: kao blagi oblik intersticijalne bolesti pluća i kao oblik sa pojavom plućnih nodula, često udruženih sa drugim tumorima.

LCNEC je specifičan tumor koji iskazuje imunohistohemijske karakteristike i morfološke osobine NE tumora visokog gradusa maligniteta kao i karakteristike SCLC(31,32). SCLC je veoma čest tumor pluća i ima zasebne epidemiološke, patološke i kliničke karakteristike.

Izmene WHO klasifikacije iz 2015 godine daju dijagnostičke kriterijume za plućne NET-e bazirajući se na histopatološkim karakteristikama (ćelijska veličina, morfološke karakteristike ćelije, mitotski indeks, arhitektonski način rasta i prisustvo nekroze)(7). Po ovoj klasifikaciji sve četiri histološke varijante NETa pluća su prebačene u jednu kategoriju radi lakše diferencijalne dijagnoze, za razliku od klasifikacije iz 2004. gde su TC i AC kao karcinoidi bili zasebno grupisani u odnosu na LCNET i SCLC. LCNET i SCLC su klasifikovani kao tumori visokog stepena a dobro diferencijovani NET-i klasifikovani kao TC niskog stepena i AC intermedijarnog stepena maligniteta (7,33,34,35). Dve ključne karakteristike koje pomažu u diferencijaciji plućnih subtipova NET-a su prisustvo ili odsustvo nekroze i broj mitozu na 2mm^2 u tumoru. Ovo je razlika u odnosu na preporuku iz 2004 gde je broj mitozu na polju 10-strukog uvećanja. TC se definišu kao tumori od minimum 0,5cm sa manje od 2 mitoze na 2mm^2 vijabilnog tumora i bez nekroze, dok se AC definišu kao tumori sa od 2 do 10 mitozu na 2mm^2 tumora sa prisustvom nekroze koja je često fokalna(33,35). Nova klasifikacija iz 2015. takođe daje preporuke za tumačenje Ki-67 indeksa ćelijske proliferacije da bi se razlikovali NET-i visokog stepena (Ki-67 indeks preko 40%) i NET-i niskog stepena (Ki-67 indeks manji od 20%), naročito za male uzorke dobijene biopsijom gde se često mogu zameniti karcinoidi sa SCLC. Obzirom na overlap distribucije Ki-67 indeksa između TC ($\leq 5\%$) i AC ($\leq 20\%$) na osnovu ekspresije Ki-67 ne može se dati pouzdana distinkcija između dobrodiferencijovanih karcinoida(33,35,36). Obzirom da se na osnovu Ki-67

ekspresije ne može jasno diferencirati TC od AC pluća, a još manje SCLC od LCNET-a, preporuke iz 2015 ukazuju da histološki kriterijumi ostaju osnov za postavljanje dijagnoze. Histopatološke razlike između plućnih podtipova NETa mogu biti male, naročito na uzorcima malih biopsija ili citološkim uzorcima što daje različita tumačenja u zavisnosti od iskustva patologa, naročito za diferencijaciju između TC i AC (36). Proliferativni indeks meren obeleživanjem Ki-67 se ne preporučuje za gradiranje NET a pluća ali je pokazan kao značajni prognostički faktor, sa preporukom da se uključivanje i ove informacije dodatno uz gradus tumora koristi kao informacija onkolozima da bi se individualizovala terapija. Za razliku od NETa pluća, proliferativni indeks meren sa Ki-67 imunohistohemijom je integralni deo važeće klasifikacije gastrointestinalnih neuroendokrinih tumora (11,35,36). Danas se zna da je učestalost mikstnih tumora pluća mnogo češća kada se analiziraju hirurški uzorci u poređenju sa uzorcima bioptiranog materijala (37). Ustanovljeno je da se mikstni tumori češće javljaju periferno u plućima (31,37). Najčešće kombinacije mešovityh tumora koje se javljaju su SCLC i LCNET-a kao i kombinacije SCLC ili LCNET-a sa adenokarcinomima ili skvamoćelijskim karcinomom pluća (31,38). Kada je LCNET u kombinaciji sa SCLC onda je on bliži karakteristikama SCLC u poređenju sa čisto LCNET. Kombinacije karcinoida sa SCLC ili LCNET su jako retke (31,38,39,40).

1.4. Patohistologija i morfološki nalaz kod TC i AC

Tipični i atipični karcinoid pluća se prema poslednjoj klasifikaciji Svetske Zdravstvene Organizacija (WHO) iz 2015.godine opisuju zajedno sa mikroćelijskim karcinomom I krupnoćelijskim neuroendokrinim karcinomom pluća. Način rasta oba tipa karcinoida je uglavnom centralne lokalizacije sa endoluminalnom (odnosno endobronhijalano) propagacijom u plućni parenhim i eventualno u intrapulmonalne i hilarne limfne noduse. Mnogo ređe karcinoidi pluća nastaju periferno (41).

1.4.1. Morfološki nalaz kod TC i AC pluća

Kod tipičnog karcinoida ćelije su uniformne, poligonalnog oblika i granulirane citoplazme, okruglih i euhromnih jedara, malim nukleolusom i retko do umereno eozinofilnom citoplazmom(42). Veoma je retko postojanje intracitoplazmatski mukusa. Nuklearna atipija i pleomorfizam mogu biti jako naglašeni čak i kod TC, tako da se na

osnovu ovih karakteristika ne može jasno razlikovati TC od AC (29). Kod TC ćelije grade rozete, papile i pseudoglandularne strukture, odnosno imaju organoidan način rasta. Mitoze se ne uočavaju i nema polja nekroze i vaskularne i limfatične invazije. Periferni TC češće imaju vretenast tip rasta i češće poseduju polja sa neuroendokrinom ćelijskom hiperplazijom i tumorletima u okolnom plućnom parenhimu (do 75% slučajeva). Postojanje udruženosti ovih preinvazivnih neuroendokrinih ćeljskih lezija kod TC, smatra se da ne utiče na prognozu, ali i dalje ne postoji dovoljno podataka o dugogodišnjem preživaljavanju kod ovakvih pacijenata (43). AC može da ispoljava sve obilke histološkog rasta ili citoloških oblika. Kod AC postoje celularna i jedarna atipija, prisutno je od 2 do 10 mitozna na 2mm², postoje polja geografske nekroze i vaskularna i limfatična invazije (41, 44). Na osnovu histološkog načina rasta karcinoidi su najčešće organoidni i trabekularni; kod kojih su tumorske ćelije rapoređene u trakama ili gnezdoliko. Većina ima dobro vaskularizovanu fibrovaskularnu stromu. Kod nekih karcinoida stroma je hijalizovana a može da sadrži i hrskavicu ili čak koštano tkivo (45). Okolni epitel disajnih puteva može da pokazuje neuroendokrinu diferencijaciju sa hiperplazijom, često i sa okolnom fibrozom, što se može videti kod difuzne idiopatske neuroendokrine ćelijske hiperplazije. Ovakav nalaz je češći kod perifernih karcinoida bronha (46,47).

1.4.2. Imunohistohemija TC i AC pluća

Glavna karakteristika tipičnog i atipičnog karcinoida je njihova neuroendokrina diferencijacija odnosno ekspresija neuroendokrinih markera. Neuroendokrini markeri su: Sinaptofizin, CD56 i hromograninA. Deo tipičnih i atipičnih karcinoida ekspimiraju *Thyroid transcription factor-1 (TTF-1)* što dokazuje njihovo plućno poreklo i citokeratin. Proliferativni marker Ki-67 služi u diferencijaciji tipičnog od atipičnog karcinoida pluća (41). Najčešće korišćeni NE imunohistohemijski marker su Chromogranin, CD 56 i synaptophysin.

1.4.2.1. Synaptophysin: Synaptophysin je poznat kao glikoprotein p38, prvo otkriven u membrani neurona kao i u hromafinim ćelijama medule nadbubrega. Ovo antitelo se upotrebljava za diferencijaciju normalnih i neoplastičnih neuroendokrinih ćelija, odnosno smatra se visokospecifičnim markerom neuroendokrinih tumora. Imunoreaktivnost se može dokazati kod svih tipičnih i atipičnih karcinoida i kod 50-60% mikroćelijskih karcinoma bronha (48).

1.4.2.2. *CD56*: CD56 je visoko specifičan marker koji se eksprimira duž membrane neuroendokrinih ćelija. Smatra se da je sa sinaptofizinom, CD56 je dovoljan marker za dijagnostiku neuroendokrinih tumora pluća (49).

1.4.2.3. *ChromograninA* : Chromogranin A je neuroendokrini marker manje specifičan za neuroendokrine karcinoma pluća nego za one digestivnog trakta (44).

1.4.2.4. *Thyroid transcription factor-1 (TTF-1)*: Thyroid Transcription factor-1 (TTF-1), je jedarni specifični protein transkriptivni faktor koga ekspimiraju štitnjača i tumori štitnjače kao i adenokarcinom pluća i delimično tipični i atipični karcinoidi. od tipičnih i atipičnih karcinoida, kao i u više od 90% sitnoćelijskih karcinoma pluća sa neuroendokrinom diferencijacijom i u 50% krupnoćelijskih karcinoma pluća sa neuroendokrinom diferencijacijom(44). Postoje i literaturni podaci da TTF-1 može da bude ekspimiran u karcinomu dojke i jajnika (50,51).

1.4.2.5. *Cytokeratin – AE1/AE3*: Tipični karcinoidi većinom ekspimiraju cytokeratin, ali je zabeleženo da ih oko 20% ne ekspimiraju. Tipični karcinoidi nikada ne ekspimiraju citokeratine visoke molekularne težine (poput 34betaE12 i /ili Cytokeratin903) (48).

1.4.2.6. *Specifični neuroendokrini markeri*

Neuroendokrine ćelije kao i tumori neuroendokrinih ćelija mogu sadržati niz neuropeptida kao i hormona koji se mogu koristiti kao specifični markeri ovih ćelija. Ovi markeri međutim ne moraju biti prisutni u svakoj tumorskoj ćeliji, a takođe nisu ni specifični za pojedine tipove tumora. Najčešće su ekprimirani u neuroendokrinim tumorima digestivnog trakta, ali mogu biti i kod NET-a pluća što se u određenim slučajevima i klinički ispoljava u vidu paraneoplastičnog sindroma. Najvažniji neuropeptidi kao i hormoni koji se mogu pojačano stvarati kod ovih tumora su: bombezin, serotonin, kalcitonin, somatostatin, vazoaktivni intestinalni peptid (VIP), gastrin oslobađajući peptid (GRP), insulin, neuron specifične enolaze (NSE), 5-hidroksi triptamin (5-HT), 5-hidroksitriptofan (5-HTP), „*realising*“ hormon rasta (GHRH), histamin, dopamin, prostaglandin, gastrin, neurotenzin, adrenokortikotropni hormon (ACTH) , supstanca P i drugi tahikini (10,52). Kalcitonin, VIP, ACTH se mogu dokazati

kako kod karcinoida tako i kod mikroćelijskog karcinoma pluća, mada se mogu naći i kod tumora štitne žlezde kao i karcinoida creva (12,13,23).

1.4.2.7. Proliferativni marker Ki-67: Proliferativni marker Ki-67 je važan marker u diferencijaciji tipičnog od atipičnog karcinoida, kao i krupnoćelijskih i sitnoćelijskih neuroendokrinih karcinoma pluća. On se eksprimira u jedrima ćelija (41,44,53). Ki-67 atigen IHC je produkt 10q26.2 gena koji učestvuje u ćelijskoj proliferaciji. On se izražava u vidu procenta pozitivnih tumorskih ćelija, tj kao obeležavajuć indeks. I dalje ne postoji definitivni konsenzus vezan za optimalni metod procene Ki-67 indeksa, mada većine studija preporučuju manuelno brojanje najmanje 2000 ćelija u histološkom polju. Na osnovu Ki-67 bojenja nizak proliferacioni indeks ($\leq 5\%$) se viđa kod TC dok je kod AC između 5% i 20%. U malim biopsijama Ki-67 bojenje može biti korisno da bi se razdvojili TC i AC u odnosu na LCNEC ili SCLC koji imaju jako visok Ki-67 indeks.

1.5. Topografska lokalizacija

U zavisnosti od lokalizacije primarnog tumora, NET-i se mogu značajno razlikovati: po kliničkom ponašanju, dijagnostičkim izazovima, terapijskim opcijama kao i ishodu.

Gastrički neuroendokrini tumori čine oko 5,4% NET-a. Za ovu vrstu NET-a uočen je porast incidence u poslednjih deset godina (19). Podeljeni su u tri grupe i to: tip 1) enterohromafine karcinoide, koji su povezani sa hroničnim atrofičnim gastritisom, tip 2) karcinoide koji se češće javljaju kod gastrinoma kao i tip 3) karcinoide koji nisu vezani za predisponirajuće faktore. Karcinoidi tipa 1 i 2 se tretiraju konzervativno: endoskopski resekcijom uz endoskopske kontrole. Tip 3 karcinoidi se ponašaju kao adenokarcinomi ili anaplastički NET-i i zahtevaju agresivan terapijski pristup (54). Petogodišnje preživljavanje gastričkih NET-a za sve subtipove je oko 74% kada su lezije lokalizovane, oko 35% sa regionalnim i oko 10% sa distalnim metastazama (55).

Neuroendokrini tumori tankog creva čine oko 24,3% svih NET-a, i 6 do 8 puta su češći u ileumu nego u duodenumu ili jejunumu (6,54). Većina lezija, preko 60%, se dijagnostikuje kasno. Prošireni van digestivnog trakta imaju lošu prognozu. Ukoliko se razviju metastaze na jetri, bioaktivni tumorski produkti mogu da dođu u sistemsku cirkulaciju i zaobilazeći inaktivaciju u jetri daju karcinoid sindrom. Klasično sindrom se

sastoji od niza simptoma poput: epizoda crvenila kože, dijareje, bronhokonstrikcije, preznojavanja i abdominalnih bolova a oko 50% pacijenata mogu da imaju i valvularno oboljenje (56). Petogodišnje preživljavanje kod pacijenata sa metastazama u jetri je oko 40% dok je ukupno petogodišnje preživljavanje oko 64% za celu grupu NET-a tankog creva.

Neuroendokrini tumori apendiksa čine oko 4,7% svih NET-a (54), najčešće su mali i otkriju se incidentalno tokom hirurškog lečenja (6). NET-i apendiksa imaju najbolju prognozu u odnosu na sve tipove gastrointestinalnih karcinoida a njihov najčešće benigni tok je verovatno posledica anatomske lokalizacije i biološkog ponašanja samog tumora. Stope petogodišnjeg preživljavanja za lokalizovane lezije, regionalno širenje i distalne metastaze su 94%, 84% i 26% sa ukupnom stopom preživljavanja oko 83% (19).

Neuroendokrini tumori kolona čine oko 8,8% svih NET-a i najčešće su (53%) lokalizovani u cekumu(19). NET-i kolona imaju najlošiju prognozu od svih gastrointestinalnih karcinoida sa ukupnim 5-to godišnjim preživljavanjem oko 52% za lokalizacije u cekumu, 38% i 33% za tumore lokalizovane u transverzalnom kolonu i 48% za lokalizacije u descedentnom kolonu(19).

Rektalni neuroendokrini tumori čine oko 16,3% svih NET-a(57). Najčešće su asimptomatski i obzirom da se najčešće dijagnostikuju rano, generalno imaju dobru prognozu sa ukupnim petogodišnjim preživljavanjem oko 85,4% (19).

Bronhopulmonalni karcinoidi čine 25% do 31% svih karcinoida (19,58). Većinu bronhopulmonalnih karcinoida čine TC a ostatak su AC. Iako su relativno retki, bronhopulmonalni karcinoidi su klinički značajni jer mogu dati metastaze. Njihova rana dijagnoza i adekvatno operativno lečenje obezbeđuje kurativnost. Ukoliko se operišu, prognoza im je dobra (59).

1.6. Rana tumorogeneza plućnih NET-a

Od ranije se smatra da plućni karcinoidi (TC i AC) i mikroćelijski karcinom pluća sa neuroendokrinom diferencijacijom nastaju od iste serotonin produkujuće Kulchitsky ćelije (često se naziva i APUD ćelija ili enterohromafina ćelija) (60). Bronhijalne Kulchitsky ćelije koje se danas nazivaju plućne neuroendokrine ćelije (PNEC) su prva

vrsta ćelija koje se formira i diferencira iz respiratornog epitela za vreme najranije faze razvoja pluća (61,62). Ove ćelije iako morfološki podsećaju na neuralne ćelije, potiču od endoderma i mogu se naći u nezrelom fetalnom epitelu, deo su difuznog neuroendokrinog sistema (NE sistem) (63,64). Ove se ćelije najčešće nalaze kao solitarne, mada ponekad mogu da budu i u vidu male grupe ćelija i tada se nazivaju neuroepitelna tela (*NEB-neuroepithelial bodies*) koja se nalaze u epitelu sa cilijama. PNEC-e čine oko 0,4% epitelnih ćelija bronha i imaju bitnu dvojnu ulogu: kao modulatori rasta pluća i plućne diferencijacije za vreme prenatalnog razvoja i drugo kao hemoreceptori u disajnim putevima tokom života (65,66). Tokom embrionalnog razvoja PNEC-e oslobađaju serotonin i neuron-specifičnu enolazu kao i gastrin- oslobađajući peptid (G-RP) a kod odraslih NEB daju odgovor na hipoksiju tako što oslobađaju serotonin i dovode do lokalno vazokonstrikcije čime se krv usmerava ka bolje oksigenisanim tkivima (67). Danas postoje radovi koji govore da postoji razlika u nastanku različitih podtipova NET-a i to sa pretpostavkom da SCLC nastaje od normalnog epitela bronha koji stiče neuroendokrine karakteristike. Druga pretpostavka je da postoji zajednička stem ćelija kako za NET-e i SCLC tako i za sve druge NSCLC. Ova druga hipoteza nalazi podršku u činjenici da postoji niz mešovitenih tumora sa kombinacijom i NET-a i NSCLC (31,68). U studiji Sutherlanda i saradnika, delovali su vektorima koji deluju nastankom selektivnih p53 i Rb mutacija na tri vrste ćelija: (1) Klara ćelije i bronhoalveolarne stem ćelije , (2) PNEC i (3) alveocite tipa II. Iako je najveći deo SCLC u ovoj studiji nastao od PNEC, deo SCLC nastao je i od alveocita tipa II. Periferni SCLC nastali su na ovaj način isključivo od alveocita tipa II. Ovaj eksperiment je dao moguće objašnjenje i za nastanak kombinovanih tipove tumora (SCLC - NSCLC). Istovremeno je pokazano da su PNEC dale samo centralno nastale SCLC. Ovim istraživanjem je dodatno ojačana pretpostavka da ćelije sva tri tipa ovih tumora mogu nastati od zajedničke prekursor ćelije (69,70). Ova studija takođe je pokazala da je heterogenost tumora tumačena sposobnošću adaptacije tumora uz zaključak da je dodatno prisustvo ćelija koje nemaju NE diferencijaciju u sklopu NET-a dovodilo po češćeg nastanka metastaza (69,70). Danas se takođe zna da su difuzna idiopatska ćelijska hiperplazija (DIPNECH) i tumorletni prekursorske lezija za nastanak NET-a. Za obe vrste lezija se zna da takođe vode poreklo od zajedničke bronhijalne ćelije tipa Kulchitsky ćelije (31,71).

1.7. Molekularna patogeneza i prognostički faktori

Nema mnogo podataka o indukciji malignog rasta ili uticaju faktora rasta na karcinoide, ali novije studije ukazuju na učešće niza gena u molekularnoj patogenezi karcinoidnih tumora. Za određen broj karcinoida želuca studije su pokazale da je gastrin značajan faktor rasta (1,43) sa dokazano povećanom incidencom gastričnih karcinoida kod stanja sa hipergastrinemijom poput: atrofičnog gastritisa, Zollinger-Elison sindroma ili perniciozna anemija. Kod perniciozne anemije i atrofičnog gastritisa može se očekivati da 4% do 11% pacijenata dobije karcinoid želuca (1,43). Takođe i pacijenti sa Zollinger-Elison sindromom mogu da dobiju karcinoid želuca, mada su ovi tumori mnogo češći kod pacijenata sa MEN 1 sindromom. Kod pacijenata sa Zollinger-Elison sindromom i MEN1 i gastričkim karcinoidom postoji gubitak alela na Men1 lokusu na hromozomu 11q-13 i postoji i familijarna predispozicija za nastanak karcinoida (72).

Oko 5% TC i AC su povezani sa multiplom endokrinom neoplazijom tipa 1 (MEN-1) i tada se karcinoidi pluća mogu javiti familijarno, udruženo sa postojanjem ovog sindroma. MEN 1 je familijarni sindrom, sa autozomno- dominantnim nasleđivanjem koje karakteriše visoka incidenca za nastanak multiplih neuro-endokrinih maligniteta. Za MEN 1 se smatra da nastaje kao posledica defekta na hromozomu 11q13 koji kodira 610- aminokiselinski nuklearni protein MENIN. Gubitak heterozigotnosti za ovaj lokus i inaktivacija MEN1 gena mutacijom je ustanovljen kod 26% do 78% karcinoida (kod oko 25% atipičnih karcinoida kao i 67% tipičnih karcinoida). Ove mutacije se ne viđaju kod SCLC- i veoma su retke kod LCNEC(73). Mutacije na MENIN genu su objavljene kod 18% karcinoida (74).

Koristeći komparativne genomičke hibridizacione tehnike, gubici hromozoma 18q i 18p su objavljeni kod 33% i 38% gastrointestinalnih karcinoida, ali ne i kod karcinoida bronha. Obrnuto, delecije 11q ustanovljene su kod 36% bronhijalnih, ali ne i kod gastrointestinalnih karcinoida (73,74). Najvažnija hromozomska alteracija koja je karakteristika NE plućnih karcinoma ali je retko prisutna kod karcinoida je i delecija hromozoma 3p. Zaključak da je 3p gubitak alela skoro uvek prisutan u patogenezi SCLC i NSCLC potvrđuje teoriju o posebnom nastanku plućnih karcinoida u odnosu na ostale tipove tumora pluća. Delecija hromozoma 3p je jedan od prvih događaja koji nastaju kod kancera koji su uzrokovani pušenjem. Delecije 3p prethode drugim hromozomskim

alteracijama poput delecija 5q, 9p i 17p (75,76,77). Delecija 11q se najčešće viđa kod karcinoida pluća i to češće kod AC i smara se važnim prognostičkim markerom za ove tumore. Obzirom da se 11q delecija ređe viđa kod TC u poređenju sa AC ona verovatno više predstavlja marker koji ukazuje na agresivnije ponašanje tumora a ne na samu verovatnoću nastanka ovih tumora (78,79). Delecija 11q je jedina hromozomska aberacija za koju se može uporediti učestalost nastanka i za karcinoide (28%) i za NE karcinome (32%). Postoji pretpostavka da postojanje ove delecije ukazuje na ovi tumori nastaju od tkiva pluća obzirom da ona postoji i kod adenokarcinoma pluća, mada je verovatnije da je postojanje ove delecije više odraz same biologije tumora jer se ona javlja i kod drugih solidnih tumora poput karcinoma mokraćne bešike, dojke, kolorektuma, ceviksa nazofarinksa, ovarijuma i drugih(80,81,82). Druge često detektovane genetske alteracije kod karcinoida pluća su gubici:5q,9p,10q i 13q. Gubici 10q i 13q su češći kod AC, mada se mogu se videti i kod LCNEC i SCLC i ukoliko postoje kod AC ukazuju na agresivnije ponašanje ovih tumora.

Neki od karcinoida mogu nastati kod pacijenata sa difuznom idiopatskom neuroendokrinom ćelijskom hiperplazijom (DIPNECH), koja je retka paraneoplastička lezija koju karakteriše preinvazivna hiperplazija PNEC-a i postojanje neuroepitalijalnih tela u respiratornom epitelu (83,84). Ne postoji jasna povezanost između slabo diferentovanih NET-a pluća i DIPNECH (85). Mehanizmi nastanka i progresije dobro diferentovanih NET-a pluća su za sada nedovoljno poznati. Većina TC i AC nastaju de novo.

Molekuli koji su važni za proliferaciju tumora, ćelijski rast, apoptozu, angiogenezu i metastaziranje najčešće su proučavani kao potencijalni terapijski ciljevi (86). Ispitivanje novih molekularnih biomarkera u neuroendokrinim karcinoidima pluća značajno može uticati na dalje lečenje ovih tumora. Apoptoza ili programirana ćelijska smrt je fiziološki oblik ćelijske smrti koja postoji u nizu normalnih bioloških procesa poput embriogeneze, razvoja imunog sistema, sazrevanju ćelija i diferencijaciji. Apoptoza ima komplementarni ali suprotan efekat ulozi mitoze u regulaciji tkivne homeostaze. Ukoliko dođe do disbalansa u ovoj ravnoteži nastaje abnormalna ćelijska akumulacija u obliku hiperplazije ili nastanka tumora. Za razliku od nekroze programirana ćelijska smrt je kontrolisan proces u kome nema gubitka integriteta ćelijske membrane ili oslobađanja

sadržaja ćelije. Tokom apoptoze dolazi do skupljanja ćelije sa kondenzacijom citoplazme i hromatina uz cepanje DNK. Obzirom da je genetska regulacija apoptoze ključna u nastanku tumorogeneze veliki broj studija bavio se uticajem onkogeni i tumor supresor gena na apoptozu (87,88,89,90). Jedan od najvažnijih mehanizama kojim deluje antikancerska terapija je delovanje mehanizmom ubijanja kancerske ćelije apoptozom. Sem apoptoze tumorskih ćelija koja je uzrokovana terapijom (hemioterapija ili radioterapija), maligne ćelije prolaze i kroz spontanu apoptozu. Spontana apoptoza je opisana u skoro svim tipovima tumora. Ono što se danas zna je da se stepen spontane apoptoze razlikuje između različitih vrsta tumora. Smatra se da je nivo spontane apoptoze u korelaciji sa stepenom reagovanja na specifičnu onkološku terapiju (87). Ova zapažanja su objasnila i stanje opadanja broja malignih ćelija kod tumora koji nisu lečeni, pri čemu se zna da radioterapija pojačava proces spontane apoptoze (88,89). Nekoliko studija je koristeći parafinske kalupe različitih tumora pluća ispitivalo vezu između apoptotičkog indeksa tumora i ishoda lečenja terapijom. Kod patološkog stadijuma pN1 NSCLC spontana apoptoza je viđena kod 0,2 do 2,8% tumora a spontani apoptotički indeks je značajnije bio viši kod pacijenata sa skvamocelijskim karcinomom pluća u poređenju sa adenokarcinomom, što je bilo u korelaciji sa boljim preživljavanjem pacijenata sa skvamocelijskim karcinomom pluća (89). Za sada postoji vrlo malo istraživanja koja su se bavila ispitivanjem apoptotičkog indeksa kod SCLC. U studiji Josepha i saradnika dokazan je statistički značajnije viši apoptotički indeks kod nelečenih pacijenata sa SCLC (u 2 do 20%) u poređenju sa NSCLC (kod 0,2% do 1%). Kod pacijenata sa SCLC očekuje se viši apoptotički indeks što je povezano i sa činjenicom da ovi tumori bolje reaguju na hemio i radioterapiju (91,92,93). Studije su pokazale da uticaj na proces apoptoze (pojačavanjem ili usporavanjem apoptoze) utiče na ponašanje i agresivnost malignih tumora, odnosno utiče na odgovor na terapiju i preživljavanje. Genetička regulacija apoptoze, odnosno njena deregulacija, od suštinskog je značaja za proces tumorogeneze. Proteini *p53* i *Bax* (*Bcl2-associated X protein*) učestvuju u regulaciji ćelijskog ciklusa i apoptoze, a postoje podaci da njihove strukturne promene izazvane mutacijom i izmenjeni nivoi ekspresije u ćeliji utiču na biologiju tumora u smislu agresivnosti i podložnosti terapijama zasnovanim na indukciji apoptoze (94,95).

Tumor supresor gen *p53* ima ključnu ulogu u prelasku ćelije iz G1 u S fazu, gde može da blokira ulazak ćelije u S fazu ili aktivira proces apoptoze kao odgovor na oštećenje DNK.

Protein *p53* je ključan za održavanje genetske stabilnosti jer on reguliše normalan odgovor na oštećenje DNK ili druge oblike genotoksičnog stresa. Ukoliko je gen *p53* mutiran gubi se kontrola ćelijskog ciklusa što može voditi ka tumorogenezi. Jedna od bioloških aktivnosti *p53* tumor supresor gena je modulacija apoptoze. Studije su pokazale da je prisustvo normalnog ili "wild" tipa *p53* proteina povezano sa boljim odgovorom na radioterapiju, kao i da je gubitak funkcije "wild" tipa *p53* bio povezan sa hemiorezistencijom kod nekih tumora a da je mutacija *p53* proteina kod tumora dojke i kostiju bila povezana sa rezistencijom na radioterapiju (96,97). Smatra se da gubitak funkcije proteina *p53* dovodi do rezistencije na odgovor na radioterapiju kao i da je ovaj protein važna determinanta prognoze tumora. Za sada ne postoji dovoljno studija koje bi ukazale na jasnu vezu između mutacionog statusa *p53* i sposobnosti SCLC da uđe u apoptozu ali se zna se da delecija 17p13 regiona koji kodira *p53* može voditi inaktivaciji ovog proteina kod 75-100% pacijenata sa SCLC (92,98).

Najveći deo današnjih saznanja o apoptozu bazira se na ispitivanju familije *Bcl-2* proteina koji su važni regulatori signalnog puta apoptoze sa *Bcl-2* proteinom koji ima ulogu da suprimira i *Bax* proteinom koji ubrzava ovaj oblik ćelijske smrti (99). Veći broj studija pokazao je da *Bcl-2* inhibira apoptozom izazvanu ćelijsku smrt i da je povećana ekspresija ovog proteina povezana sa hemio i radiorezistencijom tumora. Takođe je pokazano da je ekspresija *Bcl-2* proteina veća kod SCLC u poređenju sa NSCLC. Imunohistohemijskim ispitivanjima tumora utvrđeno da je *BCL-2* protein eksprimovan u većini SCLC (65 do 90%) i kod 15 do 46% NSCLC sa češćom ekspresijom *BCL-2* kod skvamoćelijskog carcinoma (25 do 35%) u odnosu na adenokarcinom pluća (10%) (100,101).U studijama koje su ispitivale korelaciju između *Bcl-2* ekspresije i stepena apoptoze kod SCLC nije potvrđen prognostički značaj ove ekspresije za ishod lečenja carcinoma pluća (102,103).

Obzirom da *Bax* protein kao pro-apoptotički protein antagonizuje funkciju *Bcl-2* proteina, pokazano je da *Bcl-2/Bax* odnos određuje verovatnoću ulaska u apoptozu maligne ćelije. Takođe je pokazano da su su nivoi ekspresije ovih proteina regulisani i produktom nemutiranog *p53* gena. Kod NSCLC je pokazano da visoka ekspresija *Bax* proteina postoji kod 47-73% tumora sa *Bcl-2/Bax* odnosom koji je bio značajan prognostički faktor za ishod lečenja kod pacijenata sa NSCLC (33). Kod SCLC je pokazana niža ekspresija *Bax* proteina i samim tim i niži *Bcl-2/Bax* odnos (33,36).

Uprkos svim ovim ispitivanjima do sada nije dokazana jasna korelacija između ekspresija *Bcl-2*, *Bax* proteina i *Bcl-2/Bax* odnosa i reagovanja na terapiju kod carcinoma pluća, odnosno još uvek ne postoje rezultati koji bi ih definisali kao prediktivne i prognostičke faktore za SCLC.

Obzirom da je efikasnost citotoksičnih hemioterapijskih protokola bazirana na sposobnosti da se tumorska ćelija uvede u programiranu ćelijsku smrt, dokazano je da smanjena apoptoza korelira sa hemioresistencijom, koja je poznat fenomen kod NET-a. Iz tog razloga rađene su i studije sa ciljem boljeg ispitivanja apoptoze kod NET-a. Najčešće ispitivani uticaji na apoptozu kod NET-a su takođe su vezani za uticaj ekspresije *Bcl-2* i *p53* gena. Ispitivanja su pokazala da je postojanje *p53* mutacija povezano sa češćom progresijom bolesti kao i lošijom prognozom kod NET-a. U poređenju sa SCLC kod plućnih karcinoida je karaktersitično da češće imaju "wild" tip *p53* a samim tim predstavljaju spororastuće tumore sa boljom prognozom u odnosu na SCLC (104).

Novije studije ukazuju na moguću razliku u odnosu vrednosti *Bcl-2/Bax* za NET-e niskog stepena maligniteta (TC i AC) u odnosu na NET-e visoke agresivnosti (LCNET i SCLC), sa dominacijom *Bax* ekspresije kod TC i AC u poređenju sa dominacijom *Bcl-2* ekspresije kod LCNET i SCLC. Postoji samo nekoliko radova koji su analizirali međusobne odnose ekspresije *Bcl-2* i *Bax* proteina između TC i AC, uz pretpostavku da je kraće preživljavanje povezano sa niskom ekspresijom *Bax* (95,105,106,107).

ERCC1 (*Excision repair cross-complementation group 1*) je endonukleaza esencijalna za popravku DNK oštećenja isecanjem nukleotida i smatra se da može biti prognostički i prediktivni faktor za primenu hemioterapije na bazi platine kod karcinoida pluća (108).

IGF-1R (*Insulin-like growth factor 1 receptor*) je ključan za ćelijski rast i kontrolu preživljavanja ćelija, i pokazano je da je od izuzetne važnosti za transformišući potencijal malignih ćelija. Njegovom stimulacijom se aktiviraju brojni signalni putevi koji mogu dovesti do rezistencije na više tipova terapija, pa je ovaj receptor farmakološki cilj kod raznih kancera(109). Kod karcinoida pluća *IGF-1R* može biti od važnosti za indukciju epitelijalno-mezenhimalne tranzicije, procesa koji je verovatno odgovoran za čestu pojavu udaljenih metastaza čak i više od 10 godina nakon inicijalne dijagnoze (110).

Dopaminski i adenozijski receptori su prepoznati kao novi farmakološki ciljevi u neuroendokrinim tumorima pluća (111,112), a i sama ekspresija ovih receptora može biti pokazatelj stepena agresivnosti tumora (113). Poznato je da ovi receptori imaju sposobnost heteromerizacije a novonastali heteromeri nemaju iste osobine kao pojedinačni receptori koji ih čine (114,115). Ovo omogućava ciljanje tumor-specifičnih heteromera sa poznatim farmakološkim osobinama, a ne pojedinačnih receptora koji su ekspimirani na raznim ćelijama u organizmu. Novija istraživanja pokazuju da NET-i imaju pojačanu ekspresiju adenozijskih i dopaminskih receptora uz sadejstvo i histaminskih H3 receptora, što vodi ka pojačanoj proliferaciji tumora i angiogenezi (115).

Analizirajući uticaj faktora rasta na karcinoide najčešće su ispitivani uticaji: transformišućeg faktora rasta alfa, transformišućeg faktora rasta (TGF) beta, insulinu sličnog faktora rasta 1, faktor rasta porekla trombocita, vaskularnog endotelnog faktora rasta, epidermalnog faktora rasta. (116). U studiji koja je analizirala potencijal tumora za pojačanim rastom , analizirana je ekspresija receptora: Ki-67, transformišućeg faktora rasta (TGF), epidermalnog faktora rasta (EGF). Uočeno je da je TGF-alfa pojačano ekspimiran u lezijama većim od 5mm, dok je EGF-receptor ekspimiran kod svih lezija, tako da su autori zaključili da TGF-alfa i EGFR autokrini mehanizmi mogu biti značajni u stimulaciji rasta ovih tumora (117). Nema puno podataka u literaturi o poznatim prognostičkim faktorima za atipičan karcinoid pluća. U studiji Thomasa i saradnika, od 106 pacijenata sa karcinoidima, analize su dokazale negativan prognostički faktor za visok mitotski indeks, veličinu tumora preko 3,5cm i ženski pol. U ovoj studiji ukupno 5-to, 10-to i 15-to godišnje preživljavanje kod AC razlikovalo se u zavisnosti od PH nalaza tipa tumora (TC naspram AC) kao i kliničkog stadijuma bolesti (III. naspram IV. stadijuma). Pacijenti sa AC pluća, lečeni hirurški a kod kojih je postojala zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova imali su značajnije lošiju prognozu nego ista grupa pacijenata sa TC (118). Novije studije pokazuju da su alkalna fosfataza i neurokinin A bolji prognostički pokazatelji rasta tumora u odnosu na Chromogranin A za metastatske NET-e(119). Iako do sada ne postoje zvanične preporuke, biohemijski markeri koji se mogu koristiti za procenu aktivnosti NETa su: serotonin, histamin, gastrin, vazoaktivni intestinalni peptid, glukagon, bradikinin, supstanca P, neurotensin. Kao histohemijski indikatori prognoze mogu se koristiti merenja : nivoa ekspresije proliferacionog markera Ki-67 i p53 tumor supresor proteina (120). Mali je broj studija rađen na karcinoidima

koje su se bavile mogućom ulogom *mutacija protoonkogeni i promena na tumor supresor genima* na njihovu patogenezu. Mutacije uobičajenih onkogeni poput *K-ras* mutacije su retke kod gastrointestinalnih karcinoma. Abnormalnosti na tumor-supresor genima i onkogenima su češće kod AC u odnosu na TC. Preterana amplifikacija *HER2/Neu*, *c-myc* i *c-jun* su opisane kod pojedinih ćelijskih linija porekla gastrointestinalnih tumora i kod nekih karcinoma. Kod bronhijalnih karcinoma pojačana ekspresija *c-fos*, *c-jun* i *c-met* nastaje rano dok visoka ekspresija *c-myc* i *L-myc* nastaje kasnije. Promene na retinoblastoma genu retke su kod tipičnih karcinoma, mada se mogu javiti kod AC. Mikrosatelitska nestabilnost je retka kod karcinoma (121). Ukupan broj alteracija uočenih kod metastaza karcinoma bronha je značajno veći nego kod primarnih tumora, što ukazuje na akumulaciju genetskih promena tokom progresije tumora. Gubici na 18q i 11q su bili prisutni i kod primarnih tumora kao i kod metastaza, dok su gubici 16q detektovani samo kod metastaza (122). Iz svih ovih studija ima se utisak da su kod karcinoma bronha češće delecije i mutacije na hromozomu 11, dok su kod gastrointestinalnih karcinoma češće mutacije na 18q. Ovi zaključci mogu da ukazuju da neuroendokrini tumori ove dve subgrupe nastaju različitim molekularnim putevima.

Na osnovu dostupne literature za NET-e pluća i dalje, postoji problem da se definiše i prepozna maligni potencijal rasta, koji bi značajno uticao na terapijski stav.

1.8. Klinička slika

Većina pacijenata sa dobro diferentovanim TC i AC bronha ima inicijalno prisutne simptome. Simptomi koji se pominju u literaturi prisutni su kod 52% do 92% pacijenata (123,124). Najčešće prateći simptomi kod NET-a su: kašalj (kod 32% pacijenata), hemoptizije (kod 26% pacijenata) i pneumonija ili rekurentne plućne infekcije (24% pacijenata) što predstavlja klasičan trijas simptoma. Tabela 3. Ovi simptomi nastaju kao posledica opstrukcije lumena disajnog puta tumorom. (125). Obzirom da je većina dobro diferentovanih NETa pluća lokalizovana centralno i to: u glavnom (10%) ili lobarnim bronhima (75%), simptomi kod ovih tumora najčešće su posledica same lokalizacije tumora. Centralno lokalizovani tumori najčešće se prezentuju sa opstruktivnim respiratornim simptomima (posledica tumora koji opstruiše veliki disajni put) i to u vidu:

kašlja, hemoptizija, dispneje, bola u grudima, zviždanja u grudima i pneumonitisa. Neki od ovih simptoma mogu imitirati Astmu ili Hroničnu opstruktivnu bolest pluća (126). Filloso opisuje 14,2% pacijenata koji su lečeni kao bronhijalna astma i do tri godine pre nego je otkriven tumor (124). U drugim studijama opisano je i do 41% pacijenata koji su inicijalno imali bronhijalnu opstrukciju (125). Ostali simptomi koji se mogu javiti su: temperatura, nelagodnost u grudima ili bol, unilateralni vizing i nedostatak vazduha.

Za razliku od karcinoida centralne lokalizacije, periferno lokalizovani tumori su češće asimptomatski ili sa nespecifičnim simptomima. U istraživanju koje je obuhvatilo 1928 pacijenata ustanovljen je da je 50% pacijenata imalo neki od postojećih simptoma i do 2 godine pre postavljanja dijagnoze (127).

Značajan deo pacijenata prezentuje se asimptomatski, i kod ovih pacijenata dijagnoza karcinoida postavlja se daljim ispitivanjima, obično nakon rutinski radjenih radiografija pluća na kojima se uoči tumorska promena.

Najčešći prezentujući simptomi, objavljeni u literaturi od strane različitih autora, navedeni su u Tabeli 3.

Tabela 3. Najčešći prezentujući simptomi (na osnovu podataka iz literature)

	Učestalost (%)
Kašalj i/ili dispneja	5 – 65
Febrilnosti i/ ili inflamacija	17 – 50
Hemoptizije	18 - 40
Bol	5 – 20
Karcinoid sindrom	1 – 5
Bez simptoma	20 – 60

Pacijenti sa tipičnim karcinoidom (TC) pluća najčešće imaju inicijalno simptome i oni mogu perzistirati i godinama pre postavljanja definitivne dijagnoze. Najčešće simptomi su posledica same lokalizacije ovih tumora. Centralno lokalizovani TC daju simptome kao posledicu parcijalne ili kompletne bronhoopstrukcije ili sekundarno kao posledicu izražene vaskularizacije. Kašalj, hemoptizije i rekurentne plućne infekcije u istom plućnom segmentu ili lobusu su najčešći simptomi TC. Unilateralni vizing i bronhijalna

astma refraktarna na terapiju, bol u grudima i pleuralne efuzije su ređe mogući simptomi ili znaci. Bronhijalna opstrukcija koja duže perzistira može distalno da dovede do lokalnih bronhiektazija što može dovesti do parcijalne ili kompletne destrukcije distalnog plućnog tkiva. TC mogu biti povezani i sa paraneoplastičkim sindromom koji nastaje kao posledica stvaranja i sekrecije različitih produkata u sistemsku cirkulaciju. Mali, periferni TC su najčešće asimptomatski i otkrivaju se incidentalno na radiografijama pluća.

Iako je više od 90% NET-a pluća nefunkcionalno, ukoliko su funkcionalni, prisutni simptomi mogu biti posledica oslobađanja različitih peptida od strane tumorskih ćelija (42,128). Kod hormonski aktivnih tumora nastanak različitih simptoma u zavisnosti je od porekla tumorske ćelije kao i efekata oslobođenih bioaktivnih produkata (serotonin, kateholamini, dopamin, histamin, gastrin, glukagon, prostaglandini i drugi).

Karcinoidni sindrom je relativno redak i javlja se kod samo 1 do 5% bronhijalnih karcinoida, kod oko 20% karcinoida tankog creva i kod manje od 5% neuroendokrinih tumora druge lokalizacije. Karcinoidni sindrom je posledica je sistemskog oslobađanja vazoaktivnih supstanci, naročito 5-HT. Sindrom se međutim javlja kod preko 80% pacijenata sa bronhijalnim karcinoidom i metastazama u jetri, dok se kod lokalizovanog karcinoida bronha, kakva je većina TC, manifestuje sporadično i to više kod tumora koji su veličine preko 5cm (129,130).

Klinički se ovaj sindrom manifestuje sa akutnom dijarejom, kožnim flaševima, palpitacijama, epizodama bronhokonstrukcije i nastankom desnostrane srčane insuficijencije kao i poremećajima spavanja. Kao posledica paraneoplastičnog fenomena (ektopična produkcija i sekrecija adenokortikotropnog hormona) kod NET-a je moguć i Kušing sindrom koji se javlja kod oko 1-2% pacijenata sa karcinoidom bronha (129). Akromegalija i hipoglikemija se retko javljaju kod ovih pacijenata (130). Merenja specifičnih markera karcinoidnog sindroma poput vrednosti 5-hydroxy-indolacetične kiseline (5-HIAA) u urinu, ima nisku senzitivnost kod bronhijalnih karcinoida, ali ukoliko je pozitivna pomaže pri proceni odgovora na terapiju. Kod TC sa aktivnom sekrecijom hormona bronhoskopska manipulacija tumorom za vreme dijagnostičke ili hirurške procedure može da dovede do izazivanja takozvane karcinoidne krize, što je potencijalno životno ugrožavajuća situacija koju karakteriše iznenadna sistemska vazodilatacija sa edemom pluća koja može da dovede pacijenta do kardiovaskularnog kolapsa i gde je

potrebno staviti pacijenta na mehaničku ventilaciju (131,132). To je osnovni razlog zbog koga operacije velikih karcinoida bronha zahtevaju učešće multidisciplinarnog tima lekara (131). Još jedna komplikacija u sklopu karcinoid sindroma je i fibroza trikuspidne valvule, koja vremenom može dovesti do desnostrane insuficijencije i plućne hipertenzije (58).

Bronhijalni karcinoidi su najčešći uzrok ektopične ACTH sekrecije, ali uprkos tome Kušing sindrom se javlja kod samo 1% do 2% pacijenata sa karcinoidom. ACTH sekretujućí karcinoidi su češći u grupi TC nego AC. Ovi tumori su najčešće male periferne lezije koje se ne mogu videti na radiografiji pluća kod i do 40% pacijenata. Iz tog razloga je savet da se kod svih pacijenata kod kojih postoji ACTH zavistan Kušingov sindrom uradi CT grudnog koša (133). Klinički znaci hiperkortizolizma mogu biti slabost, hipertenzija, intolerancija glukoze, hipokalemija, alkalozna gubitak težine, anemija i hiperpigmentacija.

Bronhijalni karcinoidi su takođe najčešći uzrok ekstrapituitarne sekrecije GHRH (70%) , mada je akromegalija vrlo retko prisutna kod plućnih karcinoida sa samo oko 50 slučajeva opisanih u literaturi. Klinička slika akromegalije se najčešće povuče nakon kompletne hirurške resekcije (134).

1.9. Dijagnostika karcinoida bronha

Karcinoidi bronha spadaju u sporo rastuće neoplazme i često predstavljaju značajan dijagnostički i terapijski izazov. Primarni tumor je u trenutku postavljanja dijagnoze najčešće mali a klinički simptomi često odsutni sve do trenutka nastanka metastaza. Između 15 do 25% NET-a mogu da ispolje sinhronu ili metahronu udruženost sa drugim tumorima (najčešće sa adenokarcinomima, često lokalizovanim u kolonu) (135). Ova udruženost je verovatno posledica dejstva faktora rasta koje oslobađa tumor, a koji ubrzavaju fenotipske promene kod osetljivih ćelija i indukuju neoplastičku transformaciju (135,136). Smatra se da je zbog sporog rasta karcinoida prosečno vreme od nastanka maligno promenjene ćelije do klinički i radiografski manifestacije tumora minimum 5 do 7 godina.

Za postavljanje dijagnoze karcinoida bronha najčešće se koriste imidžing metode: radiografija pluća i kompjuterizovana tomografija pluća (CT). CT pluća se koristi kako

dijagnostički, tako i pri definisanju kliničkog stadijuma bolesti što je neophodno radi donošenja odluke o modalitetima lečenja. Za definitivno postavljanje dijagnoze karcinoida bronha potrebna je patohistološka verifikacija samog tumora, pri čemu je bronhoskopija osnovna metoda neophodna kako za dobijanje tkivnog uzorka tako i za procenu operabilnosti. Endoskopski, ovi tumori najčešće su lokalizovani centralno, u velikim disajnim putevima i vide se kao glatki, dobro vaskularizovani tumori koji krvare na dodir (126,137).

Fiberoptička bronhoskopija je najefikasniji i osnovni metod za dijagnostiku bronhijalnih karcinoida. Iako se tumor može dijagnostikovati i citologijom sputuma ili iglenom aspiracijom, ove metode su najčešće nedovoljne, tako da je u najvećem broju slučajeva potreban uzorak tumora dobijen bronhoskopskom biopsijom. Makroskopski i TC i AC formiraju čvrste, jasno ograničene, dobro vaskularizovane tumore, žuto- mrke do crvene boje. Karakteristika TC je da on najčešće raste endobronhijalno. Mukoza iznad tumora može biti intaktna ili sa ulceracijama a često postoji skvamozna metaplazija. Tumor obično na dodir krvari. AC češće raste ekstrabronhijalno ka okolnom plućnom parenhimu. Kod periferno lokalizovanih tumora, endoskopski, tumor ne mora biti vidljiv, odnosno endoskopski je češći nalaz indirektnih znakova tumora ili endoskopski potpuno normalan nalaz. Vizuelno uočljiv tumor koji raste intrabronhijalno i koji može da opstruira lumen bronha može biti indikativan za karcinoid bronha (138). Kod 35-70% bronhopulmonalnih karcinoida dijagnoza se postavlja fiberoptičkim bronhoskopom. I dalje postoji malo informacija vezano za mesto novih bronhoskopskih metoda (echo-endoskopija, fluorescentna bronhoskopija, i mikrobronhoskopija) a sa cijem povećanja senzitivnosti dijagnostike. Za periferne lezije češće se koriste metode endoskopski transbronhijalne biopsije ili CT-om vođene transtorakalne biopsije. U određenim slučajevima definitivna dijagnoza se postavlja tek nakon dijagnostičke torakotomije.

WHO klasifikacija ovih tumora daje preporuku da se imunohistohemijski markeri koriste za potvrdu dijagnoze NETa pluća, pre svega: Chromogranin A, Synaptophysin i CD 56. Ovi markeri međutim ne mogu da daju distinkciju između TC i AC (7,139).

Merenja biohemijskih markera: merenje 5-hydroxyindole-3-acetičke kiseline (5-HIAA) koja je degradacioni produkt serotonina ima specifičnost od 88% za serotonin produkujuće tumore. Treba napomenuti da hrana bogata triptofanom (poput banana,

avokada, šljiva, paradajza i sl.) može da dovede do povećanja vrednosti ove kiseline. Visoke koncentracije 5-HIAA u urinu češće označavaju lošiju prognozu (140).

Chromogranin A je kiseli glikoprotein rastvorljiv u vodi koji se nalazi u sekretornim granulama NET-a i može se koristiti kao tumor marker iz plazme. Iako su vrednosti chromogranina-A iz seruma veoma senzitivne (99%), nisu i specifične, jer sem kod NET-a mogu biti povišene i kod mikrocelularnog karcinoma i karcinoma prostate (141). Nivo chromogranina A u plazmi je u korelaciji sa veličinom tumora i može se koristiti za praćenje terapijskog napretka kod NET-a (140). Lažno pozitivne vrednosti međutim mogu se javiti kod bubrežne insuficijencije ili atrofičnog gastritisa.

CT toraksa i NMR toraksa su efikasne metode za detekciju i lokalizaciju i primarnog tumora kao i metastaza sa ukupnom senzitivnosti od oko 80%. AC se najčešće prezentuje lokalizovan periferno. Kalcifikacije mogu biti prisutne i do 30% tumora i to najčešće puktiformne ili difuzne. TC se na CT-u grudnog koša najčešće prezentuje kao okrugla ili ovoidna masa koja sužava ili opstruira disajni put. Tumor je najčešće dobro vaskularizovan i lokalizovan bliže centralnim vazdušnim putevima, često i na bifurkacijama (126,142).

Iako su radiološke metode nezamenljive u dijagnostici NET-a, danas postoje i druge dovoljno senzitivne i specifične metode za detekciju i lokalizaciju NET-a i njihovih metastaza. To se pre svega odnosi na funkcionalna ispitivanja *nuklearnim imidžing tehnikama* a pre svega upotreba *somatostatin receptor scintigrafije (SRS)* sa korišćenjem radioobeleženih somatostatinskih analoga (SSA) koja su se pokazala kao osetljiva metoda za otkrivanje lokalizacije plućnih karcinoida kao i otkrivanje metastaza, obzirom da većina TC i AC (80%-90%) eksprimira somatostatinske receptore (26,117). Ova metoda se može koristiti i radi postavlja indikacija za terapijsku primenu somatostatinskih analoga (SSA) (4). Somatostatin produkujuće ćelije postoje u mnogim organima u telu. Ovaj peptid može postojati u CNS-u, gde je neurotransmiter. Prisutan je u neuroendokrinih ćelijama u gastrointestinalnom traktu, u D-ćelijama pankreasa, štitnoj žlezdi, nadbubrezima, prostati, bubrezima. Obzirom da prirodni somatostatin ima kratak polu-život danas postoje dugodeljući sintetski analozi somatostatina kao što su : octreotide i lanreotide. Scintigrafija sa ¹¹¹Indium-obeležanim lanreotidom (octreoscan) je važna metoda detektovanja neuroendokrinih tumora. Procedura je bazirana na

pretpostavci da 80% neuroendokrinih tumora prezentuje tip-2 somatostatinske receptore za koje se mogu vezati tumor-specifični radioaktivno obeleženi receptorski analozi (143). Postoji pet poznatih subtipova somatostatinskih receptora (sst1, sst2, sst3, sst4, sst5) koji su klonirani iz humanog tkiva. 70-90% NET-a eksprimira multiple subtipove receptora sa dominacijom sst2 i sst5 receptora (144). Radioobeleženi analozi somatostatina kao što su 111-In-pentetreotid, In-octreotide i In-lanreotide se najčešće koriste u somatostatin scintigrafiji receptora (SRS), da bi se detektovali i lokalizovali NET-i. Ukupna senzitivnost 111 In-octreotid i 111 In-lanreotide scintigrafije je 93%, odnosno 87% (statistički bez razlike između ove dve metode)(145). Ove metode međutim nekada ne mogu da detektuju NET-e ukoliko je veličina tumora jako mala, kao i zbog smanjenog ekspimiranja somatostatinskih receptorskih subtipova kod metastaza u jetri (u poređenju i sa normalno visokim vrednostima somatostatinskih receptora u jetri). Stepent SRS pozitivnosti u poređenju sa normalnim hepatičkim vezivanjem je od dijagnostičke vrednosti (senzitivnost 80 -90%). Stepent SRS pozitivnosti takođe je od koristi i pri određivanju terapijskih efekata lečenja somatostatinskim analogima kao i sa radioobeleženim somatostatinskim analogima (146). Takođe, kod pacijenata sa mikrocelularnim karcinomom octreoscan se može koristiti za detekciju primarnog tumora, ali se kod ovog tipa tumora distalne metastaze ređe detektovane ovom metodom (147,148).

Iako se u literaturi opisuje visoka specifičnost i senzitivnost metode, u studiji Dan Granberga iz centra za radioligiju u Upsali, (Švedska) primarni tumor u plućima je bio detektabilan octreoscanom kod 81% pacijenata, za razliku od CT koji je detektovao tumor u 94% slučajeva. Takođe, detektovao je metastaze u jetri kod 64% pacijenata kod kojih su one bile vidljive na CT-u. CT se takođe pokazao kao senzitivniji i u prikazivanju broja metastaza u jetri (149). Vezano za ovaj podatak važno je reći da je značajan procenat bronhijalnih karcinoida (oko 30%), somatostatin receptor negativno, što je i potvrđeno u studiji Dan Granberga (71% karcinoida bronha bilo je octreoscan- pozitivno). Ipak, imajući u vidu činjenicu da je relaps bronhijalnog karcinoida najčešće sistemski, a ne lokalni, octreoscan je pogodna metoda za skrining relapsa kod selektiranih pacijenata. Pošto bronhijalni karcinoidi daju metastaze kasno, često i nakon više godina, važno je pratiti pacijente dugo, i ponavljati snimanje octreoscan metodom. Vrednost octreoscan metode je nezamenljiva kod pacijenata koji imaju ACTH- produkujući tumor i Kušing

sindrom a kod kojih se primarni tumor ne može lokalizovati CT-om ili bronhoskopijom. Obzirom da kod ovakvih pacijenata može da prođe i po više godina do postavljanja dijagnoze primarnog tumora, u ovakvim slučajevima octreoscan je metoda veoma važna u detekciji primarnog tumora (150,151). Važno je znati da octreoscan može biti pozitivan i kod drugih oboljenja pluća, pre svega kod granulomatoznih bolesti poput sarkoidoze, kod pneumonija, ali i kod malignih limfoma kao i meningeoma i o tome treba voditi računa kada se metoda radi inicijalno pri postavljanju dijagnoze primarnog neuroendokrinog tumora pluća (152,153).

Pozitron emisiona tomografija (PET) detektuje akumulaciju kratko živećih izotopa-radioobeleženih biološki supstanci kao što su F-fluorodeoxyglukoza i radioobeleženi prekursori serotoninske sinteze C-5-hydroxytryptofan. U studiji u kojoj su poređeni efekti PET sa SRS i CT imidžing metodama pokazano je da PET 5-hydroxytryptofan identifikovao lezije kod 95% pacijenata a kod 58% slučajeva je vizuelizovao veći broj lezija u poređenju sa SRS i CT metodom. Kombinacija SRS ili PET metode sa CT ili NMR metodom je visoko efikasna obzirom da daje senzitivnost od 96-100% za detekciju NET-a (142,154). Jedan od problema vezan za dijagnozu NET-a je i nedostatak konsenzusa između postojećih dijagnostičkih algoritama. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) preporuke za lečenje SCLC daju listu savetovanih dijagnostičkih procedura za postavljanje dijagnoze TC i AC ukoliko se na osnovu biopsije postavi sumnja na ove tumore (155,156). NCCN preporuke vezane za NET-e međutim ne definišu potrebu da se uradi definitivna potvrda ovih tumora biopsijom i ne daju jasne smernice vezane za dalje definisanje i pristup različitim subtipovima NET-a (155,156). Za razliku od toga ENETS (European Neuroendocrine Tumor Society) preporuke za TC i AC daju detaljni algoritam za dijagnostiku u slučaju sumnje na TC ili AC, preporuke koje su bazirane na korišćenju imidžing metoda, histopatološkoj evaluaciji, genetskim analizama i analizama biohemijskih parametara (157).

1.10. Stejdžing

Iako nije specifičan za NETe pluća, TNM stejdžing sistem koji se koristi za nemikroćelijske karcinome pluća (NSCLC) se može primeniti i na NET-e pluća (33). Upotreba TNM klasifikacije za stejdžing TC i AC, je od prognostičkog značaja za ukupno preživljavanje (Overall survival – OS) (5,6,158). Obzirom da i TC i AC mogu

da metastaziraju u regionalne limfne čvorove kao i da daju sistemske metastaze, upotreba TNM stejdžing sistema za ove tumore doprinosi donošenju bolje terapijske odluke i individualnom pristupu lečenja ovih pacijenata. U odnosu na TC, AC je agresivniji tumor koji češće daje udaljene metastaze (26%) i češće zahvata regionalne limfne čvorove (36%). TC iako manje agresivan po svom biološkom ponašanju, takođe može da da i metastaze u regionalne limfne čvorove (9%) kao i distalne metastaze (4%). Iz ovog razloga AC ima lošije 5-godišnje kao i 10-godišnje preživljavnje. Iako je prognostička uloga TNM stejdžinga za TC i AC priznata, u budućnosti će verovano postojati potreba da se redefiniše veličina tumora (T) koja određuje stejdžing NET-a obzirom da su granične vrednosti koje definišu T stadijum kod NSCLC 3cm-5cm i 7cm a da je većina karcinoida veličine do 3cm u najvećem dijametri u trenutku postavljanja dijagnoze (33,159).

1.11. Prognoza

Patološki spektar neuroendokrinih tumora pluća kreće se od tumora niskog gradusa maligniteta (TC) preko intermedijernog gradusa (AC) do agresivnih tumora visokog gradusa maligniteta kao što su LCNEC i SCLC (126,157). Iako postoji mesto ovih tumora u WHO klasifikaciji tumora pluća i pleure sa kriterijumima za različite podtipove NE tumora, tačan maligni potencijal i međusobne razlike između podvrsta ovih tumora još uvek nisu definisani.

Za celu grupu bronhopulmonalnih NET-a histološke karakteristika tumora (broj mitoza, stepen nekroze, vaskularna invazija i stepen nuklearnog polimorfizma) imaju značajan uticaj na preživljanje. Na osnovu dosadašnjih saznanja, ne postoji nijedan utvrđen biomarker za ove tumore koji bi jasno definisao pacijente sa povećanim rizikom od nastanka relapsa bolesti ili kasnih metastaza. S obzirom da ovi tumori čine samo 1 do 5 % svih tumora pluća, u poređenju sa nesitnoćelijskim karcinomom pluća, za NET-e pluća ne postoje definisani ni prediktivni niti prognostički biomarkeri (5,6,126).

Karcinoidi različite lokalizacije se međusobno razlikuju po svojoj agresivnosti. Po lokalizaciji, najveći procenat AC i inicijalno metastatski proširenu bolesti daju pankreasni karcinoidi, zatim karcinoidi kolona i tankog creva. Za razliku od njih karcinoidi larinksa,

ovarijuma, apendiksa, rektuma i pluća su češće TC i u trenutku postavljanja dijagnoze bez metastatske proširenosti(33,158).

Stope preživljavanja kod pacijenata zavise kako od primarne lokalizacije karcinoida kao i od agresivnosti tumora i proširenosti bolesti (6,86,158). Studije su pokazale da se za ukupno sve tipove karcinoida stope 5-godišnjeg preživljavanja kreću od 11% - 86% i da su najbolje je za karcinoide apendiksa (86-100%), zatim karcinoide pluća (77-87%); rektuma (62-72%); tankog creva (42-73%) ; kolona i želuca (42-75%) (159,160). Glavna determinanta preživljavanja je prisustvo metastaza u jetri čije prisustvo predstavlja glavni negativni prognostički faktor. Obim lokalne invazije tumorom je važan prognostički faktor vezan za verovatnoću nastanka metastaza u jetri. Verovatnoća regionalne invazije tumorom, nastanak metastatske bolesti kao i smanjeno preživljavanje su u direktnoj korelaciji sa veličinom primarnog tumora (161).

Na osnovu dostupne literature, za karcinoide pluća, najvažnije varijable koje utiču na prognozu su: starije godište pacijenta, dijametar tumora veći od 3cm, T stadijum i zahvaćenost limfnih čvorova (N stadijum) (58,161). Za sve plućne NET-e histološka karakteristika tumora, broj mitoz, stepen nekroze, vaskularna invazija i stepen nuklearnog polimorfizma imaju značajan uticaj na preživljanje. Histološke karakteristike, povećan mitotski indeks, nuklearni pleomorfizam, vaskularna ili limfatička invazija takođe se koriste pri klasifikaciji tumora na histološki tipične i atipične, tako da ova razlika ima i najvažniji uticaj na prognozu tumora.

Za pacijente koji imaju karcinoidni sindrom srednje preživljavanje od nastanka simptoma je od 3,5do 8,5 godina i sam karcinoidni sindrom je povezan sa smanjenim preživljavanjem. Uvođenjem somatostatinskih analoga u terapiju prognoza ovih pacijenata je poboljšana. Karcinoidna kriza kao najteži oblik karcinoidnog sindroma može akutno da ugrozi život pacijenta (162,163).

TC su definisani kao spororastući tumori biološki benignih karakteristika i dobre prognoze (5-godišnje preživljavanje 87 do 89%) (29,164). Poznato je međutim, da i TC imaju osobinu da mogu da daju metastaze (u 5% do 20% slučajeva), i to najčešće u regionalne limfne žlezde ali i udaljene, u jetru ili kosti, što značajno utiče na prognozu (6,164). Karakteristično za ove tumore je da mogu da daju udaljenje metastaze i nakon 5

do 10 godina od operacije zbog čega je i 10-to godišnje preživljavanje ovih pacijenata mnogo lošije nego što bi se pretpostavilo na osnovu njihovih osnovnih karakteristika (3,5,164). Za razliku od njih AC agresivniji su po biološkom ponašanju i inicijalno 30 do 70% pacijenata sa AC ima zahvaćenost limfnih žlezda ili udaljene metastaze (5,164). AC se smatraju tumorima srednjeg stepena maligniteta i imaju lošiju prognozu od tipičnih. Njihovo petogodišnje preživljavanje je 44-78% (3,5,165,166). Čak i nakon potpunog hirurškog odstranjivanja, bronhijalni karcinoid je maligni tumor koji može da rezultira lokalnim ili distalnim relapsom bolesti (164,167,168).

U poslednjih 30 godina, zapaženo je značajno opadanje 5-to godišnjeg preživljavanja za celu grupu bronhopulmonalnih karcinoida, (sa 84,7% na 47,3%) što se možda može objasniti i povećanim interesovanjem za ove tumore gde se korišćenjem specifičnih neuroendokrinih markera, češće postavlja dijagnoze ovih tumora. Čak i nakon potpunog hirurškog odstranjivanja tumora, važno je znati da je bronhijalni karcinoid maligni tumor koji može da rezultira lokalnim ili distalnim relapsom bolesti. Kod pacijenata kod kojih se sumnja na relaps bolesti, pogotovo u slučaju sumnje na metastatsku bolest, SRS i CT su neophodni za pažljivu evaluaciju rezidualne bolesti kao i za planiranje adekvatne terapijske strategije. Bolje poznavanje bioloških karakteristika ovih tumora kao i njihovog malignog potencijala neophodno je da bi se izabrala adekvatna strategija lečenja za različite podtipove ovih tumora. Obe vrste tumora karakteristično mogu da daju relaps bolesti i nakon pet do deset godina od operacije zbog čega je jako važno dugogodišnje praćenje ovih pacijenata (33,34,169,170).

1.12. Terapija

Većina pacijenata sa karcinoidima različitog porekla, ima metastatsku bolest. Ovo naročito važi za karcinoide porekla gastrointestinalnog trakta. Za karcinoide pluća koji su češće inicijalno resektabilni hirurška resekcija tumora i lokalno limfnih žlezda je i dalje jedini kurativni način lečenja. Ostali terapijski modaliteti kao što su bioterapija sa somatostatinskim analogima ili interferonom, hemoterapija novim citostaticima i peptidna receptor radioterapija su efikasne metode, ali pre svega sa ciljem stabilizacije bolesti i palijacije simptoma.

1.12.1. Hirurško lečenje karcinoida bronha

Hirurška resekcija je terapija izbora kod pacijenata sa lokalizovanim TC ili AC i ona predstavlja jedini oblik kurativnog lečenja za resektabilne karcinoide bronha. (157,155,156) Nakon hirurške resekcije stope i 5-godišnjeg i 10-godišnjeg preživljavanja za TC su veće od 90% , a za resektovani AC stope 5-godišnjeg preživljavanja su 70% a 10-godišnjeg 50% (170,171,172,173). Za primenu adjuvantno hemioterapije danas ne postoje jasne preporuke , niti postoji konsenzus po pitanju adjuvantno primene hemio i /ili radioterapije (155,156). U NCCN preporukama za NET-e ne pominje se uloga sistemske hemioterapije u adjuvantnom režimu, ali se jasno daje preporuka za operisane pacijente sa SCLC u prilog primene adjuvantno hemio i radioterapije (155). ENETS preporuke daju savet da se u adjuvantnom režimu kod AC kada su postojali pozitivni limfni čvorovi primeni hemioterapija , dok se kod pacijenata sa TC primena adjuvantno hemioterapije ne preporučuje (157).

Smatra se da je za bronhopulmonalne TC (koji su češće centralno lokalizovani) konzervativna resekcija (sleeve resekcija, wedge resekcija ili segmentektomija) preporučena hirurška metoda (174,175). Za AC postoji pitanje da li konzervativne metode hirurgije predstavljaju adekvatan hirurški pristup a naročito ako su zahvaćeni i regionalno limfni čvorovi. Obično se za ovaj tip tumora preporučuje ekstenzivnija hirurška intervencija poput lobektomije ili pneumonektomije sa disekcijom limfnih čvorova. Smatra se da ovakav pristup obezbeđuje minimalan rizik od rekurencije bolesti (176,177,178,179).

Kod pacijenata sa uznapredovalom bolesti i metastazama hirurško lečenje se takođe može primeniti ukoliko je radikalna resekcija primarnog tumora moguća i ukoliko postoje uslovi da se uradi metastazektomija, odnosno operativno uklone sve meta promene (preporuka kod pacijenata sa manjim brojem metastaza ili pojedinačnim meta promenama sa ciljem kurativnog lečenja) (157).

Hirurška resekcija samostalno ili u kombinaciji sa drugim terapijskim opcijama može biti palijativno terapija izbora kod pacijenata sa inkompletno resektabilnom bolesti pošto je pokazano da ovakav terapijski pristup poboljšava srednje preživljavanje, smanjuje

opterećenje organizma tumorskim ćelijama, poboljšava kontrolu simptoma i sprečava komplikacije (180).

Studije su pokazale da je kod većine karcinoida verovatnoća nastanka relapsa bolesti sa pojavom sistemskih metastaza u korelaciji sa veličinom primarnog tumora kao i zahvaćenosti regionalnih limfnih žlezda, tako da se i obim hirurške resekcije planira u skladu sa stejdžingom primarnog tumora. Resekcijom, lokalno ili regionalno, nodalno metastatske bolesti pokazano je da se kod nekih pacijenata može postići izlečenje (181).

Za vanplućne karcinoide hirurško lečenje je terapija izbora. Za tumore do 1cm veličine lokalizovane u apendiksu i rektumu preporučuje se apendektomija kao i lokalna resekcija tumora (181,182). Za tumore lokalizovane u tankom crevu, obzirom da sklonost ka metastaziranju nije u korelaciji sa veličinom tumora obično se preporučuje klasičan hirurški pristup kao i za druge maligne tumore sa širokom resekcijom limfatika (183). Za gastrične karcinoide lečenje zavisi od toga da li postoji prisustvo hipergastrinemije (tip I i tip II) ili ne (tip III). U slučaju postojanja hipergastrinemije i ukoliko je veličina tumora manja od 1cm lečenje može biti i hirurški endoskopski. Ukoliko je tumor veći od 1cm ili ukoliko postoji lokalna invazija preporučuje se totalna gastrektomija. Za gastrične tumore tipa II koji imaju tendenciju agresivnijeg rasta preporučuje se agresivniji hirurški pristup sa resekcijom lokalno limfatika (184).

Zbog nedovoljno prospektivnih kliničkih trajala sa pacijentima sa uznapredovalim karcinoidima bronha, danas ne postoje jasne terapijske preporuke za lečenje pacijenata sa uznapredovalom, metastatskom bolesti. Terapijske opcije ovih pacijenata danas, uključuju primenu: SSA (octreotida i lanreotida), biološke terapije (everolimus, sunitinib, bevacizumab), interferona, hemioterapije kao i PRRT (za NET-e koji ekspimiraju SSTR) (155,156,157).

Nove ENETS smernice lečenja za pacijente sa uznapredovalim TC i AC daju preporuku da se odluka o sistemske terapiji karcinoida bronha bazira na patološkim karakteristikama tumora (mitotski indeks kao i Ki-67), SSTR ekspresiji i brzini rasta tumora (157,185).

1.12.2. Terapija SSA i Bioterapija

Somatostatinski analozi su terapija izbora za simptomatske pacijente sa karcinoidima. Somatostatinski analozi koji se koriste su: octreotide, lanreotide ili njihovi dugo delujućí –depo oblici (octreotide LAR-long acting release i lanreotide SR- sustained release). Ovi agensi deluju putem nekoliko mehanizama ali najvažniji je inhibicija sinteze serotonina kojim se klinički poboljšavaju simptomi flašinga i dijareje i koji mogu dovesti do smanjenja vrednosti 5-HIAA u urinu.

Postoji 14 klasa serotoninских receptora (5-HT receptori). Antagonisti 5-HT1 i 5-HT2 kao što su cyprohaptadine i ketanserin obično ne mogu da utiču na flašing ali mogu da smanje gastrointestinalne tegobe poput dijareja. Antagonisti 5-HT3 receptora kao što su ondasetron, tropisetron i alosetron obično mogu da kontrolišu nastanak dijareja i mučnine, kao i povremeno flašinga (128,129,132,186). Prednizon u dozi od 20 mg na dan može da dovede do poboljšanja simptoma flašinga ali ne deluje na kontrolu gastrointestinalnih tegoba. Prirodni somatostatin dovodi do smanjenja simptoma kod pacijenata sa karcinoidnim sindromom. Njegovo korišćenje je ograničeno kratkim polu-životom (2-3 minuta) ovog leka. Zato se danas u terapiji koriste somatostatinski analozi kao što su octreotide (sa poluvremenom eliminacije 90 minuta) i lanreotide. Ovi lekovi su danas terapija izbora za kontrolu simptoma kod pacijenata sa karcinoidnim sindromom . Oni imaju visok afinitet vezivanja za receptore tipa 2 i 5 , nizak afinitet vezivanja za receptore 1 i 4, a srednji afinitet za receptore tipa 4. Daju se subkutano na 6 do 12 sati. (187,188) Efektivno dovode do smanjenja simptoma kao i smanjenja nivoa hormona. Octreotide snižava nivo oslobađanja 5-HT i neuropeptida K tako što direktno deluje na ćelije tumora. U analizama 62 publikovane studije octreotide je dao efikasnu kontrolu simptoma kod preko 80% pacijenata. (189) Kod preko 70% pacijenata ostvareno je smanjenje nivoa 5-HIAA od 50%. Preporuka je da se kod pacijenata sa karcinoidnim sindromom i blagim do umerenim simptomima lečenje započne sa 100mg s.c. na 8 sati. Postoji individualan odgovor na ove lekove i neki pacijenti zahtavaju i više doze, i do 3000mg/dan. (190) Ova terapija daje kod oko 60% pacijenata potpunu kontrolu simptoma u trajanju od prosečno 2,5 godine. Analozi somatostatina se generalno dobro tolerišu i terapija dugodelujućim analogima somatostatina je danas najbolja terapijska opcija da bi se dobio biohemijski odgovor i kupirali klinički simptomi , naročito kod pacijenata sa

gastrointestinalnim NET-ma. Ova vrsta terapije međutim, u praksi, retko dovede do tumorske regresije. Klinička studija Aparicija i saradnika sa ili subkutano datim octreotidom 100 mcg tri puta na dan, ili i.m datim dugodelujućim lanreotidom na 14 dana kod uznapredovalog karinoida doveli su do stabilizacije bolesti kod 57% pacijenata a samo kod jednog pacijenta od 35 dali su parcijalan odogovor (191). U studiji Ricija i saradnika na 15 pacijenata sa uznapredovalim karcinoidom i terapijom sporooslobađajućim octreotidom 20 mg na 4 nedelje dala je parcijalni odgovor kod samo jednog pacijenta i stabilnu bolest kod 40% pacijenata (192). Razvojem oblika somatostatina sa produženim dejstvom olakšana je terapija pacijenata. U praksi se daje octreotide LAR (Long Acting Release) , koji se daje mesečno i lanreotide SR (Sustained release), koji se daje na dve nedelje. Svi preparati sa produženim dejstvom podjednako su efikasni kao i ne- depo oblici. Neželjeni efekti terapije somatostatinskim analogima su obično minimalni i najčešće su to bol na mestu uboda inekcije, mučnina i dijareja kod 15 % pacijenata. Ovi neželjeni efekti su kratkotrajni i ne utiču na lečenje pacijenata. Neželjeni efekti koji mogu nastati kao posledica dužeg davanja somatostatinskih analoga su steatoreja, smanjena tolerancija na glikozu i pojačano stvaranje kamena u žučnoj kesi.

Rezultati lečenja slični octreotidu su dobijeni i za lanreotide. Objavljene objektivne i biohemijske stope odgovora su između 50 i 70% (193,194). Podaci ukazuju da octreotide i lanreotide mogu imati i direktan antitumorski efekat što dovodi do redukcije veličine tumora kao i stabilizacije daljeg rasta.

SRS kao metoda koja demonstrira postojanje ili odsustvo somatostatinskih receptora, koristi se da selektuje pacijente koji bi mogli povoljno da odgovore na terapiju somatostatinskim analogima. Studije su pokazale da kod pacijenata sa TC i AC (tumori koji imaju visok broj tumor somatostatinskih receptora) selekcija pacijenata za terapiju se procenjuje na osnovu intenziteta vezivanja tokom SRS odgovora, a sa ciljem da se selektuju pacijenti sa indikacijom za primenu somatostatinskih analoga. Pacijenata kod kojih je to vezivanje manje ili ga nema po pravillu nisu kandidati za terapiju SSA (195,196,197).

NCCN preporuke za primenu octreotida i lanreotida za selektovane pacijentesa NET-ima i SCLC odnose se na pacijente sa simptomima karcinoidnog sy i /ili postojanjem pozitivnog octreotide skena (155,156). ENETS preporuke za primenu SSA u prvoj liniji

odnose se za pacijente sa postojanjem izraženih simptoma (Kušing ili karcinoidni sindrom) a obzirom na činjenicu da većina pacijenata sa TC i AC (oko 70%) ima pozitivan SSTR status; ENETS preporuke za prvu liniju SSA takođe se odnose na pacijente koji imaju sporo progresivan TC ili AC sa niskim proliferativnim indeksom (ki-67 manji od 10%) a ukoliko postoji izraženo pozitivan SSTR status (157,185).

Pacijenti sa karcinoidnim sindromom često imaju povremeno epizode dijareja sa napadima crvenila. Najčešće se terapijski preporučuje izbegavanje stresa ili stanja koja dovode do epizoda flašinga. Mogu se dati suplementi sa nikotinamidom (181). U praksi se pokazalo da su kod pacijenata koji su imali karcinoidne krize opasne po život, analozi somatostatina efikasni i za terapiju poremećaja kao i u prevenciji mogućeg nastanka karcinoidne krize koja može biti posledica precipitirajućih faktora kao što su hirurška intervencija, anestezija, hemoterapija ili stres. Preporuka je da se pacijentima sa karcinoidima a koji su planirani za operativno lečenje da 150-250mg octreotida subkutano na 6-8 sati, 48 sata pre uvođenja u anesteziju. Za pacijente koji primaju hemoterapiju preporuka je da prime 250-300mg octreotida subkutano , 1-2 sata pre započinjanja hemoterapije. Nakon lečenja pacijenata sa karcinoidnim sindromom savetuje se izbegavanje hrane koja može da precipitira nastanak simptoma, a takođe i alkohola.

Pacijenti sa vizingom se leče bronhodilatatorima – pre svega salbutamolom koji deluje preko beta-adrenergičkih receptora i ne dovodi do flašinga. Može se ordinirati i aminofilin. Za blagu dijareju preporučuje se loperamid. Ukoliko postoji srčana insuficijencija daju se diuretici uz ostalu kardiološku terapiju i obavezno redovno kardiološko praćenje pacijenta. Ukoliko karcinoid sindrom perzistira daju se antagonisti serotoninskih receptora ili somatostatinski analozi.

U farmakološkoj terapiji NET-a se koriste i interferoni (IFN-alfa, IFN-gama i humani leukocitni interferon). Interferon alfa je efikasan u terapiji karcinoidnog sindroma. Daje se samostalno ili u kombinaciji sa embolizacijom hepatičke arterije. Terapijski efekt usmeren je na smanjivanje simptoma koji su posledica hormonalne hipersekrecije kod NET-a i terapijski efekti su slični sa efektima somatostatina. Razlika je u vremenu koji je potreban da dođe do terapijskog odgovora obzirom na to da somatostatinski analozi reaguju odmah a interferoni odloženo. Biohemijski odgovor na interferone je umeren,

moćući su neželjeni terapijski efekti koji su ćešći nego kod somatostatinskih analoga. Terapija interferonom je indikovana kod selektovanih pacijenata a terapijska doza se određuje individualno za svakog pacijenta (165,166,198). Preporučena doza interferona je 5-10 IU tri do pet puta nedeljno, sa individualno prilagođavanjem doza. Moćući neželjeni efekti su malaksalost, temperatura, porast vrednosti transaminaza ili hematološka toksićnost. Pojedina studije su pokazale da se kod i do 20% pacijenata koji su lećeni interferonom moće očekivati objektivan odgovor na lećenje sa smanjenjem velićine tumora i produćavanjem preživljavanja. Pacijenti sa karcinoidnim sindromom koji ne odgovore na terapiju pojedinaćno okteotidom ili interferonom-alfa, mogu se lećiti kombinacijom ovih lekova. Takoće se kod pacijenata sa izraćenim karcinoidnim sindromom moće kombinovati hepaticka embolizacija sa interferonom ili hemoterapijom. Hemoembolizacija je istovremeno embolizacija uz hemoterapiju cisplatinom, doxorubicinom, mitomycinom i takoće se moće kombinovati sa inerferonom (156,157,165,166,198).

1.12.3. Hemioterapija

Sistemska hemoterapija je vaćna terapijska opcija kod pacijenata sa uznapredovalim i neresektabilnim karcinoidima bronha. Za razliku od pacijenata sa malignim neuroendokrinim pankreasnim tumorima gde hemioterapija predstavlja osnovni modalitet lećenja, kod pacijenata sa karcinoidima bronha ona ne pokazuje očekivani terapijski efekat. Iako većeće preporuke savetuju primenu hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim karcinoidom bronha, samo mesto hemioterapije u odnosu na druge modalitete lećenja, kao i u odnosu na druge oblike sistemske terapije nije jasno definisano. Takoće ne postoje jasne preporuke o primeni hemoterapije kod pacijenata sa karcinoidima bronha, u neoadjuvantnom ili adjuvantnom rećimu. Većina preporuka je stava da bi hemoterapiju trebalo primenjivati samo kod pacijenata sa uznapredovalom bolesti ili sa izraćenim simptomima. Dosadašnja iskustva sa hemoterapijom, naćalost nisu ohrabrujuća. U terapiji karcinoida bronha su korišćeni različiti citostatici i kao monoterapija i u kombinovanim rećimima ali bez većeg terapijskog odgovora. Hemoterapija kod ovog tipa tumora ćesto je praćena sa neželjenim efektima. Stope terapijskog odgovora na monoterapiju različitim citostaticima su samo 5 -10% . Najćećeće korišćeni citostatici u lećenju karcinoida bronha su: cisplatina, karboplatina, etopozid,

doxorubicin, 5-fluorouracil. U fazi II studiji kod uznapredovalih karcinoida sa metastazama, monoterapija paclitaxelom dala je ukupnu stopu terapijskog odgovora od samo 8%, i uz značajne hematološke neželjene efekte (156,157). Ukupne stope terapijskog odgovora ispod 30% su registrovane kod primene 5-fluorouracila, dacarbazina i temozolomida (bilo za monoterapiju ili kombinovanu terapiju). Ni kombinacije sa 5-fluorouracilom i streptozocinom ili oxaliplatinom nisu dale bolje stope terapijskog odgovora (191).

Zna se da kombinovana hemoterapija daje terapijski odgovor kod 20-30% pacijenata sa karcinoidom bronha ali rezultati lečenja citostaticima su i dalje nezadovoljavajući. Obzirom na hemorezistentnost karcinoida, sa nezadovoljavajućim rezultatima lečenja a značajnim toksičnim efektima hemoterapije, a uzevši u obzir da postoje odlične opcije za simptomatsku terapiju uznapredovale bolesti, poput octreotida ili interferona, primena hemoterapije i jasno definisani terapijski protokoli i dalje ne postoje kod pacijenata koji imaju uznapredovalu bolest (156,157,200).

Nedostatak važećih hemioterapijskih preporuka rezultat je i nedovoljnog broja prospektivnih ili retrospektivnih studija koje se odnose na terapiju uznapredovalog TC ili AC. NCCN preporuke za celu grupu NET-a hemioterapiju pominju samo za pacijente sa uznapredovalom bolesti kod kojih ne postoje druge terapijske opcije a kod TC i AC pluća se preporučuje primena hemioterapijskog platinskog dubleta (cisplatina- etopoizid) u prvoj liniji za pacijente sa uznapredovalim TC i AC (156,201,202).

1.12.4. Molekularna terapija

U novije vreme sve više je studija faza II i III koje ispituju dejstvo molekularne terapije na NET-e. Ispituje se efekat dejstva inhibitora receptora tirozin kinaza,(c-kit, PDGF-R, EGFR inhibitori) . Dokazano je da ćelije NET-a pojačano ekspimiraju receptore za PDGF-R (alfa i beta) i EGFR. Obzirom na taj podatak smatra se da bi lečenje inhibitorima receptora tirozin kinaza moglo imati terapijskog značaja. Eksperimentalno je dokazan efekat Imatiniba na ćelije NET-a ali je u studiji faze II samo 1 od 27 pacijenata je imao terapijski odgovor (203). Plućni karcinoidi nemaju česte mutacije EGF- Receptora, tako da su iskustva sa inhibitorima tirozin kinaza nedovoljna, iako se za Erlotinib pokazalo da može imati kliničkog benefita kod pacijenata sa plućnim karcinoidima. U trajalu sa

gefitinibom kod 40 pacijenata sa progresivnim, metastatskim karcinoidima, takođe je dobijen slab terapijski odgovor (204). Obzirom da bronhopulmonalni NET-i eksprimiraju pojačano i receptore za VEGF,, u fazi II studije sa octreotidom uz Bevacizumab pokazano je poboljšanje preživljavanja u grupi koja je primala Bevacizumab, u poređenju sa octreotidom u kombinaciji sa interferonom (205).

Klinička iskustva za primenu molekularne terapije kod plućnih NET-a i dalje su nedovoljna. Primena Bavecizmaba, Sorafeniba i Sunitiniba kod plućnih NET-a i dalje je ograničena samo na kliničke studije. Prva pivotalna studija RADIANT-4 sa korišćenjem inhibitora rapamicina (Everolimus- mtor inhibitor) na pacijentima sa plućnim NET-ima (n= 90) pokazala je benefit u korist primenen Everolimusa u odnosu na placebo (mediana PFS-a 9,2 meseca prema 3,6 meseca, HR= 0,50; 95% CI). U ovoj studiji najčeće primećeni neželjeni efekti ove terapije bili su: stomatitis (61%), dijareja (26%), malaksalost (32%), infekcije (23%), raš (35%) i periferni edemi (27%) (201,202). Na osnovu iskustva ove (RADIANT -4) studije kao i odobrenja za primenu Everolimusa kod pacijenata sa uznapredovalim TC i AC očekuje se uključivanje Everolimusa u zvanične preporuke za prvu terapijsku liniju kod uznapredovalog karcinoida bronha (185,205).

1.12.5. Radioterapija

Radioterapija se kao standardna terapija koristi kao palijativni metod lečenja kod pacijenata koji su razvili metastaze u CNS-u ili u koštanom sistemu kao i u slučaju kompresije na kičmeni kanal.

Tumor-usmerena radioaktivna terapija koja se koristi godinama (206) unazad međutim ima ukupne stope odgovora ograničene sa ciljem poboljšanja simptoma kod 30-40% pacijenata uz postignut i biohemijski odgovor kod 7 do 10% pacijenata. (207) Terapijska metoda koja koristi 111-indium, 90-ytrium ili 177-lutetium radionuklide koji se vezuju za somatostatinske analoge sve više pokazuje dobre rezultate. Ovom metodom se koriste radionuklidi koji se vazuju za somatostatinske analoge i ciljano deluju na ćelije koje imaju pojačanu ekspresiju somatostatinskih receptora. Ova metoda je selektivna, dejstvo je usmereno prema tumoru i peritumorskim ćelijama sa relativnom poštedom okolnog zdravog tkiva. Uprkos tome postoji umerena izloženost koštane srži i bubrega (tokom ekskrecije) radioaktivnim supstancama. (208) Tumor usmereno lečenje radioaktivnim

somatostatinskim analogima se razvija intenzivno naročito unazad nekoliko godina i danas najefikasniji oblik *Peptid Receptorske Radionuklidne Radioterapije* (PRRT) je korišćenje ¹⁷⁷-Lu vezanim za somatostatinski analog DOTA-Tyr-octreotate. ¹⁷⁷Lu-DOTA-Tyr octreotate (Lu-DOTATATE) daje stope odgovora oko 35% i obezbeđuje stabilizaciju bolesti kod 80-90% pacijenata. Najčešće se u praksi koristi u terapiji gastrointestinalnih NET-a. (209) U studiji sa 41 pacijentom koji je lečen ovom metodom, dvogodišnje preživljavanje je postignuto kod 76% pacijenata sa neuroendokrinim tumorima. Pacijenti koji su imali karcinoid sindrom imali su značajno poboljšanje simptoma uz dobro tolerisanje ovog oblika terapije. Neželjeni efekti mogu biti citopenija i povraćanje (209). Iako danas ne postoje studije III faze vezane za korišćenje PRRT kod TC i AC , na osnovu drugih rezultata, pre svega faze II studije (n=34), pokazana je antitumorska aktivnost ¹⁷⁷Lu-DOTATATE kod pacijenata sa uznapredovalim TC i AC uz postignutu medijanu PFS-a (20,1 mesec prema 15,7 meseci) i stope kontrole bolesti 80% prema 47% kod uznapredovalog TC u odnosu na AC (210).

1.12.6. Lečenje hepatskih metastaza

Hirurško lečenje se često koristi u terapiji hepatskih metastaza kod NET-a. Najčešće se radi citoreduktivna hirurgija sa izolovano resekcijom metastatske promene, mada se može raditi i transplantacija jetre. Citoreduktivna hirurgija meta promena u jetri se naročito preporučuje kod pacijenata sa funkcionalnim metastazama u jetri. (211) U nekoliko studija sa pacijentima koji su imali metastaze u jetri i koji su hirurški lečeni resekcijom tumora, dobijena su značajnije bolja 5-godišnje preživljavanja. (212) Kod 20% pacijenata kod kojih je rađena resekcija metastaza , i koji su praćeni u jednoj studiji, nivoi 5-HIAA su bili normalni a postignuto je 10-to godišnje preživljavanje od 100%. (181) Uloga citoreduktivne ili debulking hirurgije kod pacijenata kod kojih nije moguće ukloniti ceo tumor nije potpuno definisana i jako je malo studija koje se bave ovim problemom.

Transplantacija jetre je efikasna ali kontroverzna metoda i može se koristiti kod strogo selektovanih pacijenata (213). Embolizacija hepatske arterije, sa ili bez intraarterijske hemoterapije je povezana sa poboljšanom kontrolom simptoma i biohemijskim odgovorom kao i smanjenim opterećenjem organizma tumorskim ćelijama (214). Kod ove metode, međutim, uvek postoji rizik da nastane karcinoidna kriza, tako da je indukciono primena somatostatinskim analogima obavezna kod ovog tipa hirurške

intervencije (214,215). Najčešći citostatici koji se koriste pri hemoembolizaciji su cisplatina, doxorubicin, mitomycin. U devet studija gde su praćeni efekti hemoembolizacije postignuto je smanjenje tumorske mase kod 33-100% pacijenata. Jedna studija je pokazala dobijeno smanjenje tumorske mase od 84%. Procedura okluzije hepatičke arterije ili embolizacije nosi i određene neželjene efekte poput mučnine, povraćanja, bolova i temperature. U teže komplikacije spadaju hepatorenalni sindrom, sepsa, perforacija žučne kese ili nekroza, krvarenje, formiranje apseca, i neželjene efekte, na žalost , možemo očekivati kod oko 12% pacijenata (215).

Krioablacija i radiofrekventna ablacija se takođe mogu koristiti . Obe metode pokazuju obećavajuće rezultate vezane za citoredukciju tumorskih metastaza i imaju mesto naročito kod pacijenata kod kojih hirurško lečenje nije moguće. Krioterapija se pokazala korisnom, naročito kod postojanja simptomatskih neresektabilnih metastaza sa postignutom odličnom palijacijom kod većine pacijenata. Potencijalni rizik ove metode su moguća oštećenja bilijarnog trakta i vaskularnih struktura koje su u okolini tumora (216).

2. CILJEVI

- a) Ispitivanje razlike u ekspresiji gena za ERCC-1, Bax, Bcl2, p53 i IGF-1R, kod tipičnog i atipičnog karcinoida bronha;
- b) Korelacija između navedenih utvrđenih nivoa ekspresija gena kod tipičnog i atipičnog karcinoida bronha sa demografskim karakteristikama pacijenata, kliničkim karakteristikama tumora, vrstom lečenja kao i ukupnim preživljavanjem pacijenata;
- c) Definisanje prognostičkog značaja utvrđenih nivoa prekomerne ili smanjenje ekspresije pojedinih ispitivnih gena kod tipičnog i atipičnog karcinoida bronha, odnosno definisanje potencijalnih biomarkera

3. MATERIJAL I METODE

Pacijenti

- U ovo istraživanje uključen je ukupan broj od 52 pacijenta (26 TC i 26 AC) sa histopatološkom dijagnozom primarnog plućnog neuroendokrinog tumora koji su lečeni na Institutu za plućne bolesti u Kliničkom Centru Srbije
- Istraživanje je planirano kao kohortni tip studije.
- Ispitivani bolesnici su podeljeni u dve grupe jednake veličine: grupa koja ima tipični karcinoid bronha (26 pacijenata) i grupa sa atipičnim karcinoidom bronha (26 pacijenata).
- Zbog činjenice da se radi o veoma retkom tipu tumora kao i potrebe za dugotrajnim praćenjem ovih pacijenata, istraživanje je sprovedeno kod obolelih koji su lečeni u period od 1997. godine do 2012. Godine na Insitutu za plućne bolesti u Kliničkom Centru Srbije
- Informisani pristanak je dobijen od svih pacijenata i istraživanje je odobreno od strane Etičkog odbora Kliničkog Centra Srbije kao i od strane Kolegijuma Klinike za pulmologiju u Kliničkom Centru Srbije
- U istraživanje su uključeni samo pacijenti kod kojih je sprovedeno hirurško lečenje tumora
- Napravljena je baza podataka pacijenata i analizirani su: demografski parametri pacijenata (pol i starost pacijenata), patohistološki pod-tip tumora, kliničke manifestacije bolesti, patološki stadijum bolesti koristeći UICC (International Union Against Cancer) TNM stejdžing sistem, vrsta lečenja i ukupno preživljavanje pacijenata.

Histološke analize i imunohistohemija

- Histološki uzorci i nalaz svih uključenih pacijenata su bili pregledani od strane dva eksperta, specijalista kliničke patologije, i konsenzus mišljenja je postojao za sve patološke nalaze.

- Blokovi svakog tumora su bili odvojeni uz pripremu formalinom fiksiranih parafinskih blokova (FFPE- Formaline-fixed, paraffin-embedded) i spremljeni za dalji rad uz isecanje 4-6 listića debljine 10 µm. Delovi tumorskog tkiva su bojani rutinskom metodom hematoxylinom i eozinom i dodatno na imunohistohemijske analize.
- Dijagnoza je postavljena u skladu sa kriterijumima WHO klasifikacije za karcinome pluća (1999) gde su TC i AC jasno definisani i diferencirani (7).

RNA ekstrakcija i cDNA sinteza

- Ukupna RNA je bila ekstrahovana iz 2-5 10 µm debljine FFPE tkivnih sekcija koristeći RNeasy FFPE Kit (Qiagen) 18-hour pomoću Proteinase K procesa. RNA količina i čistoća procenjeni su spektrofotometrijski koristeći BioSpec-nano (Shimadzu Scientific Instruments). Komplementarna DNA (cDNA) je pripremljan koristeći nasumične prajmere sa RT-PCR. 2µg ukupna RNA je korišćena kao templejt za MultiScribe™ Reverse Transcriptase (50 U/µL) koristeći High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Applied Biosystems). Reakcija je bila sprovedena u krajnjem volumenu od 20 µL, koristeći sledeći program: 25°C tokom 10 min, 37°C tokom 120 min, i inaktivacija na 85°C tokom 5 min.

Quantitative Real Time PCR (qRT-PCR)

Nivoi *Bax* (RefSeq. NM_001291428.1), *Bcl2* (RefSeq. NM_000633.2), *TP53* (RefSeq. NM_000546.5), *ERCC1* (RefSeq. NM_001983.3) i *IGF1R* (RefSeq. NM_000875.4) mRNA su detektovani metodom quantitative real-time PCR (qRT-PCR) koristeći TaqMan® Gene Expression Assays i TaqMan® Gene Expression Master Mix, (Applied Biosystems). PCR reakcije su rađene na ABI Prism 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Ne-templejt kontrole su bile uključene pri svakoj amplifikaciji. Uslovi termalnog procesa su se sastojali iz inicijalno koraka denaturacije na 95°C tokom 10 min a nakon toga je sledilo 40 ciklusa denaturacije (15 sec na 95°C) i annealing/extension (1 min na 60°C) do finalnog volumena od 20 µL. Sve reakcije su rađene trostruko, i fluorescenca double stranded produkata je praćena u realnom

vremenu. Da bi se isključile varijacije koje bi bile posledice različitog inputa ukupne mRNA u reakciji, rezultati genske ekspresije su upoređivani sa internim genom, glyceraldehyde-3-phosphate dehidrogenazom (*GAPDH*, RefSeq. NM_002046.5). Podaci su analizirani koristeći klasični delta-delta-Ct metod, i rezultati su izraženi u relativnim jedinicama.

Statistička obrada

Za testiranje normalne distribucije podataka, Kolmogorov–Smirnov i Shapiro-Wilk testovi su korišćeni. Descriptivne metode statističkih analiza (frekvencija, procenti, mean, median, standardna devijacija /SD/ I opseg) su korišćeni pri sumiranju podataka. Nivo statističke značajnosti je postavljen na $\alpha=0.05$ i Bonferroni korekcija je rađena za multipla testiranja za isti set podataka. Za poređenje karakteristika bolesti I lečenja, između različitih subgrupa, Kruskal-Wallis, Wilcoxon rank sum, Pearson chi-square i Fisher exact testovi su korišćeni. Receiver Operating Characteristics curve (ROC) metod je primenjen za ispitivanje dijagnostičkog potencijala za *IGF-1R*, *p53*, *Bax*, *ERCC1*, *Bcl2* i *Bcl2/Bax* za PH podtip tumora (AC/TC)). Isti metod je korišćen i za određivanje prognostičkog potencijala za ishod bolesti (Area Under the ROC curve - AUC ROC according DeLong's method; Likelihood ratio test za AUC ROC; DeLong test za dve correlated ROC krive). Za ukupno preživljavanje - overall survival (OS) metode Survival analiza su korišćene: Kaplan-Meier product limit metod za grafičku prezentaciju; medijana sa corespondirajućem 95% confidence intervalom (95%CI) za deskripciju i Log-rank test za testiranje razlika između kriva za ukupno preživljavanje. Spearmanov rho koeficijent i model linearne regresije su korišćeni za ispitivanje linearne korelacije između ekspresija gena. Cox proporcionalna hazard regresija (univarijantna) je korišćena za procenu statistički značajnih faktora koji imaju uticaj na OS: Hazard Ratio (HR) sa korespondirajućim 95% CI je korišćen za deskripciju i Likelihood ratio test je korišćen za statističko testiranje.

Statističke analize su urađene u programu R (version 3.3.2 (2016-10-31) -- "Sincere Pumpkin Patch"; Copyright (C) 2016 The R Foundation for Statistical Computing; Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit); downloaded: January 21, 2017).

4. REZULTATI

4.1. Karakteristike ispitanika, simptomi i znaci bolesti

Ovim radom analizirali smo 52 pacijenta koji su lečeni na Institutu za pulmologiju u Kliničkom Centru Srbije u periodu od 1996. do 2007. godine. Ispitivanje je obuhvatilo podjednak broj pacijenata sa TC i AC (po 26 pacijenta). Prosečna starost ispitanika u našoj grupi je bila 49,5 godina (SD 14,55) sa medijanom od 53 godine (17 - 75 godina). Od ukupnog broja bolesnika 25 je bilo muškog pola (48,08%) i 27 pacijenata (51,92%) ženskog pola. (Tabela 4)

Tabela 4. Distribucija ispitanika prema starosti i polu (n = 52)

Karakteristika	N (%)
<i>Starost</i>	
Mean (SD)	49.5 (14.55)
Median (range)	53 (17-75)
<i>Pol</i>	
Muški	25 (48.08%)
Ženski	27 (51.92%)
Ukupno	52 (100%)

U odnosu na lokalizaciju tumora u toraksu: nije bilo razlike, sa po 26 pacijenata kod kojih je tumor bio levostrano, odnosno desnostrano u grudnom košu. Kod ukupno 25/52 pacijenta (48.08%) tumor je bio centralno lokalizovan dok je 27/52 (51.92%) pacijenata imalo periferno lokalizovan tumor. Kod svih pacijenata pre operativno je urađena bronhoskopija i kod 59,62 % (31 pacijent) endoskopski su postojali direktni znaci tumora, a kod ostalih 40,38% (21 pacijent) endoskopski indirektni znaci tumora. (Tabela 5)

Tabela 5. Distribucija ispitanika u odnosu na lokalizaciju bolesti kao i endoskopski nalaz (n = 52)

Karakteristike	N (%)
<i>Lokalizacija bolesti u toraksu</i>	
Levostrano	26 (50%)
Desnostrano	26 (50%)
<i>Lokalizacija tumora</i>	
Centralno	25 (48.08%)
Periferno	27 (51.92%)
<i>Znaci tumora (endoskopija)</i>	
Direktni	31 (59.62%)
Indirektni	21 (40.38%)
Ukupno	52 (100%)

U našoj grupi ispitanika, inicijalno najčeće prisutan simptom je bio kašalj (88,46%). Dispneja je bila drugi vodeći simptom prisutan kod 24 od 52 pacijenta (46,15%) , 20 pacijenta (38,46%) je imalo bol kao inicijalni simptom a kod po 19 pacijenata od 52 (36,54%) u trenutku postavljanja dijagnoze postojale su prisutne: hemoptizije, znaci recidivantnih pneumonija i febrilnost.

Samo 3/52 (5.77%) pacijenta su bili bez simptoma a svi ostali pacijeti (94,23%) su imali bar po jedan prezentujući simptom u trenutku postavljanja dijagnoze. U većini slučajeva simptomi su bili prisutni ili više od godinu dana pre postavljanja dijagnoze (32.69%), ili vrlo kratko, do 3 meseca pre postavljanja dijagnoze (30.77%) (Tabela 6).

Tabela 6. Distribucija ispitanika u odnosu na simptome i znake bolesti (n = 52)

Karakteristike	N (%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - recidivantne pneumonije</i>	
Ne	33 (63.46%)
Da	19 (36.54%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - bol</i>	
Ne	32 (61.54%)
Da	20 (38.46%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - dispneja</i>	
Ne	28 (53.85%)
Da	24 (46.15%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - hemoptizije</i>	
Ne	33 (63.46%)
Da	19 (36.54%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - febrilnost</i>	
Ne	33 (63.46%)
Da	19 (36.54%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - kašalj</i>	
Ne	6 (11.54%)
Da	46 (88.46%)
<i>Suma simptoma</i>	
Bez simptoma	3 (5.77%)
1 simptom	2 (3.85%)
2 simptoma	18 (34.62%)
3 simptoma	14 (26.92%)
4 simptoma	8 (15.38%)
5 simptoma	7 (13.46%)
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg – bez/sa simptomima</i>	
Ne	3 (5.77%)
Da	49 (94.23%)
<i>Početak simptoma pre postavljanja dijagnoze</i>	
Nema tegoba	3 (5.77%)
Do 3 meseca	16 (30.77%)
Do 6 meseci	9 (17.31%)
Do 12 meseci	7 (13.46%)
Preko 12 meseci	17 (32.69%)
Ukupno	52 (100%)

4.2. Operativno lečenje i stejdžing

Svi pacijenti su lečeni operativno. Kod svih pacijenata potvrđen je patohistološki karcinoid bronha. Kod najvećeg broja pacijenata rađeni su lobektomija ili bilobektomija (69.23%). Kod 11,54% pacijenata rađena je pneumonektomija a kod 19,23% pacijenata atipična resekcija.

(Tabela 7)

Nakon histopatološke i imunohistohemijske analize u skladu sa pTNM klasifikacijom većina operisanih pacijenata imala je pT2 (T2a+T2b) tumor (50% pacijenata), pT1 tumor (T1a+T1b) imalo je 36,54% pacijenata a pT3 tumor 13,46% operisanih pacijenata. U celoj grupi 63,46% pacijenata imalo je pN0 stadijum bolesti, pN1 stadijum je imalo 23,08% pacijenata i pN2 stadijum 13,46% pacijenata.

Tabela 7. Distribucija ispitanika u odnosu na vrstu operacije i PH nalaz (n = 52)

Karakteristike	N (%)
<i>Vrsta operacije</i>	
Lobektomija ili bilobektomija	36 (69.23%)
Pneumonektomija	6 (11.54%)
Atipična resekcija	10 (19.23%)
<i>PH tip</i>	
Tipični karcinoid	26 (50%)
Atipični karcinoid	26 (50%)
Ukupno	52 (100%)

Najčeći klinički stadijum je bio prvi (Ia+Ib) sa kod 51,92% pacijenata, stadijum II (IIa+IIb) kod 34,62% i kod osam pacijenata stadijum IIIa. (15,38%) (Tabela 8)

Tabela 8. Distribucija pacijenata u odnosu na klinički stadijum bolesti, pT i pN status (n = 52)

Karakteristike	N (%)
<i>p TNM klasifikacija – T</i>	
T1a	7 (13.46%)
T1b	12 (23.08%)
T2a	17 (32.69%)
T2b	9 (17.31%)
T3	7 (13.46%)
<i>p TNM klasifikacija - T (kategorije)</i>	
T1	19 (36.54%)
T2	26 (50.00%)
T3	7 (13.46%)
<i>p TNM klasifikacija – N</i>	
No	33 (63.46%)
N1	12 (23.08%)
N2	7 (13.46%)
<i>p TNM klasifikacija - N-kategorije</i>	
No (bez + nodusa)	33 (63.46%)
N1+N2+N3 (sa + nodusima)	19 (36.54%)
<i>p TNM klasifikacija – M</i>	
Mo	52 (100%)
<i>Klinički stadijum bolesti</i>	
IA	15 (28.85%)
IB	11 (21.15%)
IIA	11 (21.15%)
IIB	7 (13.46%)
IIIA	8 (15.38%)
<i>Klinički stadijum bolesti</i>	
IA + IB	26 (50.00%)
IIA + IIB	18 (34.62%)
IIIA	8 (15.38%)
Ukupno	52 (100%)

4.3. Nivoi ekspresije za IGF-1R, p53, Bax, ERCC1, Bcl2, Bcl2/Bax i njihove korelacije

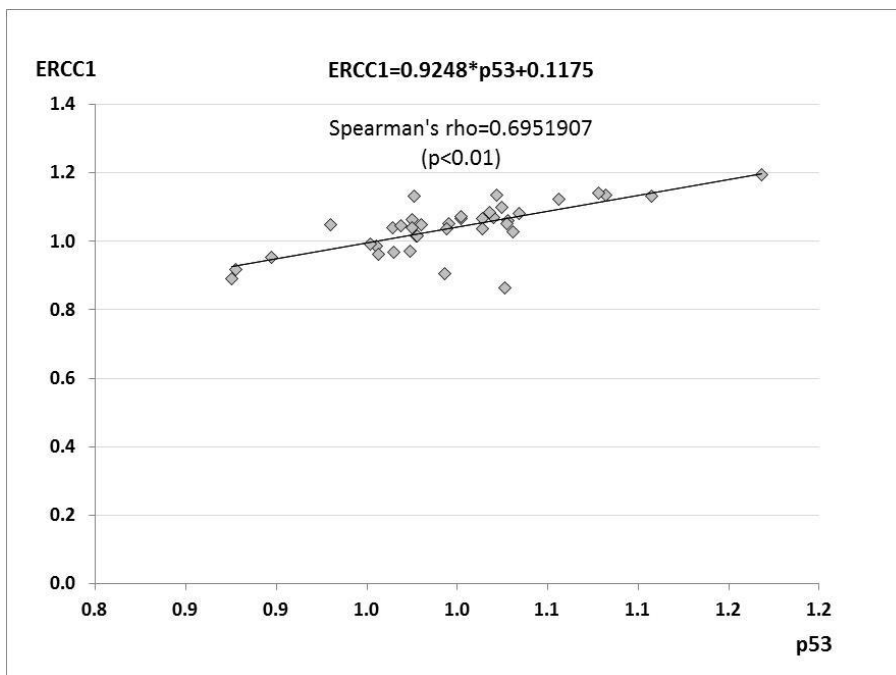
Kod 38 od 52 (73.08%) pacijenata analizirali smo nivo ekspresije za IGF-1R, p53, Bax, ERCC1, Bcl2 i Bcl2/Bax. Deskriptivne karakteristike ekspresija za IGF.1R, P53, BAX, ERCC1, Bcl2 i Bcl2/Bax su prikazane u Tabeli 9.

Analizom korelacije između parova ekspresija (bez parova sa funkcionalnim odnosom poput: Bcl2/Bax & Bcl2; Bcl2/Bax & Bax) potvrđene su relativno jake korelacije (Spearman rho blizu 0,7) između p53 & ERCC1 i Bax & ERCC1 ($p < 0.01$ u oba slučaja). (Tabela 9 i Grafikoni 1 i 2)

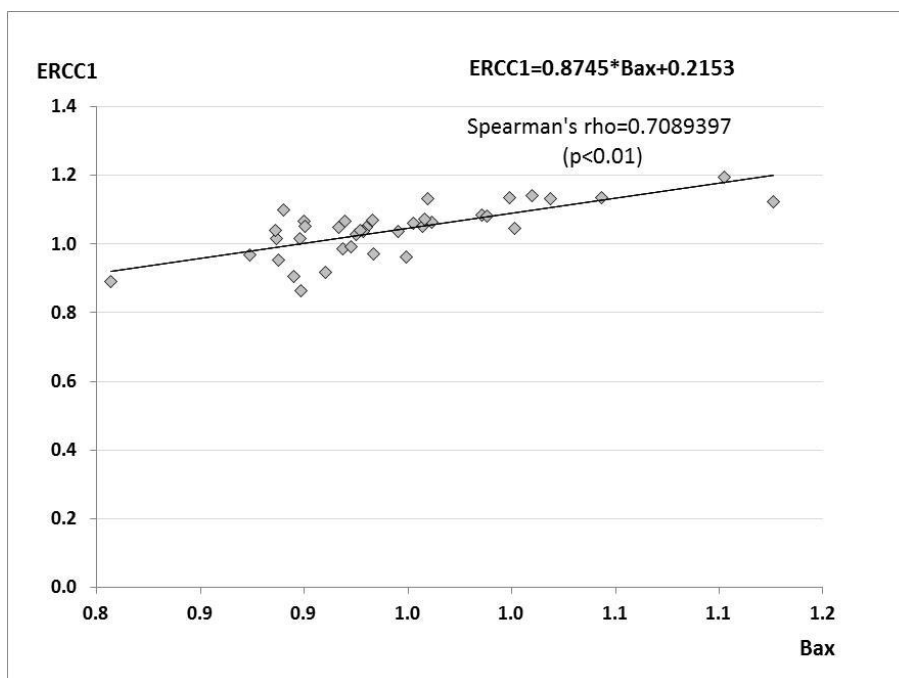
Tabela 9. Deskriptivne karakteristike ekspresija za IGF.1R, P53, BAX, ERCC1, Bcl2 i Bcl2/Bax ($n = 38$)

Karakteristike	Mean (SD)	Medijana (Opseg)
<i>Levels of expression</i>		
<i>IGF1R</i>	0.96 (0.08)	0.95 (0.78-1.14)
<i>p53</i>	1.00 (0.06)	0.99 (0.88-1.17)
<i>Bax</i>	0.94 (0.06)	0.93 (0.81-1.13)
<i>ERCC1</i>	1.04 (0.07)	1.05 (0.86-1.20)
<i>Bcl2</i>	1.16 (1.86)	0.32 (0.001-6.78)
<i>Bcl2/Bax</i>	1.20 (1.95)	0.35 (0.001-7.22)
Koorelacija	Spearman's rho*	p-vrednost
<i>Pairs of expression</i>		
<i>IGF1R and p53</i>	0.573070	<0.01
<i>IGF1R and Bax</i>	0.480906	<0.01
<i>IGF1R and ERCC1</i>	0.5275194	<0.01
<i>IGF1R and Bcl2</i>	0.2896378	ns [#]
<i>IGF1R and Bcl2/Bax</i>	0.2690666	ns [#]
<i>p53 and Bax</i>	0.5212015	<0.01
<i>p53 and ERCC1</i>	0.6951907	<0.01
<i>P53 and Bcl2</i>	0.3987525	<0.05
<i>P53 and Bcl2/Bax</i>	0.3722712	<0.05
<i>Bax and ERCC1</i>	0.7089397	<0.01
<i>Bax and Bcl2</i>	0.4953496	<0.01
<i>ERCC1 and Bcl2</i>	0.4594595	<0.01
<i>ERCC1 and Bcl2/Bax</i>	0.4294781	<0.01

* Spearman's rank correlation coefficient rho; n[#] - not statistically significant ($p > 0.05$)



Grafikon 1. Linearna regresija kao model za korelaciju između p53 i ERCC1



Grafikon 2. Linearna regresija kao model za korelaciju između Bax i ERCC1

4.4. Diskriminativni potencijal nivoa ekspresija *IGF-1R*, *p53*, *Bax*, *ERCC1*, *Bcl2* i *Bcl2/Bax*.

ROC cut-off vrednosti za *Bcl2* i *Bcl2/Bax* u odnosu na PH tip tumora (AC / TC) i ishod bolesti

Primenjujući analize Receiver Operating Characteristics kriva (ROC), ispitivali smo diskriminacioni potencijal ekspresije gena vezano za PH podtip tumora (AC / TC) kao i za ishod bolesti (mrtav/živ). Našom analizom, od svih parametara, potvrdili smo samo za *Bcl2* i *Bcl2/Bax* postojanje diskriminativnog potencijala za predviđanje PH podvrste tumora (AC u odnosu na TC; Tabela 10; Grafikon 3 i 4). Našom analizom ustanovljena je ROC cut-off vrednost od: 0.1451 za *Bcl2* i 0.3014728 za odnos *Bcl2/Bax* (Tabele 10 i 11; Grafikon 3 i 4.).

Primenjujući ROC analizu nismo potvrdili postojanje diskriminacionog potencijala za ostale nivoe ekspresija parametara: *IGF-1R*, *p53*, *Bax*, *ERCC1* u odnosu na definisanje podvrste tumora (AC / TC), kao i u odnosu na ishod lečenja.

Tabela 10. Rezultati ROC analiza za *IGF.1R*, *P53*, *BAX*, *ERCC1*, *Bcl2* i *Bacl2/Bax*

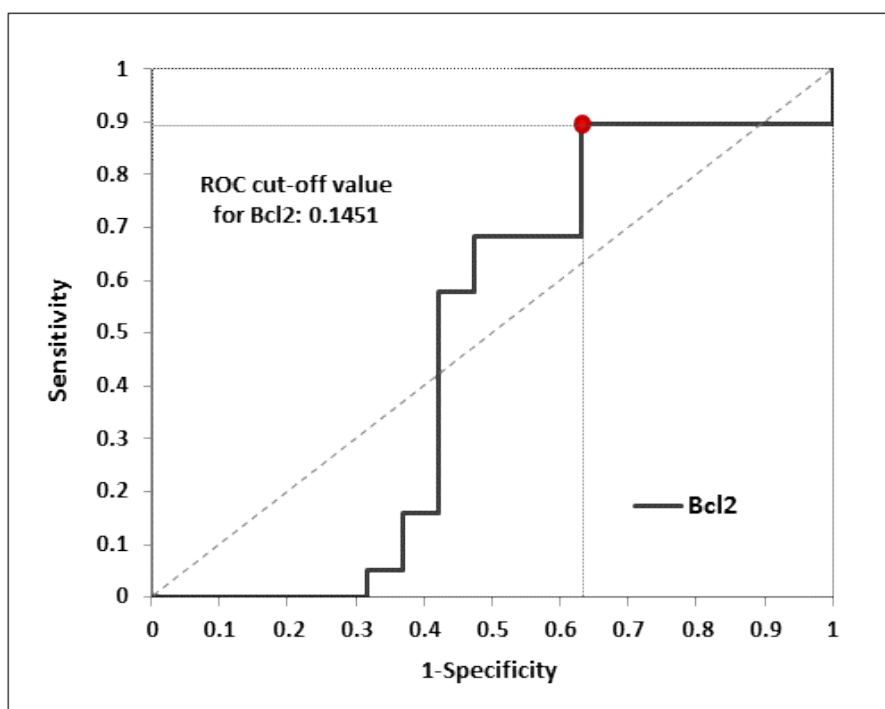
Levels of expression	PH tip (AC / TC)		Disease outcome (dead/alive)	
	AUC ROC* (95%CI)	Test**	AUC ROC* (95%CI)	Test**
IGF.1R	57.89% (38.9-76.8%)	ns [#]	47.0% (27.3-66.8%)	ns [#]
P53	57.76% (38.8-76.6%)	ns [#]	57.5% (37.7%-77.3%)	ns [#]
Bax	54% (35.1-72.9%)	ns [#]	48.9% (27.5-70.3%)	ns [#]
ERCC1	62.88% (44.7-81%)	ns [#]	56.3% (36.3-76.2%)	ns [#]
Bcl2	47.92% (27.5-68.2%)	p<0.01	53.8% (32.4-75.2%)	ns [#]
Bcl2/Bax	49.03% (28.6-69.4%)	p<0.01	54.4% (32.9-75.9%)	ns [#]

*Area Under the ROC curve (DeLong's method); **Likelihood ratio test for AUC ROC; # ns: not statistically significant ($p \geq 0.05$)

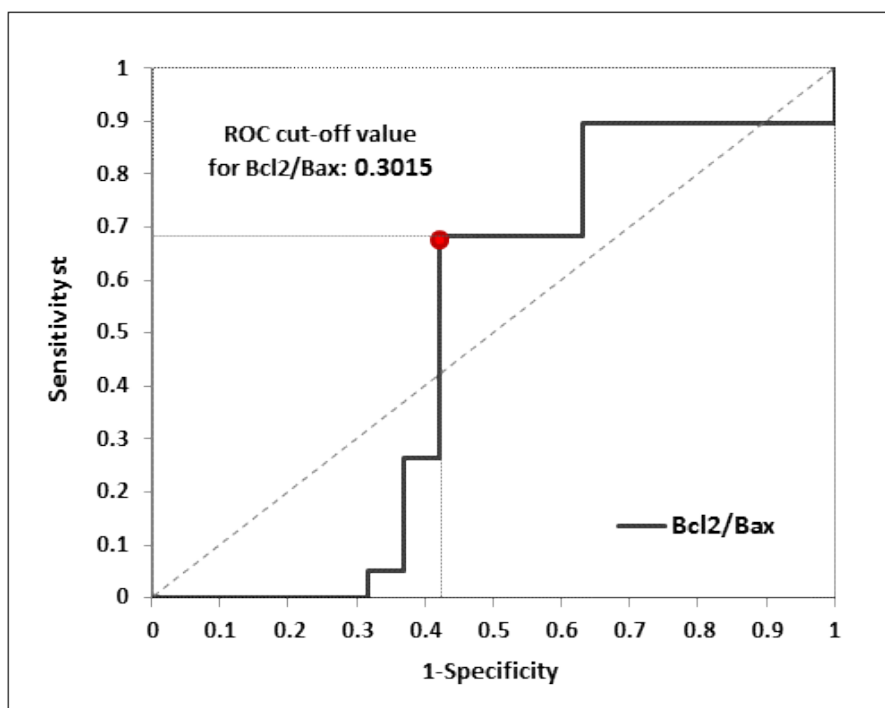
Tabela 11. Rezultati ROC analiza za *Bcl2* i *Bacl2/Bax* u odnosu na PH tip tumora (AC / TC)

Characteristics	Bcl2	Bcl2/Bax
AUC ROC* (95%CI)	47.92% (27.5-68.2%)	49.03% (28.6-69.4%)
Likelihood ratio test**	p <0.01	p <0.01
ROC-cut-off value [#]	0.1451	0.3014728
Sensitivity (95% CI)	89.5% (73.7%-100%)	68.4% (47.4%-89.5%)
Specificity (95% CI)	36.8% (15.8%-57.9%)	57.9% (36.8%-79.0%)

*Area Under the ROC curve (DeLong's method); **Likelihood ratio test for AUC ROC; #Levels of expression with maximum sensitivity and specificity



Grafikon 3. ROC kriva za Bcl2 i PH podtip tumora (AC/TC)



Grafikon 4. ROC kriva za Bcl2/Bax i PH podtip tumora (AC/TC)

4.5. Korelacije ekspresija u odnosu na kliničke parametre

4.5.1. IGF-1R

Testiranjem korelacija IGF-1R u odnosu na pol i starost nije dobijena statistička razlika ($p= 0,725$ i $p= 0,564$).

Nivoi ekspresije IGF-1R nisu se statistički razlikovali između različitih pT stadijuma ($p=0,602$) ; u odnosu na pN stadijum iako su viši nivoi ekspresije bili kod pN2 u odnosu na pN0-1 statistička razlika nije pokazana ($p= 0,440$). U odnosu na klinički stadijum (I do IIIA) nije pokazana statistička razlika u nivoima ekspresije ($p= 0,675$), kao ni u odnosu na vrstu operacije ($p= 0,793$). (Tabela 12)

Očekivano nešto viši nivoi ekspresije IGF-1R bili su kod AC u odnosu na TC ali bez pokazane statističke razlike ($p= 0,276$). Nivoi ekspresije IGF-1R nisu se razlikovali u odnosu na postojanje relapsa bolesti ($p= 0,864$).

Tabela 12. Korelacije ekspresija IGF.1R u odnosu na kliničke parametre

Characteristics	N	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Test
T in TNM stage				
T1	15	0.95 (0.06)	0.9479 (0.8705-1.075)	$\chi^2= 0.123$, $p= 0.94^*$
T2	18	0.97 (0.1)	0.9466 (0.7832-1.141)	
T3	7	0.95 (0.09)	0.9866 (0.78-1.034)	
N in TNM stage				
N0	26	0.95 (0.07)	0.9488 (0.7832-1.097)	W=173 $p=0.8119\#$
N1+N2	14	0.97 (0.1)	0.9542 (0.78-1.141)	
Clinical stage				
I (Ia+Ib)	20	0.97 (0.06)	0.9515 (0.8781-1.097)	$\chi^2= 0.785$, $p= 0.67^*$
II (IIa+IIb)	14	0.95 (0.1)	0.9406 (0.7832-1.132)	
III	6	0.97 (0.12)	0.9642 (0.78-1.141)	
Type of surgery				
Lobectomy, bilobectomy	26	0.97 (0.09)	0.9506 (0.7832-1.141)	$\chi^2= 0.462$, $p= 0.79^*$
Pneumonectomy	6	0.96 (0.06)	0.9623 (0.8663-1.034)	
Segmentectomy or atypical resection	8	0.94 (0.09)	0.9429 (0.78-1.075)	
PH type				
TC	20	0.95 (0.09)	0.9366 (0.7832-1.141)	W=159 $p= 0.276\#$
AC	20	0.97 (0.08)	0.9716 (0.78-1.097)	

* Kuskal wallis Test, # Wilcoxon rank sum test

4.5.2. p53

Testiranjem korelacija p53 u odnosu na pol nije dobijena statistička razlika ($p= 0,298$); iako su nešto više vrednosti dobijene kod pacijenata ženskog pola. Takođe nije pokazana statistička razlika u nivoima ekspresije u odnosu na starost pacijenata ($p= 0,590$).

Nivoi ekspresije p53 su bili nešto viši u nižim pT stadijumima bolesti, ali bez potvrđene statističke razlike između podtipova pT stadijuma ($p=0,066$) kao ni u odnosu na pN stadijum bolesti ($p=0,353$). U odnosu na klinički stadijum (I–IIIa) nije potvrđena statistička razlika u nivoima ekspresije ($p=0,063$); iako su nešto više vrednosti bile u stadijumu I. U odnosu na vrstu operacije nešto više vrednosti ekspresija p53 su bile kod pacijenata sa urađenom lobektomijom ($p=0,348$). (Tabela 13)

Očekivano nešto viši nivoi ekspresije bili su kod TC u odnosu na AC ali bez pokazane statističke razlike ($p=0,448$). Nivoi ekspresije p53 nisu se razlikovali u odnosu na postojanje relapse bolesti ($p=0,340$).

Tabela 13. Korelacije ekspresija p53 u odnosu na kliničke parametre

Characteristics	N	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Test
T in TNM stage				
T1	15	0.99 (0.06)	0.9955 (0.8777-1.082)	$\chi^2_2=2.22$, $p=0.329^*$
T2	18	1.02 (0.06)	1.014 (0.9521-1.168)	
T3	7	0.97 (0.05)	0.9764 (0.8754-1.027)	
N in TNM stage				
N0	26	1 (0.04)	1.008 (0.8976-1.082)	W=218 $p=0.314\#$
N1+N2	14	0.99 (0.08)	0.975 (0.8754-1.168)	
Clinical stage				
I (Ia+Ib)	20	1.01 (0.04)	1.019 (0.8976-1.082)	$\chi^2_2=5.514$, $p=0.063^*$
II (IIa+IIb)	14	0.98 (0.05)	0.9744 (0.8777-1.107)	
III	6	1 (0.1)	0.9894 (0.8754-1.168)	
Type of surgery				
Lobectomy, bilobectomy	26	1.01 (0.06)	0.9948 (0.8777-1.168)	$\chi^2_2=2.108$, $p=0.348^*$
Pneumonectomy	6	0.98 (0.03)	0.9706 (0.9521-1.027)	
Segmentectomy or atypical resection	8	1 (0.05)	1.016 (0.8754-1.048)	
PH type				
TC	20	1.01 (0.07)	1.016 (0.8777-1.168)	W=228.5 $p=0.448\#$
AC	20	0.99 (0.05)	0.9938 (0.8754-1.078)	

* Kuskal wallis Test, # Wilcoxon rank sum test

4.5.3. ERCC 1

Testiranjem korelacija ERCC1 u odnosu na pol nije dobijena statistička razlika ($p=0,370$); iako su nešto više vrednosti dobijene kod pacijenata ženskog pola. Takođe nije pokazana statistička razlika u nivoima ekspresije u odnosu na starost pacijenata ($p=0,600$).

Nivoi ekspresije ERCC1 su bili nešto viši u nižim pT stadijumima bolesti, ali bez potvrđene statističke razlike između podtipova pT stadijuma ($p=0,107$) kao ni u odnosu na pN stadijum bolesti ($p=0,218$). U odnosu na klinički stadijum (I–IIIa) nije potvrđena statistička razlika u nivoima ekspresije ($p=0,453$). U odnosu na vrstu operacije nešto

više vrednosti ekspresija ERCC1 su bile kod pacijenata sa urađenom lobektomijom ili bilobektomijom ($p= 0,830$).Tabela 14

Očekivano nešto viši nivoi ekspresije bili su kod TC u odnosu na AC ali bez pokazane statističke razlike ($p= 0,182$). Nivoi ekspresije ERCC1 nisu se razlikovali u odnosu na postojanje relapse bolesti ($p= 0,689$).

Tabela 14. Korelacije ekspresija ERCC1 u odnosu na kliničke parametre

Characteristics	N	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Test
T in TNM stage				
T1	15	1.02 (0.08)	1.049 (0.8638-1.136)	$\chi^2_2= 1.33$, $p= 0.514^*$
T2	18	1.06 (0.06)	1.062 (0.9676-1.196)	
T3	7	1.03 (0.08)	1.052 (0.8898-1.131)	
N in TNM stage				
N0	26	1.05 (0.07)	1.05 (0.8638-1.142)	W=192 $p=0.79\#$
N1+N2	14	1.04 (0.09)	1.049 (0.8898-1.196)	
Clinical stage				
I (Ia+Ib)	20	1.05 (0.07)	1.056 (0.8638-1.142)	$\chi^2_2= 1.58$, $p= 0.453^*$
II (IIa+IIb)	14	1.03 (0.06)	1.04 (0.9183-1.133)	
III	6	1.05 (0.11)	1.062 (0.8898-1.196)	
Type of surgery				
Lobectomy, bilobectomy	26	1.04 (0.08)	1.049 (0.8638-1.196)	$\chi^2_2= 0.371$, $p= 0.83^*$
Pneumonectomy	6	1.03 (0.06)	1.022 (0.9676-1.131)	
Segmentectomy or atypical resection	8	1.05 (0.07)	1.066 (0.8898-1.066)	
PH type				
TC	20	1.06 (0.07)	1.062 (0.9183-1.196)	W=250 $p= 0.182\#$
AC	20	1.02 (0.08)	1.04 (0.8638-1.142)	

* Kuskal wallis Test, # Wilcoxon rank sum test

4.5.4. Bax

Testiranjem korelacija Bax u odnosu na pol nije dobijena statistička razlika ($p= 0,328$); iako su nešto više vrednosti dobijene kod pacijenata ženskog pola. Takođe nije pokazana statistička razlika u nivoima ekspresije u odnosu na starost pacijenata ($p= 0,698$).

Nivoi ekspresije Bax su bili nešto viši u nižim pT stadijumima bolesti, ali bez potvrđene statističke razlike između podtipova pT stadijuma ($p=0,110$) kao ni u odnosu na pN stadijum bolesti ($p= 0,726$). U odnosu na klinički stadijum (I –IIIA) nije potvrđena statistička razlika u nivoima ekspresije ($p= 0,590$); iako su nešto više vrednosti bile u stadijumu I. U odnosu na vrstu operacije nešto više vrednosti ekspresija Bax su bile kod pacijenata sa urađenom lobektomijom ili bilobektomijom ($p= 0,183$). (Tabela 15)

Očekivano nešto viši nivoi ekspresije bili su kod TC u odnosu na AC ali bez pokazane statističke razlike ($p= 0,678$). Nivoi ekspresije Bax nisu se razlikovali u odnosu na postojanje relapse bolesti ($p= 0,977$).

Tabela 15. Korelacije ekspresija Bax u odnosu na kliničke parametre

Characteristics	N	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Test
T in TNM stage				
T1	15	0.94 (0.05)	0.925 (0.8867-1.043)	$\chi^2_2= 5.61$, $p= 0.06^*$
T2	18	0.97 (0.07)	0.949 (0.8737-1.126)	
T3	7	0.9 (0.05)	0.9004 (0.8067-0.9594)	
N in TNM stage				
N0	26	0.94 (0.05)	0.9293 (0.8863-1.126)	W=176 $p=0.877^{\#}$
N1+N2	14	0.94 (0.07)	0.9414 (0.8067-1.102)	
Clinical stage				
I (Ia+Ib)	20	0.95 (0.06)	0.939 (0.8867-1.126)	$\chi^2_2= 1.05$, $p= 0.59^*$
II (IIa+IIb)	14	0.93 (0.05)	0.9228 (0.8737-1.018)	
III	6	0.94 (0.1)	0.9402 (0.8067-1.102)	
Type of surgery				
Lobectomy, bilobectomy	26	0.96 (0.06)	0.933 (0.8867-1.126)	$\chi^2_2= 3.39$, $p= 0.183^*$
Pneumonectomy	6	0.91 (0.03)	0.9094 (0.8737-0.9594)	
Segmentectomy or atypical resection	8	0.92 (0.06)	0.949 (0.8067-0.9856)	
PH type				
TC	20	0.95 (0.06)	0.9314 (0.8867-1.102)	W=216 $p= 0.67^{\#}$
AC	20	0.94 (0.06)	0.931 (0.8067-1.126)	

* Kuskal wallis Test, # Wilcoxon rank sum test

4.5.5. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na kliničke parametre (za ROC analizom dobijenu cut off vrednost 0,145 za Bcl2)

Prethodno primenjujući analize Receiver Operating Characteristics kriva (ROC) za ispitivanje diskriminacionog potencijala uticaja na PH tip tumora (AC / TC) i na ishod bolesti (mrtav/živ), potvrdili smo diskriminacioni potencijal za Bcl2 i za PH podvrstu tumora (AC u odnosu na TC; Tabele 10 i 11, Grafikoni 3 i 4). Našom analizom ustanovljena je ROC cut-off vrednost od: 0.1451 za Bcl2.

Daljim testiranjem ustanovljene cut off Bcl vrednosti u odnosu na kliničke parametre, (za cut off vrednost od 0,145) dobijeni su sledeći rezultati:

- Testiranjem korelacija Bcl2 u odnosu na godine pacijenata pokazana je statistička razlika ($p= 0,02$) niže vrednosti Bcl2 ekspresija (Bcl2 cut off < 0,145) imali su mlađi pacijenti. (Tabela 16)

Tabela 16. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na demografske karakteristike

Starost	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Wilcoxon rank sum test
<i>Bcl2 – kategorije</i>			
Bcl2≤0.1451	39.89 (19.27)	40 (17-75)	W= 65.5
Bcl2>0.1451	53.34 (12.7)	50 (22-72)	p= 0.02671

Testiranjem Bcl2 ekspresija u odnosu na na pol nije dobijena statistička razlika ($p= 1$); iako su više vrednosti dobijene češće kod pacijenata ženskog pola. (Tabela 17)

U odnosu na hemitoraks kao i endoskopski nalaz nije pokazana statistička razlika u nivoima ekspresije Bcl2, pacijenti sa periferno lokalizovanim tumorom su nešto češće imali niže (Bcl2 cut off <0,145) vrednosti Bcl2 ekspresija ($p= 0,45$). (Tabela 17)

U odnosu na kliničku sliku više vrednosti (Bcl2 cut off >0,145) ekspresija imali su pacijenti sa postojanjem bola, dispneje, hemoptizija i kašlja u trenutku postavljanja dijagnoze (bez pokazane statističke razlike) kao I statistički pokazano češće pacijenti koji inicijalno nisu imali recidivantne pneumonije ili febrilnost ($p= 0,009$). (Tabela 17)

Tabela 17. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na prezentaciju ,simptome i znake bolesti

Karakteristike	Bcl2 - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2<=0.1451	Bcl2>0.1451		
<i>Pol</i>				
Muški	7 (77.78%)	12 (41.38%)	19 (50%)	p= 1
Ženski	2 (22.22%)	17 (58.62%)	19 (50%)	
<i>Lokalizacija bolesti u toraksu</i>				
Levostrano	5 (55.56%)	13 (44.83%)	18 (47.37%)	p= 0.70896
Desnostrano	4 (44.44%)	16 (55.17%)	20 (52.63%)	
<i>Lokalizacija tumora</i>				
Centralno	3 (33.33%)	15 (51.72%)	18 (47.37%)	p= 0.4543
Periferno	6 (66.67%)	14 (48.28%)	20 (52.63%)	
<i>Znaci tumora</i>				
Direktni	5 (55.56%)	17 (58.62%)	22 (57.89%)	p= 1
Indirektni	4 (44.44%)	12 (41.38%)	16 (42.11%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - recidivantne pneumonije</i>				
Ne	4 (44.44%)	23 (79.31%)	27 (71.05%)	p= 0.08751
Da	5 (55.56%)	6 (20.69%)	11 (28.95%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - bol</i>				
Ne	7 (77.78%)	17 (58.62%)	24 (63.16%)	p= 0.43844
Da	2 (22.22%)	12 (41.38%)	14 (36.84%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - dispneja</i>				
Ne	5 (55.56%)	14 (48.28%)	19 (50%)	p= 1
Da	4 (44.44%)	15 (51.72%)	19 (50%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - hemoptizije</i>				
Ne	7 (77.78%)	19 (65.52%)	26 (68.42%)	p= 0.68928
Da	2 (22.22%)	10 (34.48%)	12 (31.58%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - febrilnost</i>				
Ne	3 (33.33%)	24 (82.76%)	27 (71.05%)	p= 0.00903
Da	6 (66.67%)	5 (17.24%)	11 (28.95%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - kašalj</i>				
Ne	2 (22.22%)	3 (10.34%)	5 (13.16%)	p= 0.57413
Da	7 (77.78%)	26 (89.66%)	33 (86.84%)	
Ukupno	9 (100%)	29 (100%)	38 (100%)	

Iako bez potvrđene statističke značajnosti pacijenti sa nižim vrednostima ekspresija Bcl2 (Bcl2 cut off < 0,145) češće su imali duže od godinu dana proteklo vreme od nastanka simptoma do javljanja lekaru (55,5%) , dok su pacijenti sa višim nivoima ekspresije Bcl2 (Bcl2 cut off >0,145) češće imali dužinu trajanja simptoma manje od tri meseca (34,45%) (p= 0,43). (Tabela 18)

Tabela 18. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na broj i trajanje simptoma

Karakteristike	Bcl2 - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2≤0.1451	Bcl2>0.1451		
<i>Suma simptoma</i>				
Bez simptoma	0 (0%)	2 (6.9%)	2 (5.26%)	p= 0.99999
1 simptom	0 (0%)	2 (6.9%)	2 (5.26%)	
2 simptoma	4 (44.44%)	11 (37.93%)	15 (39.47%)	
3 simptoma	3 (33.33%)	8 (27.59%)	11 (28.95%)	
4 simptoma	1 (11.11%)	4 (13.79%)	5 (13.16%)	
5 simptoma	1 (11.11%)	2 (6.9%)	3 (7.89%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg – bez/sa simptomima</i>				
Ne	0 (0%)	2 (6.9%)	2 (5.26%)	p= 1
Da	9 (100%)	27 (93.1%)	36 (94.74%)	
<i>Početak simptoma pre postavljanja dijagnoze</i>				
Nema tegoba	0 (0%)	2 (6.9%)	2 (5.26%)	p= 0.4300006
Do 3 meseca	3 (33.33%)	10 (34.48%)	13 (34.21%)	
Do 6 meseci	0 (0%)	6 (20.69%)	6 (15.79%)	
Do 12 meseci	1 (11.11%)	3 (10.34%)	4 (10.53%)	
Preko 12 meseci	5 (55.56%)	8 (27.59%)	13 (34.21%)	
Ukupno	9 (100%)	29 (100%)	38 (100%)	

Niži Nivoi ekspresije Bcl-2 (Bcl2 cut off < 0,145) su bili nešto češći u nižim pT stadijumima bolesti (55,5% u pT1) a viši nivoi ekspresije (Bcl2 cut off > 0,145) u pT3 (24,14%) ali bez potvrđene statističke razlike između podtipova pT stadijuma (p=0,24) kao ni u odnosu na pN stadijum bolesti (p= 0,669). U odnosu na klinički stadijum (I – IIIA) nije potvrđena statistička razlika u nivoima ekspresije (p= 0,79); iako su nešto više vrednosti Bcl2 (Bcl2 cut off > 0,145) bile u višim stadijumima (IIb I IIIa). (Tabela 19)

Tabela 19. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na patološki stadijum bolesti

Karakteristike	Bcl2 - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2≤0.1451	Bcl2>0.1451		
<i>p</i> TNM klasifikacija – T				
T1a	2 (22.22%)	3 (10.34%)	5 (13.16%)	p= 0.45293
T1b	3 (33.33%)	6 (20.69%)	9 (23.68%)	
T2a	2 (22.22%)	8 (27.59%)	10 (26.32%)	
T2b	2 (22.22%)	5 (17.24%)	7 (18.42%)	
T3	0 (0%)	7 (24.14%)	7 (18.42%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija - T (kategorije)				
T1	5 (55.56%)	9 (31.03%)	14 (36.84%)	p= 0.24959
T2	4 (44.44%)	13 (44.83%)	17 (44.74%)	
T3	0 (0%)	7 (24.14%)	7 (18.42%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija – N				
No	5 (55.56%)	19 (65.52%)	24 (63.16%)	p= 0.85137
N1	3 (33.33%)	6 (20.69%)	9 (23.68%)	
N2	1 (11.11%)	4 (13.79%)	5 (13.16%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija - N-kategorije				
No (bez + nodusa)	5 (55.56%)	19 (65.52%)	24 (63.16%)	p= 0.69945
N1+N2+N3 (sa + nodusima)	4 (44.44%)	10 (34.48%)	14 (36.84%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija – M				
Mo	9 (100%)	29 (100%)	38 (100%)	-
<i>Inicijalni klinički stadijum</i>				
IA	3 (33.33%)	8 (27.59%)	11 (28.95%)	p= 0.79377
IB	1 (11.11%)	6 (20.69%)	7 (18.42%)	
IIA	3 (33.33%)	4 (13.79%)	7 (18.42%)	
IIB	1 (11.11%)	6 (20.69%)	7 (18.42%)	
IIIA	1 (11.11%)	5 (17.24%)	6 (15.79%)	
<i>Inicijalni klinički stadijum-kategorije</i>				
IA + IB	4 (44.44%)	14 (48.28%)	18 (47.37%)	p= 0.88521
IIA + IIB	4 (44.44%)	10 (34.48%)	14 (36.84%)	
IIIA	1 (11.11%)	5 (17.24%)	6 (15.79%)	
Ukupno	9 (100%)	29 (100%)	38 (100%)	

U odnosu na vrstu operacije nije potvrđena statistička razlika između nivoa ekspresije iako su više vrednosti ekspresija Bcl2 (Bcl2 cut off > 0,145) bile kod pacijenata sa urađenom pneumonektomijom ili atipičnom resekcijom (p= 0,86).

Očekivano niži nivoi ekspresije Bcl2 (Bcl2 cut off < 0,145) dominirali su kod pacijenata sa TC (77,7%) u odnosu na pacijente sa AC gde je većina pacijenata (58,62%) imala vrednosti Bcl2 ekspresija veće od 0,14 ali bez pokazane statističke razlike (p= 0,124). (Tabela 20)

Tabela 20. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na vrstu operacije i PH tip tumora

Karakteristike	Bcl2 - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2≤0.1451	Bcl2>0.1451		
<i>Vrsta operacije</i>				
Lobektomija ili bilobektomija	7 (77.78%)	18 (62.07%)	25 (65.79%)	p= 0.86311
Pneumonektomija	1 (11.11%)	5 (17.24%)	6 (15.79%)	
Atipična resekcija	1 (11.11%)	6 (20.69%)	7 (18.42%)	
<i>PH tip</i>				
Tipični karcinoid	7 (77.78%)	12 (41.38%)	19 (50%)	p= 0.12446
Atipični karcinoid	2 (22.22%)	17 (58.62%)	19 (50%)	
Ukupno	9 (100%)	29 (100%)	38 (100%)	

Iako su pacijenti sa relapsom bolesti nešto češće imali više vrednosti Bcl2 ekspresija (Bcl2 cut off > 0,145) , nije pokazana statistička razlika (p = 1). (Tabela 21)

Tabela 21. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na relaps bolesti

Karakteristike	Bcl2 - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2≤0.1451	Bcl2>0.1451		
<i>Ralaps ili progresija bolesti</i>				
Bez relapsa ili progresije bolesti	6 (66.67%)	19 (65.52%)	25 (65.79%)	p= 1
Sa relapsom ili progresijom bolesti	3 (33.33%)	10 (34.48%)	13 (34.21%)	
<i>Status za ukupno preživljavanje</i>				
Živ	6 (66.67%)	19 (65.52%)	25 (65.79%)	p= 1
Mrtav	3 (33.33%)	10 (34.48%)	13 (34.21%)	
Ukupno	9 (100%)	29 (100%)	38 (100%)	

U našoj studiji pacijenti sa nižim nivoima ekspresije Bcl2 (Bcl2 ≤ 0,145) imali su duže srednje preživljavanje kao i medijane preživljavanja u odnosu na pacijente sa višim nivoom ekspresije (u odnosu na cut-off vrednost; Bcl2 > 0.145), koji su imali kraće srednje preživljavanje kao i medijanu preživljavanja. (Tabela 22)

Tabela 22. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na medijanu preživljavanja

Preživljavanje	Mean (SD)	Medijana (Opseg)
<i>Bcl2 – kategorije</i>		
Bcl2≤0.1451	141.5 (47.32)	149.7 (31.13 - 202.8)
Bcl2>0.1451	97 (64.31)	93.04 (1.12 -236.6)

Kod 38 od 52 (73.08%) pacijenata analizirali smo nivoe ekspresije za IGF-1R, p53, Bax i ERCC1 u odnosu na kategorije Bcl2 (u odnosu na cut off vrednost od 0,145). Deskriptivne karakteristike ekspresija za *IGF.1R*, *P53*, *BAX* i *ERCC1* u odnosu na kategorije Bcl2 su prikazane u Tabeli 23.

Za nivoe ekspresija IGF-1R, Bax i ERCC1 u odnosu na različite kategorije Bcl2 (Roc cut off vrednost 0,145) nije pokazano postojanje statističke razlike. Iako statistička razlika nije dostignuta ($p = 0,07$) za p53, pacijenti sa $Bcl2 > 0,145$ imali su češće više nivoe ekspresije p53 . (Tabela 23)

Tabela 23. Testiranje Bcl2 kategorija u odnosu na ekspresije IGF1-R, p53, Bax i ERCC1

Karakteristike	Bcl2 - kategorije				Wilcoxon rank sum test
	Bcl2≤0.1451		Bcl2>0.1451		
	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	
IGF1R	0.94 (0.05)	0.9375 (0.8558-1.033)	0.96 (0.09)	0.9677 (0.78-1.141)	W= 103 p= 0.360278
p53	0.97 (0.04)	0.9775 (0.8777-1.025)	1.01 (0.06)	1.002 (0.8754-1.168)	W= 78 p= 0.07417
Bax	0.92 (0.03)	0.9165 (0.8867-1.002)	0.95 (0.07)	0.9453 (0.8067-1.126)	W= 88 p= 0.15167
ERCC1	1.03 (0.05)	1.047 (0.9183-1.1)	1.04 (0.08)	1.052 (0.8638-1.196)	W= 107 p= 0.43644

4.5.6. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na kliničke parameter (za ROC analizom dobijenu cut off vrednost 0,301 za Bcl2/Bax)

Prethodno primenjujući analize Receiver Operating Characteristics kriva (ROC) za ispitivanje diskriminacionog potencijala uticaja na PH tip tumora (AC / TC) na ishod bolesti (mrtav/živ), potvrdili smo diskriminacioni potencijal za Bcl2/Bax odnos za PH podvrstu tumora (AC u odnosu na TC) (Tabele 10 i 11, Grafikoni 3 i4). Našom analizom ustanovljena je ROC cut-off vrednost od: 0.301 za odnos Bcl2/Bax .

Daljim testiranjem kategorija za Bcl2/Bax (za cut off vrednost od 0,301) u donosu na kliničke parametre dobijeni su sledeći rezultati:

Testiranjem korelacija Bcl2/ Bax (za Bcl2/Bax cut off 0,301) u odnosu na godine pacijenata iako nije pokazana statistička razlika ($p= 0,08$) a češće vrednosti Bcl2/Bax < 0,301 imali su mlađi pacijenti (prosečno za 9 godina). (Tabela 24)

Tabela 24. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na demografske karakteristike

Starost	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Wilcoxon rank sum test
<i>Bcl2/Bax – kategorije</i>			
Bax≤0.3014728	45.12 (17.54)	48 (17-75)	W= 120
Bax>0.3014728	54.24 (12.31)	55 (24-72)	p= 0.08843

Testiranjem kategorija Bcl2/Bax ekspresija u odnosu na na pol nije dobijena statistička razlika ($p= 0,57$); Tabela 25.

U odnosu na lokalizaciju u hemitoraksu, iako nije pokazana statistička značajnost, Bcl2/Bax < 0,301 imali su češće pacijenti sa levostrano lokalizovanim tumorom (52,9%) ($p= 0,53$) kao i pacijenti sa periferno lokalizovanim tumorom (58,8%) ($p=0,49$). U odnosu na endoskopski nalaz nije bilo razlika za različite kategorije Bcl2/Bax ($p= 0,91$). (Tabela 25)

U odnosu na kliničku sliku u trenutku postavljanja dijagnoze Bcl2/Bax > 0,301 imali su statistički češće, pacijenti bez postojanja febrilnosti (85,7% ; $p= 0,03$) I recidivantnih pneumonija (85,7% ; $p= 0,03$). I pacijenti koji su inicijalno imali dispneju ($p= 0,74$) ali bez statističke značajnosti, imali su češće Bcl2/Bax > 0,310. (Tabela 25)

Tabela 25. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na prezentaciju simptome i znake bolesti

Karakteristike	Bcl2/Bax - kategorije		Ukupno	Test
	Bcl2/Bax≤0.3014728	Bcl2/Bax>0.3014728		
<i>Pol</i>				
Muški	8 (47.06%)	8 (38.1%)	16 (42.11%)	* $\chi^2_1 = 0.309$, p= 0.5778
Ženski	9 (52.94%)	13 (61.9%)	22 (57.89%)	
<i>Lokalizacija bolesti u toraksu</i>				
Levostrano	9 (52.94%)	9 (42.86%)	18 (47.37%)	* $\chi^2_1 = 0.383$, p=0.5358
Desnostrano	8 (47.06%)	12 (57.14%)	20 (52.63%)	
<i>Lokalizacija tumora</i>				
Centralno	7 (41.18%)	11 (52.38%)	18 (47.37%)	* $\chi^2_1 = 0.473$, p= 0.4915
Periferno	10 (58.82%)	10 (47.62%)	20 (52.63%)	
<i>Znaci tumora</i>				
Direktni	10 (58.82%)	12 (57.14%)	22 (57.89%)	* $\chi^2_1 = 0.011$, p= 0.9169
Indirektni	7 (41.18%)	9 (42.86%)	16 (42.11%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - recidivantne pneumonije</i>				
Ne	9 (52.94%)	18 (85.71%)	27 (71.05%)	# p= 0.0367
Da	8 (47.06%)	3 (14.29%)	11 (28.95%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - bol</i>				
Ne	14 (82.35%)	10 (47.62%)	24 (63.16%)	# p= 0.04318
Da	3 (17.65%)	11 (52.38%)	14 (36.84%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - dispneja</i>				
Ne	9 (52.94%)	10 (47.62%)	19 (50%)	* $\chi^2_1 = 0.106$, p= 0.7442
Da	8 (47.06%)	11 (52.38%)	19 (50%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - hemoptizije</i>				
Ne	11 (64.71%)	15 (71.43%)	26 (68.42%)	* $\chi^2_1 = 0.196$, p= 0.6575
Da	6 (35.29%)	6 (28.57%)	12 (31.58%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - febrilnost</i>				
Ne	9 (52.94%)	18 (85.71%)	27 (71.05%)	# p= 0.0367
Da	8 (47.06%)	3 (14.29%)	11 (28.95%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - kašalj</i>				
Ne	2 (11.76%)	3 (14.29%)	5 (13.16%)	# p= 1
Da	15 (88.24%)	18 (85.71%)	33 (86.84%)	
Ukupno	17 (100%)	21 (100%)	38 (100%)	

* Pearson χ^2 Test, # Fisher Exact Test

Bcl2/Bax < 0,301 imali su statistički češće pacijenti inicijalno bez postojanja bola (p= 0,04). Nije bilo razlike između kategorije Bcl2/Bax u odnosu na inicijalno broj simptoma (p= 0,68) ili proteklo vreme od nastanka simptoma do javljanja lekaru (p= 0,72). Tabela 26.

Tabela 26. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na broj i trajanje simptoma

Karakteristike	Bcl2/Bax - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2/Bax≤0.3014728	Bcl2/Bax>0.3014728		
<i>Suma simptoma</i>				
Bez simptoma	0 (0%)	2 (9.52%)	2 (5.26%)	p=0.68213
1 simptom	0 (0%)	2 (9.52%)	2 (5.26%)	
2 simptoma	8 (47.06%)	7 (33.33%)	15 (39.47%)	
3 simptoma	5 (29.41%)	6 (28.57%)	11 (28.95%)	
4 simptoma	3 (17.65%)	2 (9.52%)	5 (13.16%)	
5 simptoma	1 (5.88%)	2 (9.52%)	3 (7.89%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg – bez/sa simptomima</i>				
Ne	0 (0%)	2 (9.52%)	2 (5.26%)	p= 0.49217
Da	17 (100%)	19 (90.48%)	36 (94.74%)	
<i>Početak simptoma pre postavljanja dijagnoze</i>				
Nema tegoba	0 (0%)	2 (9.52%)	2 (5.26%)	p= 0.7256
Do 3 meseca	7 (41.18%)	6 (28.57%)	13 (34.21%)	
Do 6 meseci	3 (17.65%)	3 (14.29%)	6 (15.79%)	
Do 12 meseci	1 (5.88%)	3 (14.29%)	4 (10.53%)	
Preko 12 meseci	6 (35.29%)	7 (33.33%)	13 (34.21%)	
Ukupno	17 (100%)	21 (100%)	38 (100%)	

U našoj grupi, Bcl-2/Bax < 0,301 su i statistički češće imali pacijenti sa nižim pT stadijumima bolesti (p= 0,003) . Iako bez statističke potvrde, u odnosu na pN stadijum bolesti Bcl2/Bax > 0,301 su češće imali pacijenti sa pN2 (p= 0,45). (Tabela 27)

U odnosu na klinički stadijum (I –IIIA) nije potvrđena statistička razlika vezano za Bcl2/Bax cut off vrednost 0,301 (p= 0,14); ali su pacijenti sa Bcl2/Bax >0,301 češće imali više stadijume bolesti (IIb I IIIa). (Tabela 27)

Tabela 27. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na patološki stadijum bolesti

Karakteristike	Bcl2/Bax - kategorije		Ukupno	Test
	Bcl2/Bax ≤ 0.3014728	Bcl2/Bax > 0.3014728		
<i>p</i> TNM klasifikacija – T				
T1a	3 (17.65%)	2 (9.52%)	5 (13.16%)	#p= 0.0036
T1b	8 (47.06%)	1 (4.76%)	9 (23.68%)	
T2a	3 (17.65%)	7 (33.33%)	10 (26.32%)	
T2b	3 (17.65%)	4 (19.05%)	7 (18.42%)	
T3	0 (0%)	7 (33.33%)	7 (18.42%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija - T (kategorije)				
T1	11 (64.71%)	3 (14.29%)	14 (36.84%)	#p= 0.00118
T2	6 (35.29%)	11 (52.38%)	17 (44.74%)	
T3	0 (0%)	7 (33.33%)	7 (18.42%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija – N				
No	11 (64.71%)	13 (61.9%)	24 (63.16%)	#p= 0.45079
N1	5 (29.41%)	4 (19.05%)	9 (23.68%)	
N2	1 (5.88%)	4 (19.05%)	5 (13.16%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija - N-kategorije				
No (bez + nodusa)	11 (64.71%)	13 (61.9%)	24 (63.16%)	* $\chi^2_1 = 0.031$, p= 0.85873
N1+N2+N3 (sa + nodusima)	6 (35.29%)	8 (38.1%)	14 (36.84%)	
<i>p</i> TNM klasifikacija – M				
Mo	17 (100%)	21 (100%)	38 (100%)	-
Inicijalni klinički stadijum				
IA	8 (47.06%)	3 (14.29%)	11 (28.95%)	#p= 0.14541
IB	2 (11.76%)	5 (23.81%)	7 (18.42%)	
IIA	4 (23.53%)	3 (14.29%)	7 (18.42%)	
IIB	2 (11.76%)	5 (23.81%)	7 (18.42%)	
IIIA	1 (5.88%)	5 (23.81%)	6 (15.79%)	
Inicijalni klinički stadijum-kategorije				
IA + IB	10 (58.82%)	8 (38.1%)	18 (47.37%)	#p= 0.28269
IIA + IIB	6 (35.29%)	8 (38.1%)	14 (36.84%)	
IIIA	1 (5.88%)	5 (23.81%)	6 (15.79%)	
Ukupno	17 (100%)	21 (100%)	38 (100%)	

* Pearson χ^2 Test, # Fisher Exact Test

U odnosu na vrstu operacije nije potvrđena statistička razlika vezano za Bcl2/Bax cut off vrednost (p= 0,13). (Tabela 28)

Očekivano Bcl2/Bax < 0,301 češće su imali pacijenti sa TC (64,71 %) u odnosu na pacijente sa AC gde je većina pacijenata imala Bcl2/Bax > 0,301 (61,9%) ; u našoj grupi , za ovu cut off vrednost, međutim nije pokazana i statistička razlika (p= 0,10).

Tabela 28. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na vrstu operacije i PH tip tumora

Karakteristike	Bcl2/Bax - kategorije		Ukupno	Test
	Bax≤0.3014728	Bax>0.3014728		
<i>Vrsta operacije</i>				
Lobektomija ili bilobektomija	14 (82.35%)	11 (52.38%)	25 (65.79%)	#p= 0.1327
Pneumonektomija	2 (11.76%)	4 (19.05%)	6 (15.79%)	
Atipična resekcija	1 (5.88%)	6 (28.57%)	7 (18.42%)	
<i>PH tip</i>				
Tipični karcinoid	11 (64.71%)	8 (38.1%)	19 (50%)	* $\chi^2_1 = 2.66$, p= 0.1028
Atipični karcinoid	6 (35.29%)	13 (61.9%)	19 (50%)	
Ukupno	17 (100%)	21 (100%)	38 (100%)	

* Pearson χ^2 Test, # Fisher Exact Test

Nije pokazana statistička razlika u odnosu na postojanje relapse bolesti za dobijenu cut off vrednost za Bcl2/Bax (p= 0,30). (Tabela 29)

Tabela 29. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na relaps bolesti

Karakteristike	Bcl2/Bax - kategorije		Ukupno	Fisher Exact Test
	Bcl2/Bax≤0.3014728	Bcl2/Bax>0.3014728		
<i>Ralaps ili progresija bolesti</i>				
Bez relapsa ili progresije bolesti	11 (64.71%)	12 (57.14%)	19 (50%)	p= 0.3068
Sa relapsom ili progresijom bolesti	6 (35.29%)	9 (42.86%)	19 (50%)	
<i>Status za ukupno preživljavanje</i>				
Živ	13 (76.47%)	12 (57.14%)	25 (65.79%)	p= 0.3068
Mrtav	4 (23.53%)	9 (42.86%)	13 (34.21%)	
Ukupno	17 (100%)	21 (100%)	38 (100%)	

U našoj studiji pacijenti sa nižom cut-off vrednosti za Bcl2/Bax, (Bcl2/Bax ≤ 0,301) imali su duže srednje preživljavanje kao i medijane preživljavanja u odnosu na pacijente sa višim nivoom ekspresije (u odnosu na cut-off vrednost; Bcl2/Bax > 0.301), koji su imali kraće srednje preživljavanje kao i medijanu preživljavanja. (Tabela 30)

Tabela 30. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na medijanu preživljavanja

Preživljavanje	Mean (SD)	Medijana (Opseg)
<i>Bcl2/Bax - kategorije</i>		
Bcl2/Bax≤0.301472	127.1 (53.72)	137.4 (14.99 - 202.8)
Bcl2/Bax>0.301472	91.67 (66.84)	82.42 (1.12 -236.6)

Kod 38 od 52 (73.08%) pacijenata analizirali smo nivoe ekspresije za *IGF-1R*, *p53*, *Bax* i *ERCC1* u odnosu na kategorije Bcl2/Bax (cut off vrednost od 0,301). Deskriptivne karakteristike ekspresija za *IGF.1R*, *p53*, *BAX* i *ERCC1* u odnosu na kategorije Bcl2/Bax su prikazane u Tabeli 31.

Za nivoe ekspresija ERCC1 u odnosu na različite kategorije Bcl2/Bax (Roc cut off vrednost 0,301) pokazano je postojanje statističke razlike; pacijenti sa Bcl2/Bax < 0,301 imali su i niže vrednosti ekspresija ERCC1. (p= 0,01)

Iako statistička razlika nije dostignuta (p = 0,08) za IGF-1R, pacijenti sa Bcl2/ Bax > 0,310 imali su češće više nivoe ekspresije IGF-1R (p= 0,08) . Iako statistička značajnost nije pokazana pacijenti sa Bcl2/Bax < 0,301 su imali i niže vrednosti p53 ekspresija (p= 0,134). Tabela 31.

Tabela 31. Testiranje Bcl2/Bax kategorija u odnosu na ekspresije IGF1-R, p53, Bax i ERCC1

Karakteristike	Bcl2/Bax - kategorije				Wilcoxon rank sum test
	Bax≤0.3014728		Bax>0.3014728		
	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	
IGF-1R	0.93 (0.06)	0.9335 (0.8558-1.038)	0.97 (0.1)	0.98 (0.78-1.141)	W= 119 p= 0.08325
p53	0.98 (0.05)	0.9777 (0.8777-1.082)	1.01 (0.06)	1.002 (0.8754-1.168)	W= 127 p= 0.134306
Bax	0.92 (0.04)	0.9165 (0.8737-1.043)	0.96 (0.07)	0.9572 (0.8067-1.126)	W= 95 p= 0.01356
ERCC1	1.01 (0.07)	1.015 (0.8638-1.136)	1.07 (0.07)	1.063 (0.8898-1.196)	W= 95 p= 0.01356

4.6. Poređenja patohistološkog podtipa tumora (TC i AC) u odnosu na kliničke parametre

Analizom čitave grupe pacijenata (n = 52) i poređenjem pacijenata sa TC u odnosu na AC dobijeni su sledeći rezultati:

- Nije pokazana statistički razlika vezano za starost pacijenata između ove dve grupe (p = 0,327); iako su pacijenti sa TC bili nešto mlađe životne dobi sa medijanom od 49,5 godina (17-75 godina) u odnosu na pacijente sa AC (medijana 53 godine; 29-72 god.).

Tabela 32.

Tabela 32. Distribucija ispitanika (TC prema AC) u odnosu na starost pacijenata

Starost	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Wilcoxon rank sum test
<i>Grupa</i>			
Tipični	17.45 (17.45)	49.5 (17-75)	W= 284
Atipični	52.35 (10.5)	55 (29-72)	p=0.32727

- Iako bez pokazane statističke značajnosti, pacijenti sa AC su u 53,85% slučajeva bili muškog pola u odnosu na pacijente sa TC koji su u većini bili ženskog pola (57,69 %)(p= 0,405). Tabela 33.

Tabela 33. Distribucija ispitanika (TC prema AC) u odnosu na pol

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Log-Rank test
	Tipični	Atipični		
<i>Pol</i>				
Muški	11 (42.31%)	14 (53.85%)	25 (48.08%)	$\chi^2_1 = 0.693$, p= 0.40503
Ženski	15 (57.69%)	12 (46.15%)	27 (51.92%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

-Nije pokazana statistička razlika u odnosu na lokalizaciju tumora kod pacijenata sa TC u odnosu na AC: iako su pacijenti sa TC nešto češće imali tumor lokalizovan levostrano (53,85%) (p= 0,579), kao i u odnosu na anatomsku lokalizaciju, pacijenti sa AC su nešto češće imali tumor centralne lokalizacije (53,85%) (p= 0,405) kao endoskopski direktne znake tumora 69,23% (p = 0,157). Tabela 34.

Tabela 34. Distribucija ispitanika (TC prema AC) u odnosu na lokalizaciju bolesti i endoskopski nalaz

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Test
	Tipični	Atipični		
<i>Lokalizacija bolesti u toraksu</i>				
Levostrano	14 (53.85%)	12 (46.15%)	26 (50%)	* $\chi^2_1= 0.307$, p=0.57909
Desnostrano	12 (46.15%)	14 (53.85%)	26 (50%)	
<i>Lokalizacija tumora</i>				
Centralno	11 (42.31%)	14 (53.85%)	25 (48.08%)	* $\chi^2_1= 0.693$, p= 0.40503
Periferno	15 (57.69%)	12 (46.15%)	27 (51.92%)	
<i>Znaci tumora</i>				
Direktni	13 (50%)	18 (69.23%)	31 (59.62%)	* $\chi^2_1= 1.996$, p= 0.1576
Indirektni	13 (50%)	8 (30.77%)	21 (40.38%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

- U našoj grupi, između pacijenata sa TC u odnosu na AC, u odnosu na prezentujuće simptome nije pokazana statistička razlika u odnosu na druge simptome sem za postojanje hemoptizija gde je pokazana statistička značajna razlika : pacijenti sa AC su statistički češće imali hemoptizije (53,85%) u odnosu na pacijente sa TC koji su u većini slučajeva bili bez hemoptizija (80,77%)(p = 0,009). (TC prema AC: 5/26 (19.23%) prema 14/26 (53.85%); Pearson Chi-squared Test: $\chi^2_1=6.72$; p=9.55*10⁻³). (Tabela 35)
- Nije pokazana statistička razlika između pacijenata sa TC u odnosu na AC vezano za pojavu: recidivantnih pneumonija (p= 0,773), pojavu bola (0,254) kao dispneje (p = 0,577) ,febrilnosti (p= 0,773) ili kašlja (p= 0,190). Tabela 35.

Tabela 35. Karakteristike primarnog oboljenja u odnosu na PH podtip (TC prema AC)

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Test
	Tipični	Atipični		
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - recidivantne pneumonije</i>				
Ne	16 (61.54%)	17 (65.38%)	33 (63.46%)	* $\chi^2_1 = 0.0829$, p= 0.7733
Da	10 (38.46%)	9 (34.62%)	19 (36.54%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - bol</i>				
Ne	18 (69.23%)	14 (53.85%)	32 (61.54%)	* $\chi^2_1 = 1.3$, p= 0.254213
Da	8 (30.77%)	12 (46.15%)	20 (38.46%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - dispneja</i>				
Ne	13 (50%)	15 (57.69%)	28 (53.85%)	* $\chi^2_1 = 0.309$, p= 0.57797
Da	13 (50%)	11 (42.31%)	24 (46.15%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - hemoptizije</i>				
Ne	21 (80.77%)	12 (46.15%)	33 (63.46%)	* $\chi^2_1 = 6.717$, p= 0.00954
Da	5 (19.23%)	14 (53.85%)	19 (36.54%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - febrilnost</i>				
Ne	16 (61.54%)	17 (65.38%)	33 (63.46%)	* $\chi^2_1 = 0.083$, p= 0.7733
Da	10 (38.46%)	9 (34.62%)	19 (36.54%)	
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg - kašalj</i>				
Ne	5 (19.23%)	1 (3.85%)	6 (11.54%)	# p=0.1906
Da	21 (80.77%)	25 (96.15%)	46 (88.46%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

* Pearson χ^2 Test, # Fisher Exact Test

- Obe grupe pacijenata su češće imale simptome prisutne ili do tri meseca od postavljanja dijagnoze (pacijenti sa TC u 38,46% i sa AC u 23,08%) ili duže od 12 meseci pre postavljanje dijagnoze, bez postojanja statistički značajne razlike (pacijenti sa TC u 30,77% a AC u 34,62%) (p= 0,193). Tabela 36.

Tabela 36. Početak simptoma u odnosu na PH podtip (TC prema AC)

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Fisher Exact Test
	Tipični	Atipični		
<i>Prezentujući simptomi u trenutku dg – bez/sa simptomima</i>				
Ne	3 (11.54%)	0 (0%)	3 (5.77%)	p= 0.2352
Da	23 (88.46%)	26 (100%)	49 (94.23%)	
<i>Početak simptoma pre postavljanja dijagnoze</i>				
Nema tegoba	3 (11.54%)	0 (0%)	3 (5.77%)	p= 0.1936
Do 3 meseca	10 (38.46%)	6 (23.08%)	16 (30.77%)	
Do 6 meseci	3 (11.54%)	6 (23.08%)	9 (17.31%)	
Do 12 meseci	2 (7.69%)	5 (19.23%)	7 (13.46%)	
Preko 12 meseci	8 (30.77%)	9 (34.62%)	17 (32.69%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

- Ispitivanjem pTNM karakteristika tumora pokazano je da su pacijenti sa AC statistički češće imali inicijalno viši pT stadijum bolesti (pT2a , pT2b kao i pT3) (p= 0,025) kao i zahvaćene limfne žlezde (pN1+N2) (p = 0,009) zbog čega su pacijenti sa AC i statistički češće imali stadijum II/III bolesti (p = 0,01). Tabela 37.

Tabela 37. Karakteristike tumora (pTNM) u odnosu na PH podtip (TC prema AC)

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Test
	Tipični	Atipični		
<i>p TNM klasifikacija – T</i>				
T1a	6 (23.08%)	1 (3.85%)	7 (13.46%)	#p= 0.02506
T1b	8 (30.77%)	4 (15.38%)	12 (23.08%)	
T2a	9 (34.62%)	8 (30.77%)	17 (32.69%)	
T2b	2 (7.69%)	7 (26.92%)	9 (17.31%)	
T3	1 (3.85%)	6 (23.08%)	7 (13.46%)	
<i>p TNM klasifikacija - T (kategorije)</i>				
T1	14 (53.85%)	5 (19.23%)	19 (36.54%)	#p= 0.01909
T2	11 (42.31%)	15 (57.69%)	26 (50%)	
T3	1 (3.85%)	6 (23.08%)	7 (13.46%)	
<i>p TNM klasifikacija – N</i>				
No	21 (80.77%)	12 (46.15%)	33 (63.46%)	#p= 0.02905
N1	4 (15.38%)	8 (30.77%)	12 (23.08%)	
N2	1 (3.85%)	6 (23.08%)	7 (13.46%)	
<i>p TNM klasifikacija - N-kategorije</i>				
No (bez + nodusa)	21 (80.77%)	12 (46.15%)	33 (63.46%)	* $\chi^2_1 = 6.717$, p= 0.00954
N1+N2 (sa + nodusima)	5 (19.23%)	14 (53.85%)	19 (36.54%)	
<i>p TNM klasifikacija – M</i>				
Mo	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	-
<i>Inicijalni klinički stadijum</i>				
IA	11 (42.31%)	4 (15.38%)	15 (28.85%)	#p= 0.01584
IB	7 (26.92%)	4 (15.38%)	11 (21.15%)	
IIA	6 (23.08%)	5 (19.23%)	11 (21.15%)	
IIB	1 (3.85%)	6 (23.08%)	7 (13.46%)	
IIIA	1 (3.85%)	7 (26.92%)	8 (15.38%)	
<i>Inicijalni klinički stadijum-kategorije</i>				
IA + IB	18 (69.23%)	8 (30.77%)	26 (50%)	#p= 0.01050
IIA + IIB	7 (26.92%)	11 (42.31%)	18 (34.62%)	
IIIA	1 (3.85%)	7 (26.92%)	8 (15.38%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

* Pearson χ^2 Test, # Fisher Exact Test

- U odnosu na vrstu operacije pacijenti sa TC su češće imali lobektomiju ili bilobektomiju kao vrstu operacije (80,77%), u odnosu na pneumonektomiju ili atipičnu resekciju koje su bile češće vrste operacije kod pacijenata sa AC, ali bez pokazane i statistički značajnosti za ove parametre (p = 0,161). Tabela 38.

Tabela 38. Vrsta operacije u odnosu na kategoriju PH podtip (TC prema AC)

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Test
	Tipični	Atipični		
<i>Vrsta operacije</i>				
Lobektomija ili bilobektomija	21(80.77%)	15(57.69%)	36(69.23%)	#p= 0.1611
Pneumonektomija	1(3.85%)	5(19.23%)	6(11.54%)	
Atipična resekcija	4(15.38%)	6(23.08%)	10(19.23%)	
<i>PH tip</i>				
Tipični karcinoid	26(100%)	0(0%)	26(50%)	#p= 4.03·10 ⁻¹⁵
Atipični karcinoid	0(0%)	26(100%)	26(50%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

Fisher Exact Test

- Iako nije pokazana i statistički značajna razlika, u odnosu na postojanje relapse bolesti, pacijenti sa TC u odnosu na AC su imali ređe relaps bolesti (15,38% prema 38,46%) (p = 0,11) Tabela 39.

Tabela 39. Relaps bolesti u odnosu na kategoriju PH podtip (TC prema AC)

Karakteristike	Grupa		Ukupno	Fisher Exact Test
	Tipični	Atipični		
<i>Ralaps ili progresija bolesti</i>				
Bez relapsa ili progresije bolesti	22 (84.62%)	16 (61.54%)	38 (73.08%)	p= 0.1163
Sa relapsom ili progresijom bolesti	4 (15.38%)	10 (38.46%)	14 (26.92%)	
<i>Status za ukupno preživljavanje</i>				
Živ	22 (84.62%)	16 (61.54%)	38 (73.08%)	p= 0.1163
Mrtav	4 (23.53%)	10 (38.46%)	14 (26.92%)	
Ukupno	26 (100%)	26 (100%)	52 (100%)	

- Pacijenti sa TC su imali duže srednje preživljavanje kao i medijanu preživljavanja u odnosu na pacijente sa AC. Tabela 40.

Tabela 40. Medijana preživljavanja u odnosu na kategoriju PH podtip (TC prema AC)

Preživljavanje	Mean (SD)	Medijana (Opseg)
<i>Grupa</i>		
Tipični	120.4 (53.09)	132.1 (7.59 - 210.9)
Atipični	83.54 (57.64)	66.76 (1.12 -236.6)

Poređenjem nivoa ekspresije za *IGF-1R*, *p53*, *Bax*, *ERCC1*, *Bcl2* kao i *Bcl2/Bax*, iako nije pokazana statistički značajna razlika u nivoima ekspresije za rađene paramere, između pacijenata sa TC u odnosu na AC: pacijenti sa TC su imali nešto više nivoa ekspresije za *p53* ($p = 0,422$), *Bax* ($p = 0,686$), *ERCC1* ($p = 0,181$) kao i nivoi ekspresije *Bcl2* ($p = 0,839$) dok su kod pacijenata sa AC bile nešto više vrednosti ekspresija za *IGF-1R* ($p = 0,418$). Iako je odnos *Bcl2/Bax* očekivano bio viši kod pacijenata sa TC u odnosu na AC statistička razlika nije pokazana ($p = 0,931$).Tabela 41.

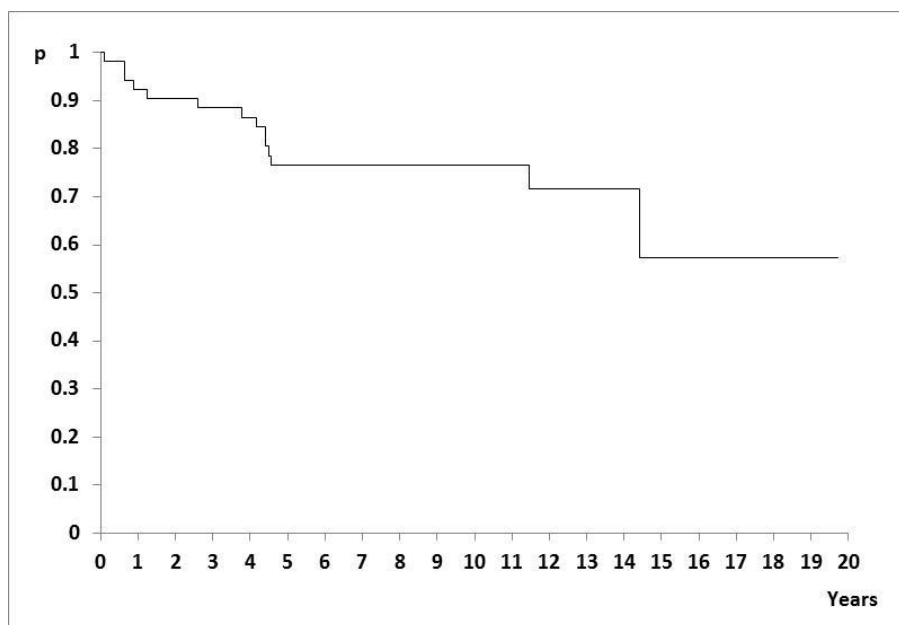
Tabela 41. Nivoi ekspresije *IGFR*, *p53*,*Bax*,*ERCC1* i *Bcl2* u odnosu na kategoriju PH podtip (TC prema AC)

Karakteristike	Grupa				Wilcoxon rank sum test
	Tipični		Atipični		
	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	Mean (SD)	Medijana (Opseg)	
IGF1R	0.95 (0.09)	0.9361 (0.7832-1.141)	0.96 (0.08)	0.9677 (0.78-1.141)	W= 152 p= 0.41807
p53	1 (0.07)	1.014 (0.8777-1.168)	0.99 (0.04)	0.9933 (0.8754-1.078)	W= 208.5 p= 0.42203
Bax	0.95 (0.06)	0.9301 (0.8867-1.102)	0.94 (0.07)	0.9285 (0.8067-1.126)	W= 195 p= 0.68614
ERCC1	1.06 (0.07)	1.061 (0.9183-1.196)	1.02 (0.08)	1.039 (0.8638-1.142)	W= 227 p= 0.18142
Bcl2	1.81(2.43)	0.2616 (0.0059-6.775)	0.5 (0.53)	0.3927 (0.0007-2.293)	W= 188 p= 0.83996
Bcl2/Bax	1.88 (2.55)	0.2845 (0.006669-7.217)	0.53 (0.57)	0.4235 (0.0007269 -2.547)	W= 184 p= 0.93103

4.7. Prognošički faktori za ukupno preživljavanje

Ukupno praćenje pacijenata je bilo između 1 i 237 meseca, sa medijanom od 93,54 meseca. (srednje 102 meseca, SD 57,94). Za to vreme relaps bolesti je imalo 14 od 52 pacijenta (26,92%) nakog čega je usled dalje sistemske progresije nastupio i letalni ishod kod 14 /52 pacijenata. (Tabela 42).

Medijana za OS nije dostignuta i petogodišnja stopa preživljavanja je bila 76,5% (Grafikon 5)



Grafikon 5. Kaplan-Meier kriva za OS: cela grupa pacijenata

Tabela 42. Ukupno praćenje pacijenata i relapsa bolesti (n=52)

Karakteristike	N (%)
<i>Follow up period (meseći)</i>	
Mean (SD)	102 (57.94)
Medijana (opseg)	93.54 (1.1-236.6)
<i>Relaps ili progresija bolesti</i>	
Bez relapsa ili progresije bolesti	38 (73.08%)
Sa relapsom ili progresijom bolesti	14 (26.92%)
<i>Status za ukupno preživljavanje</i>	
Živ	38 (73.08%)
Mrtav	14 (26.92%)
Ukupno	52 (100%)

Analiza preživljavanja potvrdila je da su neke kliničko-patološke karakteristike tumora imale uticaj na ukupno preživljavanje (Tabela 43). Pacijenti sa pT3 stadijumom bolesti imali su statistički značajnije, kraće preživljavanje u poređenju sa pacijentima koji su imali pT1 i pT2 stadijum bolesti ($p < 0,01$; Tabela 43; Grafikon 6)

Postojanje zahvaćenosti limfnih nodusa (N1+N2) u poređenju sa pacijentima koji su imali No status ($p < 0.01$; Tabela 43; Grafikon 7) dalo je statistički lošije OS.

Takođe, pacijenti sa stadijumom III bolesti su imali statistički dokazano kraće ukupno preživljavanje u poređenju sa pacijentima sa stadijumom I ($p < 0.01$; Tabela 43,44, Grafikon 8).

Tabela 43. Rezultati analiza preživljavanja za podgrupe u odnosu na pol, pT stadijum, pN stadijum, klinički stadijum bolesti, vrstu operacije i PH podtip tumora

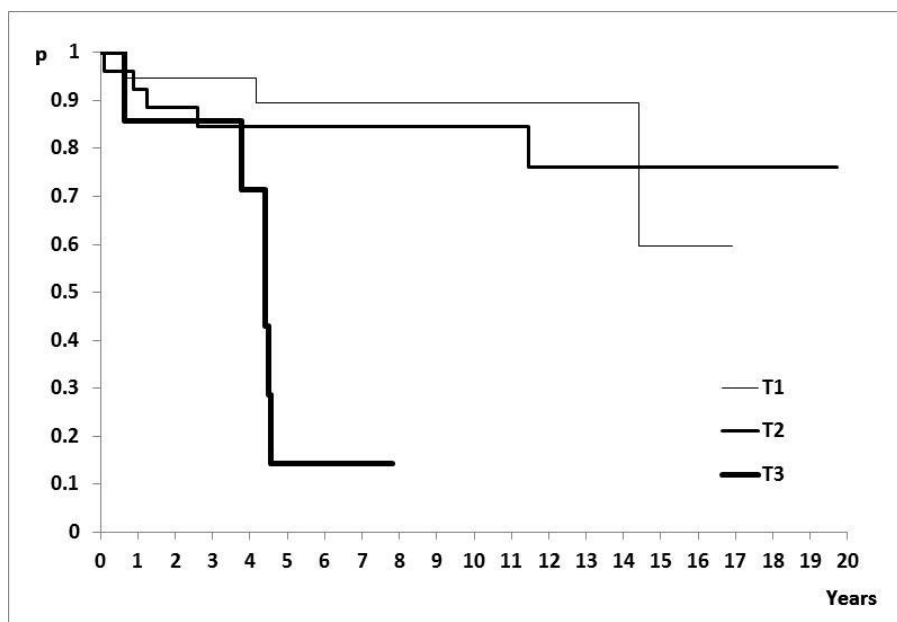
Characteristics	Subgroup survival analysis		
	N (%)	Median OS with 95% CI	Log-Rank test
Total pts		52 (100%)	-
Gender			
Males		NR [#]	ns*
Females		NR [#]	
T in pTNM stage			
T1 (T1a+T1b)		NR [#]	
T2 (T2a+T2b)		NR [#]	p<0.01
T3		52.8 (>45.3)	
N in pTNM stage			
Ln – (N0)		NR [#]	
Ln+ (N1+N2)		137 (>52.8)	p<0.05
Clinical stage			
I (Ia+Ib)		NR [#]	
II (IIa+IIb)		NR [#]	p<0.05
III		54.1 (>52.8)	
Type of surgery			
Lobectomy, bilobectomy		NR [#]	
Pneumonectomy		49.1 (>15)	p<0.01
Atypical resect		NR [#]	
PH type			
TC		NR [#]	p<0.05
AC		NR [#]	
Total pts		38 (100%)	-
Bcl2 (ROC cut-off)			
≤0.1451	9 (23.68%)	173 (>137)	ns*
>0.1451	29 (76.32%)	NR [#]	
Bcl2/Bax (ROC cut-off)			
≤0.3014728	28 (73.68%)	NR [#]	ns*
>0.3014728	10 (26.32%)	NR [#]	

ns* - not statistically significant ($p>0.05$); NR[#] - Not reached

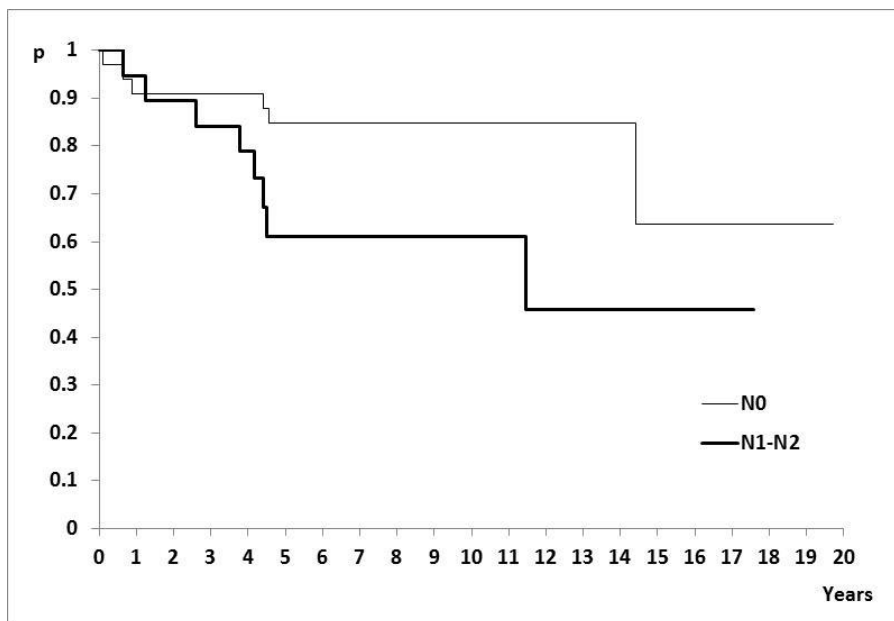
Tabela 44. Rezultati testiranja između kategorija parova

Pairs	Log-Rank test
T in pTNM staging	
T1 vs T2	p*=0.6793
T1 vs T3	p*=0.0002
T2 vs T3	p*=0.0007
Stage	
I (Ia+Ib) vs II (IIa+IIb)	p*=0.2129
I (Ia+Ib) vs III	p*=0.0102
II (IIa+IIb) vs III	p*=0.0989
Type of surgery	
Lobectomy, bilobectomy vs Pneumonectomy	p*=4.3*10 ⁻⁷
Lobectomy, bilobectomy vs atypical resection	p*=0.1725
Pneumonectomy vs atypical resection	p*=0.0111

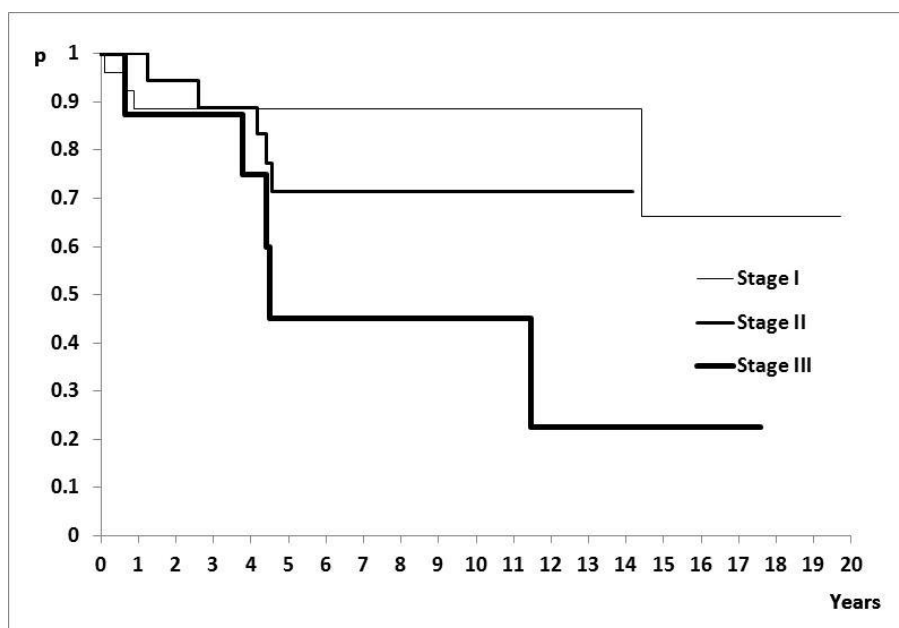
* According Bonferroni correction ($p < 0.05/3 = 0.0167$)



Grafikon 6. Kaplan-Meier kriva za OS: u odnosu na T u pTNM

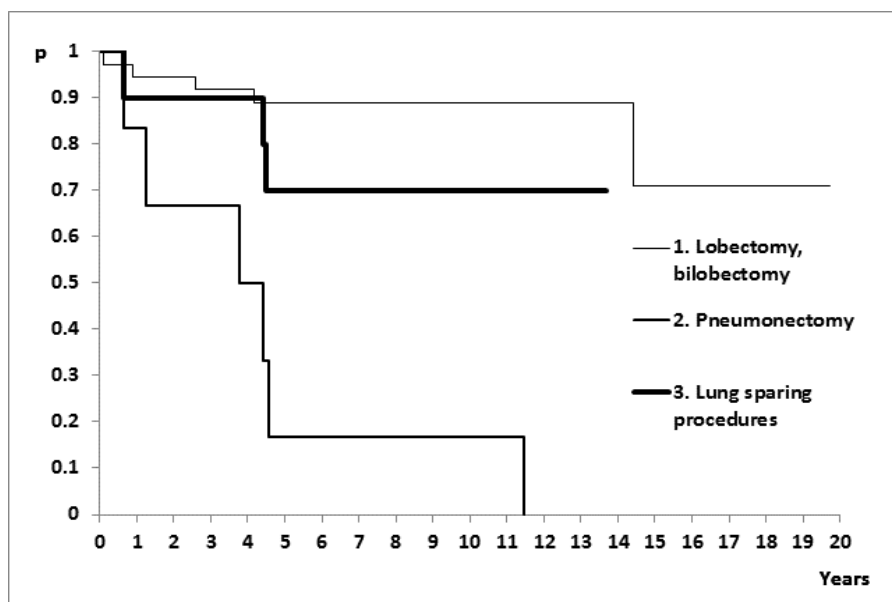


Grafikon 7. Kaplan-Meier kriva za OS: u odnosu na N u pTNM



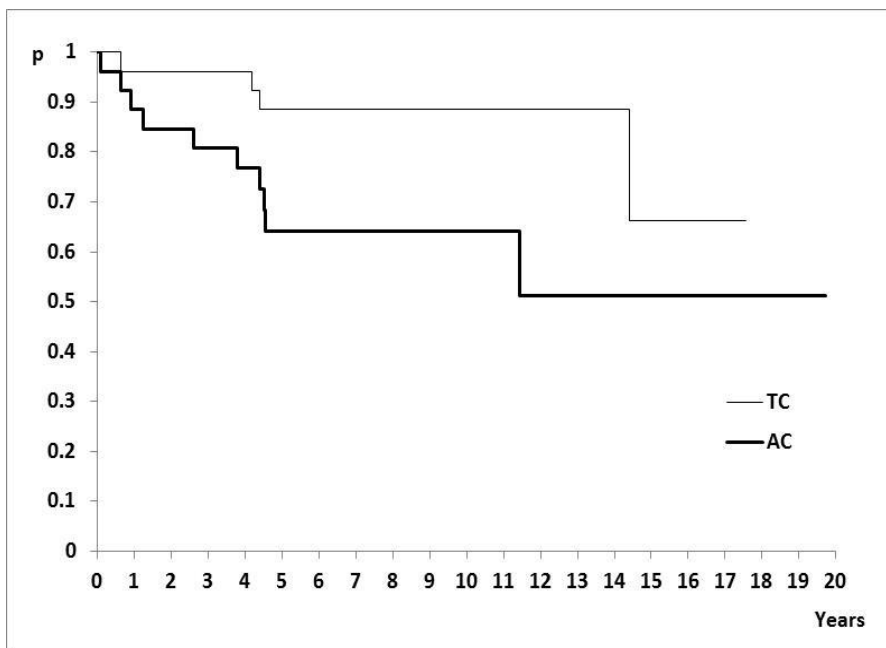
Grafikon 8. Kaplan-Meier kriva za OS: u odnosu na stadijum bolesti

Pacijenti kod kojih je rađena pneumonektomija imali su lošije ukupno preživljavanje u odnosu na pacijente kod kojih je rađena lobektomija ili bilobektomija, ali bolje OS u poređenju sa pacijentima kod kojih je rađena atipična resekcija tumora ($p = 0.01$ za oba slučaja; Tabela 43,44; Grafikon 9).



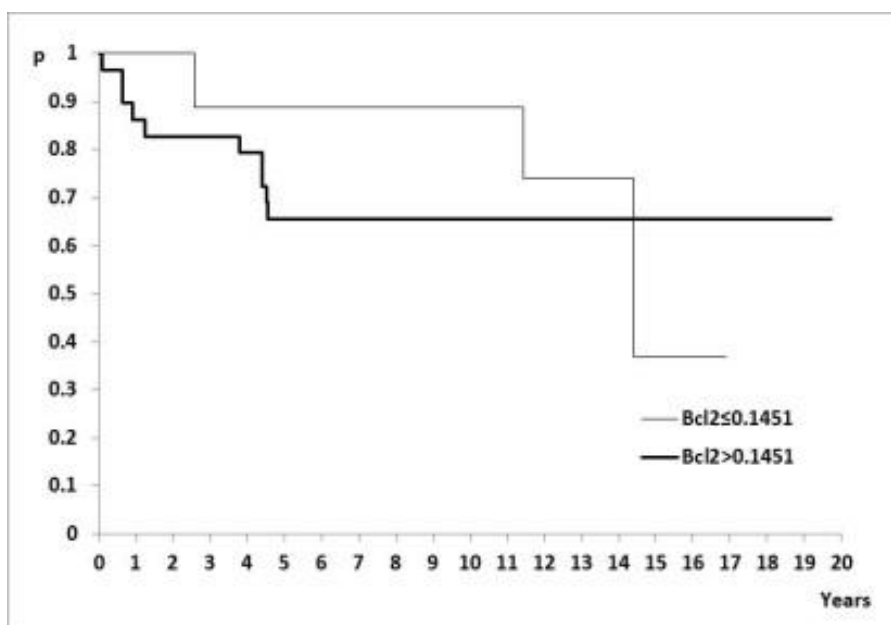
Grafikon 9. Kaplan-Meier kriva OS: u odnosu na vrstu operacije

Pokazana je statistički značajna razlika u OS u odnosu na PH podtip tumora: pacijenti sa AC imali su kraće ukupno preživljavanje u poređenju sa pacijentima sa TC ($p = 0.02$; Tabela 43, Grafikon 10).

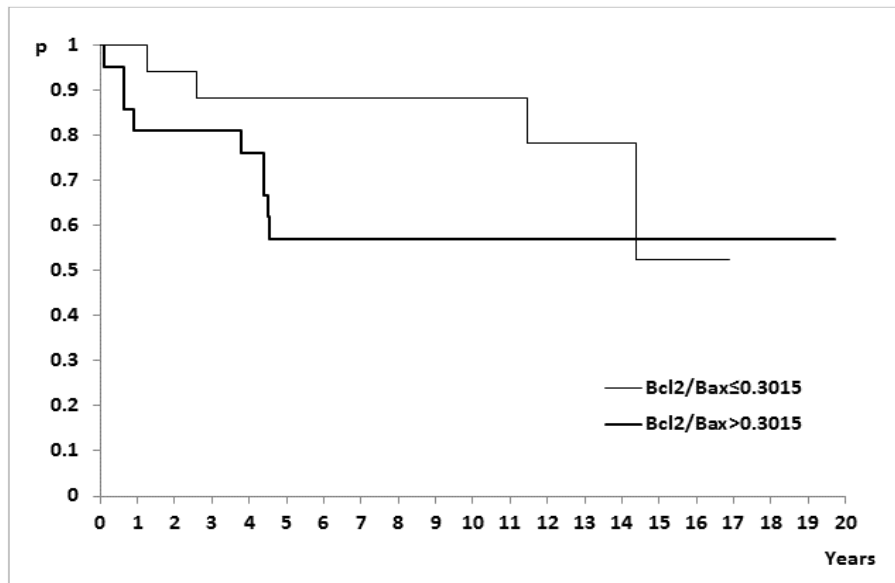


Grafikon 10. Kaplan-Meier kriva OS: u odnosu na PH podtip tumora (TC/AC)

Nije pokazana statistička razlika u OS u odnosu na kategorije Bcl2 i Bcl2/ Bax za ROC cut-off vrednosti za Bcl2 i Bcl2/Bax (Tabela 43; Grafikoni 11 i 12) , mada je medijana OS bila lošija u grupi sa višim Bcl2/Bax odnosom (82,4 meseca prema 137,4 meseca) , ali bez pokazane statistički značajne razlike ($p= 0,15$).



Grafikon 11. Kaplan-Meier kriva OS : u odnosu na ROC cut-off vrednosti za Bcl2



Grafikon 12. Kaplan-Meier kriva OS :u odnosu na ROC cut-off vrednosti za Bcl2/Bax

Cox-ova regresiona analiza prognostičkih faktora za OS u celoj grupi pacijenata

Od značaja za istraživanje je bilo ispitivanje prognostičkih faktora za ukupno preživljavanje primenom Cox-ovog regresionog hazardnog modela. Rezultati sprovedene analize za univarijantnu analizu prikazani su u tabeli 45.

Tabela 45. Rezultati univarijantne Cox-ove regresione analize za OS u celoj grupi pacijenata

Parameters	Univariate Cox regression	
	HR* (95% CI)	Test [#]
<i>T in TNM</i>		
T2:T1	1.4 (0.3-6.0)	p=0.003747
T3:T1	9.7 (2.2-42.3)	
<i>N in TNM</i>		
N1+N2+N3:N0	2.9 (1.0-8.5)	p=0.04815
<i>Clinical stage</i>		
IIa+IIb:Ia+Ib	2.2 (0.6-8.3)	p=0.05806
IIIa+IIIb:Ia+Ib	5.1 (1.4-19.1)	
<i>PH type</i>		
Atipični:tipični	3.4 (1.1-11.2)	p=0.029
<i>Surgery type</i>		
Pneumonektom: lobektom.+bilobektom	13.38 (3.7-48.0)	p=0.0006034
Atip.resek : lobektom.+bilobektom	2.80 (0.63-12.51)	

5. DISKUSIJA

Karcinoidi pluća čine samo 1% do 2% od svih malignih tumora pluća. Poznajući podatak da se AC javljaju mnogo ređe nego TC i da čine samo oko 10% svih karcinoida bronha, jasno je da su AC statistički veoma retki tumori pluća. (0,1% do 0,2% od ukupno svih malignih tumora pluća). Iz ovog razloga i veliki broj kliničara nikada nije u prilici da se sretne sa pacijentom koji ima karcinoid pluća i često lekari nisu dovoljno upoznati sa razlikama između TC i AC. Obzirom na jako nisku incidencu kao i nedovoljno objavljenih kliničkih studija najveći broj hirurga i onkologa nema dovoljno informacija o ovim tumorima, tako da lečenje pacijenata sa karcinoidom pluća i dalje za većinu onkologa predstavlja izazov. U literaturi ne postoji dovoljno objavljenih podataka da bi se jasno definisali protokoli vezani za terapiju karcinoida bronha, tako da jasne međunarodne preporuke za lečenje uznapredovalog karcinoida bronha ne postoje. Obzirom na objavljene podatke vezane za samu patogenezu i nastanak ovih tumora, u poslednjih deset godina, često su se menjali stavovi vezani za sam nastanak ovih tumora, kao i klasifikaciju a biološko ponašanje ovih tumora i dalje predstavlja izazov za istraživače uprkos dostupnim saznanjima. Stalno godišnje povećanje incidence plućnih karcinoida koje je ne vezano za demografske karakteristike pacijenata i koje je potvrđeno i u Evropi i SAD-a, može se objasniti i povećanim interesovanjem kliničara za ove tumore kao i danas standardnim korišćenjem imunohistohemijskog bojenja pri postavljanju dijagnoze. (16,18). Ovo zapažanje se posebno odnosi na povećanje incidence AC, koje se može objasniti danas bolje definisanim patološkim kriterijumima za postavljanje dijagnoze ovih tumora.

U radovima Hagea, Trivisa i saradnika detaljno je izučena struktura neuroendokrinih ćelija bronhijalnog epitela i ćelija karcinoida bronha. Ovi autori su pokazali da histološke karakteristike neuroendokrinih tumora mogu da variraju od slučaja do slučaja, pa i unutar jednog tumora. Nakon saznanja o postojanju jedinstvenog NE sistema sa ćelijama lokalizovanim u različitim organima, i mnogi drugi autori detaljno opisuju ultrastrukturne karakteristike kako normalnih neuroendokrinih ćelija tako i maligno izmenjenih ćelija različitih neuroendokrinih tumora (18,26,31,217,218,219). Danas se zna da NET-i pokrivaju tumore širokog spektra histoloških karakteristika kao i sa različitim biološkim ponašanjem: od relativno indolentnih TC do biološki veoma agresivnih tumora poput

SCLC. Danas je dokazano da NET-i visokog stepena agresivnosti (LCNEC i SCLC) imaju značajno lošiju prognozu koja je, prema dostupnim referencama, u korelaciji sa kliničkim stadijumom bolesti (164,220,221). Uprkos značajnim naučnim saznanjima, zanimljivo je da i danas, ipak, još uvek ne postoje jasni zaključci vezani za definitivno razlikovanje TC od AC vezano za nastanak, dijagnozu, biološko ponašanje, klinički profil kao i terapijske algoritme ovih tumora. U skladu sa WHO klasifikacijom za NET-e iz 2004. i 2015. godine, postoji preporuka da se za potvrdu dijagnoze koriste imunohistohemijski markeri: chromogranin A, synaptophysin i CD 56 (7). Međutim, prema dostupnim podacima iz literature, zaključeno je da ni jedan od navedenih tumorski markera nije dovoljno specifičan da bi se njihovim utvrđivanjem napravila jasna razlika između različitih podtipova NET-a (156,157). Ova studija je karakteristična po tome što su svi uzorci tumora dobijeni nakon hirurške resekcije tako da je dijagnoza TC ili AC postavljena na dobijenim većim hirurškim uzorcima i potvrđena od strane dva iskusna patologa koristeći patološke kriterijume 2004. WHO Klasifikacije za NET-e. Ovaj postupak je u skladu sa važećim preporukama gde se smatra da je razlikovanje TC od AC nemoguće na malom uzorku biopsije ili citološkom preparatu (157). U ovom radu odabrane su dve podjednake grupe, sa istim brojem TC i AC (po 26 pacijenta) što ovu seriju čini jednom od većih a vezano za ukupan broj pacijenata sa AC isključivo plućnog porekla.

Na osnovu dostupnih podataka iz literature, danas postoji sve više dokaza o različitoj karcinogenezi dve podgrupe NET-a: grupe koju čine manje agresivni TC i AC u poređenju sa grupom agresivnih NET-a (koju čine mikroćelijski i krupnoćelijski NET-i). Histopatološki, NET-e visokog gradusa maligniteta karakteriše visok mitotski i proliferativni indeks, dok karcinoide bronha definiše maksimalno 10 mitozna na 2mm² (10-struko uvećanje) i oni retko imaju Ki-67 proliferativni indeks preko 10%-20%. Zna se da je Ki-67 ekspresija nedovoljna da razlikuje TC od AC, kao i SCLC od LCNET-a, ali se može koristiti kao jedan od parametara za predikciju prognoze (156,157). NET-i visokog gradusa maligniteta su hemiosenzitivniji tumori sa jasnije definisanim hemioterapijskim protokolima i za ove tumore (SCLC i LCNET) hirurško lečenje nije prva terapijska opcija obzirom da su inicijalno najčešće u uznapredovaloj fazi bolesti. Obrnuto, TC i AC su češće hemio i radiorezistentni i njihov glavni oblik terapije je hirurško lečenje.

Za razliku od slabo diferentovanih plućnih NET-a (poput SCLC) za koje postoji jasna povezanost sa pušenjem, za dobro diferentovane NET-e nije jasno dokazana povezanost sa pušenjem (4). Za mnoge razlike između karcinoida i SCLC i LCNET-a se smatra da su posledica pušenja koje je jasno povezano sa nastankom NET-a visokog gradusa maligniteta. Pušenje izaziva p53 mutacije koje se često javljaju kod SCLC a retko kod karcinoida. Smatra se da je biologija karcinoida manje zavisna od aberacija uzrokovanih pušenjem a više zavisna od drugih, za sada nejasnih mehanizama. Mnogi autori su iz niza opravdanih razloga zaključili da je potrebna nova definicija NET-a, uz zaključak da ovi tumori ne pripadaju istom spektru tumora, uz savet da se redefinišu kako dijagnostički tako i terapijski pristupi ovim tumorima. Upravo iz tih razloga danas i postoji potreba za boljim utvrđivanjem razlika između TC i AC (222).

Većina studija je pokazale da se agresivniji oblici neuroendokrinih tumora češće javljaju kod starijih pacijenata (starosti između 50 i 70 godina) u poređenju sa karcinoidima koji se javljaju ranije: i to između četvrte i šeste dekade života, sa prosečnom starosti od 45 godina za pacijente sa TC i prosečno deset godina starijih pacijenata sa AC. (223,224).

U našoj studiji, prosečna starost ispitanika u celoj grupi bila je 49,5 godina što je u skladu sa podacima iz literature gde se navodi da karcinoidi pluća češće nastaju kod mlađih pacijenata u poređenju sa karcinomima bronha. U celoj grupi, od 52 pacijenta, mi nismo pokazali da je postojala statistički značajnija razlika vezana za distribuciju tumora, (TC prema AC) a vezano za godine pacijenta kao i pol. Iako su pacijenti sa AC bili nešto starijeg životnog doba (TC : AC/ 53 god. : 49,5 god.) što je u skladu sa poznatim podacima iz literature gde su i druge studije pokazale da je srednje životno doba pacijenata sa bronhijalnim karcinoidom između 40 i 60 godina, što predstavlja mlađe životno doba u poređenju sa drugim tipovima karcinoma bronha (118,216,225). Zna se da je odnos između TC i AC 8-10 prema 1, što AC čini jednim od naj ređih tumora pluća uopšte. Međutim ovaj podatak se mora uzeti sa rezervom obzirom da se za većinu podataka, čak i iz velikih statističkih baza poput one u SAD-a (SEER registar) od pre deset godina i ranije, ne može potvrditi da li bi postavljene histološke dijagnoze TC ili AC i danas bile potvrđene. U našoj studiji odabrane su dve grupe podjednake veličine sa po 26 pacijenata TC i AC, što našu grupu čini posebnom po broju pacijenata sa AC.

U našoj grupi od ukupnog broja pacijenata, postojala je skoro podjednaka zastupljenost muškog i ženskog pola, (25 pacijenata muškog i 27 ženskog pola). U odnosu na pod tip

tumora , takođe nije pokazana statistički razlika vezano za pol, mada su pacijenti sa AC nešto češće bili muškog pola (muški pol: TC : AC / 42,31 % : 53,85 %). (Tabela 1)

I u literaturi se navodi da kod karcinoida bronha postoji podjednaka zastupljenosti polova što je u skladu sa rezultatima većeg broja studija koje su objavile skoro podjednaku distribuciju među polovima (226,227). Neke studije poput one Thomasa i saradnika, Hagea, Chughtai-a i saradnika kao i nekih drugih autora međutim, objavljuju nešto veću učestalost ženskog pola u svojim serijama kod pacijenata sa TC (17,118, 228), što je bio slučaj i u našoj studiji.

Pacijenti sa karcinoidima bronha najčešće imaju prisutne nespecifične simptome koji se mogu javiti i kod niza drugih plućnih bolesti, što sve komplikuje postavljanje dijagnoze. Postojanje nespecifičnih simptoma je i najvažniji razlog kašnjenja sa dijagnozom kod pacijenata sa karcinoidima bronha. Tumori koji su centralno lokalizovani najčešće daju simptome koji su posledica centralne lokalizacije u velikim disajnim putevima (kašalj, hemoptizije , dispneja i vizing, kao i pneumonitis), dok su periferno lokalizovani tumori češće asimptomatski. Za celu našu grupu karcinoida (TC + AC) najčešće prisutni prezentujući simptomi bili su: kašalj (88% pacijenata) i dispneja (46,55% pacijenata). Bol je bio prisutan kod 38,46% pacijenata. Većina pacijenata (52,75%) je startno imala prisutno više simptoma (3 do 5 simptoma). U našoj grupi je samo 5,77% pacijenata sa karcinoidom bronha bilo bez simptoma. Ovaj nalaz je u skladu sa rezultatima iz studije Hurt i Batesa gde je 84% pacijenata imalo simptome u trenutku postavljanja dijagnoze (229). U literaturi se međutim navodi, a takođe i većina studija objavljuje da inicijalno kod pacijenata sa karcinoidima bronha postoje simptomi kod prosečno 20 – 60% pacijenata (66) dok se u nekim serijama pominje da 53 - 83% pacijenata sa karcinoidom bronha inicijalno nemaju prisutne simptome (228,230). U odnosu na vreme proteklo od pojave siptoma do postavljanja dijagnoze u našoj studiji većina pacijenata je grupisana u dve grupe: jednu gde su pacijenti imali simptome ili do godinu dana pre postavljanja dijagnoze i drugu, gde je postojalo vreme samo do tri meseca pre postavljanja dijagoze. U literaturi se pominje podatak da u praksi čak i do kod 50% pacijenata sa NET-a prođe period i do dve godine od pojave simptoma do postavljanja dijagnoze plućnog NET-a. (42,157,231). Takođe rad Grandberga i saradnika pokazao je da su čak kod 49% pacijenta prethodno postavljene druge dijagnoze , što uz ustanovljen zaključak da je kod čak do 50% pacijenata prošao period i do dve godine od nastanka simptoma do postavljanja

dijagnoze , ukazuje na jasan problem vazan za postavljanje dijagnoze kod ovih tumora (157). U našoj studiji naglasili smo važnost prepoznavanja prezentujućih simptoma, naročito u slučajevima agresivnijih AC. U ovoj studiji pacijenti sa AC imali su kraće vreme od nastanka simptoma do postavljanja dijagnoze, verovatno iz razloga češće centralne lokalizacije AC u našoj grupi. (endoskopski centralna lokalizacija: AC:TC / 53,85% : 42,31%). Ovaj rezultat je od izuzetnog značaja obzirom na veću agresivnost AC u poređenju sa TC, gde je upravo činjenica da je postavljanje dijagnoze kod pacijenata sa AC bilo promptno i rezultirala ovom velikom serijom operisanih pacijenata sa AC. Ukoliko se dijagnoza AC ne postavi na vreme, AC kao biološki agresivniji tumor u odnosu na TC daje distalno metastaze i to najčešće u jetru i kosti. Većina autora pominje da je čak do 85% NET-a lokalizovano centralno (10% u glavnim disajnim putevima i 75% u lobarnim bronhima) sa oko 15% NET-a periferne lokalizacije (4,5,186). Iako kod nas nismo potvrdili statistički razliku u lokalizaciji tumora: centralna (48,08%) naspram periferne lokalizacije (51,92%), u literaturi se navodi da su TC i SCLC statistički češće centralne lokalizacije u poređenju sa AC i LCNET-ima koji su češće periferno lokalizovani (31,232). I u našoj grupi pacijenti sa AC su češće imali tumor centralno lokalizovan. Ovo se donekle može objasniti i striktnim kriterijumima pri patohistološkom postavljanju dijagnoze AC u našoj seriji kao i činjenicom da su svi patohistološki uzorci kod nas poticali od uzoraka dobijenih operativno. Visok procenat pacijenata sa AC koji su imali tumor centralno lokalizovan u našoj grupi, smatramo da ukazuje na već ranije definisan problem nemogućnosti postavljanja dijagnoze AC na malim isečcima dobijenim bronhoskopijom.

U odnosu na lokalizaciju tumora, kod nas je postojala podjednaka zastupljenost levostrano u odnosu na desnostrano lokalizaciju tumora, iako se u literaturi pominje da se karcinoidi češće javljaju desnostrano, naročito u srednjem režnju (58). Poređenjem između podtipova tumora, a vezano za kliničku simptomatologiju, nismo dokazali postojanje statistički razlike između podtipova tumora sem za postojanje hemoptizija koje su i statistički češće bile prisutne kod pacijenata sa AC (AC:TC/ 53,85% :19,23%; $p=0,009$). Ovo se može povezati sa češće centralnom lokalizacijom AC u našoj grupi, što je shodno tome kod nas dalo i češće endoskopski direktne znake tumora kod pacijenata sa AC u poređenju sa TC (69,23% pacijenata sa AC).

Za definisanje glavnih karakteristika karcinoida poput : zahvaćenosti limfnih čvorova, veličine i lokalizacije tumora kao i prisusvo metastaza u grudnom košu zlatni standard je kontrastni MSCT grudnog koša. Ova metoda je standard za detekciju, određivanje lokalizacije kao i stejdžing ovih tumora što je u skladu sa važećim NCCN kao i ENTS preporukama. Bronhoskopija je i dalje ostala dijagnostički standard ne samo pri definisanju centralno lokalizovanih tumora već i zbog dobijanja uzorka biopsijom, a radi postavljanja dijagnoze (7,165,166,221). U određenim slučajevima mogu se koristiti i novije bronhoskopske metode (EBUS ili rigidna bronhoskopija kod selektovanih pacijenata). Za sve pacijente sa NET-ima danas važeće preporuke su korišćenje UICC sedme TNM klasifikacije pri stažiranju bolesti što je od krucijalne važnosti zbog hirurške procene o lečenju plućnih karcinoida (156,157). Analizirajući razliku između TC i AC, većina studija pokazala je da AC imaju češće zahvaćene regionalne limfne čvorove u trenutku dijagnoze, u poređenju sa TC, kao i češći N2 stadijum, što je povezano i sa lošijim 5-to i 10-to godišnjim preživljavanjem kod AC (5,164,173,233).

U našoj studiji većina pacijenata imala je pT2 stadijum bolesti (T2a +T2b) (50,0%), dok je 36,5% pacijenata u celoj grupi karcinoida (TC +AC) imalo pT1 stadijum bolesti. Za ovu grupu karakteristično je da je većina pacijenata imala pN0 stadijum bolesti (63,46%) zbog čega je većina pacijenata imala I (Ia+ Ib) klinički stadijum bolesti (51,92% pacijenata). U našoj studiji, ustanovili smo da su pacijenti sa AC i statistički češće ($p < 0,01$) imali viši pT stadijum. Većina pacijenata sa TC imala je pT1 stadijum tumora (53,85%) dok su pacijenti sa AC u većini slučajeva imali pT2 (57,69%) i pT3 stadijum (23,08%). Pokazana je statistička razlika u odnosu na pozitivan nodalni status u trenutku dijagnoze ($p < 0,05$) obzirom da je većina pacijenata sa TC (80,77%) imala pN0 stadijum bolesti a većina pacijenata sa AC (53,85%) imala pozitivan nodalni status (pN1+pN2). Ova razlika se jasno odrazila i na potvrđenu statističku razliku između TC i AC a vezano za pTNM klinički stadijum bolesti. Pacijenti sa AC su i statistički češće imali viši stadijum bolesti ($p < 0,05$). (Tabela 30) I naša studija je ovom činjenicom takođe potvrdila važnost jasnog definisanja postojanja nodalne zahvaćenosti kod pacijenata sa karcinoidom bronha, zbog uticaja na prognozu TC i AC, obzirom da je potvrđena veza između nodalne zahvaćenosti i lošije prognoze kao i veće tendencije ka relapsu bolesti. Što se tiče odluke o operativnom lečenju i dalje ne postoje jasni hirurški stavovi vezani za operativno lečenje N2 stadijuma bolesti kod karcinoida bronha, obzirom

da bi većina hirurga danas predložila operativno lečenje za N2 stadijum bolesti kod karcinoida bronha, što je potvrđeno i važećim stavovima Evropskog Udruženja Torakalnih Hirurga (European Society of Thoracic Surgeons). U odnosu na vrstu operacije u celoj grupi naših pacijenata najčešće su rađeni lobektomija i bilobektomija (69,23%) i iako nije pokazana statistička razlika u vrsti rađenih operacija između TC i AC, kod pacijenata sa TC nešto češće su rađeni lobektomija /ili bilobektomija (80,77%) u odnosu na pacijente sa AC gde je češće rađena pneumonektomija (19,23%) (Tabela 31). Ovaj rezultat je u skladu sa drugim iskustvima gde je takozvani agresivni hirurški pristup imao prednost u odnosu na konzervativnu hirurgiju (165,166,177).

Iako se TC i AC smatraju tumorima niskog ili intermedijarnog gradusa maligniteta, oni mogu da daju kako regionalne tako i distalne metastaze, što značajno utiče na njihovu prognozu. Od 5% do 20% TC kao i 30% do 40% AC ima osobinu da daje metastaze i to čak i do deset godina nakon operativnog lečenja. Najčešće, relaps bolesti je sistemski sa pojavom metastaza u kostima ili jetri, što zajedno sa problemom kasnog postavljanja dijagnoze ovih tumora, značajno utiče na ukupnu prognozu (5,6). Studije su pokazale da uticaj na proces apoptoze bilo pojačavanjem ili usporavanjem apoptoze utiče na ponašanje i agresivnost malignih tumora , odnosno utiče na odgovor na terapiju i preživljavanje. Molekuli koji mogu biti od značaja za ćelijsku proliferaciju, angiogenezu i metastatsko širenje su ispitivani kao potencijalni terapijski targeti kod NET-a. (234). Obzirom da ne postoje definitivni zaključci vezani za jasnu distinkciju TC od AC, u našoj studiji cilj nam je bio da odredimo potencijalni uticaj ekspresija *p53*, *Bax*, *Bcl2*, *ERCC 1* i *IGF-1R* na ponašanje tumora kao i na ishod bolesti.

Studije su pokazale da je postojanje *p53* genetskih mutacija koje su vodile ka smanjenju prirodnog procesa apoptoze, dokazano kod čak 50% do 100% SCLC (235,236,237). Studija Brambile i saradnika pokazala je da mutirani imunofenotip *p53* nije bio nađen kod pacijenata sa TC kao i vrlo retko kod pacijenata sa AC dok je kod SCLC bio prisutan u 50% slučajeva. (238). Takođe objavljeni su radovi sa zaključkom da se ekspresija *Bcl2* i *Bax* menja u zavisnosti od agresivnosti NET-a (239). Na osnovu radova pokazano je da je postojanje *Bcl2* overekspresije, *Bax* nishodne-regulacije kao i postojanje *Bcl2/Bax* odnosa >1 , ukazivalo na veću agresivnost tumora koja je bila povezana sa overekspresijom *Bcl2* (240). Nasuprot tome, povišeni nivoi ekspresije *Bax* su bili u korelaciji sa dužim preživljavanjem kod pacijenata sa NET-ima. Obzirom da postojeći

podaci iz literature ukazuju da su pacijenti sa manje agresivnim oblicima NET-a (TC i AC), imali prosečno nešto više nivoe *Bax* ekspresije u odnosu na agresivnije oblike NET-a (SCLC i LCNET-e), kao i da je ova ekspresija bila u korelaciji sa dužim preživljavanjem, zaključeno je da su karcinoidi imali bolju prognozu u odnosu na agresivnije oblike NET-a, čime je ukazano da bi određivanje *Bax* ekspresije kod ovih tumora moglo imati prognostički značaj (106,238,241).

Analize genetskih ekspresija za *ERCC1*, *p53*, *IGF-1R* kao i *Bcl-2* i *Bax* u našoj studiji su urađene kod 38/52 pacijenta i dobijeni rezultati navedeni su u Tabeli 6. Analizom korelacija između parova ekspresija dobijene su jake korelacije između ekspresija: parova *ERCC1* i *p53* kao i *ERCC1* i *Bax*. (Spearman rho blizu 0,7) dok su za parove *ERCC1* i *IGF-1R* kao i *p53* i *Bax* i *p53* i *IGF-1R* dobijene umerene korelacije. Između ostalih parova je pokazana slabija korelacija. (Tabela 6). Obzirom na dobijene jake korelacije između parova *ERCC1* i *p53* i *ERCC1* i *Bax*, u našoj studiji, naša preporuka je da se nastave dalje detaljnije studije vezane za njihovu interakciju kao i međusobnu ulogu u patogenezi neuroendokrinih tumora.

Koristeći ROC krive, ispitivali smo diskriminativni potencijal genskih ekspresija, u cilju predikcije pod-tipa tumora (TC u odnosu na AC) kao i za procenu ishoda lečenja (u odnosu na nastanak relapse bolesti) za naše pacijente (Tabela 7). ROC analizom potvrdili smo da je nivo *Bcl2* ekspresije imao diskriminativni potencijal za predikciju pod-tipa karcinoida bronha. Za našu grupu pacijenata, na osnovu ROC krive, dobijena je i cut-off vrednost za vrednost *Bcl2* od 0,145. Na osnovu dobijenog rezultata možemo zaključiti da se određivanje nivoa ekspresije *Bcl2* može koristiti kao predikcioni biomarker gde pacijenti sa nižim vrednostima *Bcl2* ekspresije sa većom verovatnoćom imaju manje agresivan TC, u poređenju sa pacijentima sa AC koji su imali više nivoe *Bcl2* ekspresije.

Na osnovu ROC krive u našoj studiji je i za odnos *Bcl2/Bax* je dokazan diskriminacioni potencijal za predikciju PH podtipa tumora sa dobijenom cut-off vrednosti od 0,301. (Tabela 8 ; grafikon 3 i 4.) Pacijenti sa AC imali su viši *Bcl2/ Bax* odnos u poređenju sa TC. Ova studija potvrdila je da se određivanje *Bcl2* ekspresije ili *Bcl2/ Bax* odnosa može koristiti kao dodatni dijagnostički kriterijum pri razlikovanju TC od AC.

Za ostale nivoe ekspresija (*p53*, *IGF-1R*, *ERCC1* i *Bax*) u našoj grupi, koristeći ROC analize, nismo dokazali postojanje diskriminacionog potencijala za distinkciju TC od

AC. Dodatno, ROC analize nisu pokazale da je u našoj grupi pacijenata postojao prediktivni značaj izmerenih nivoa ekspresija za *p53*, *IGF-1R*, *ERCC1*, *Bax*, kao i *Bcl2* i *Bcl2/Bax* u odnosu na relaps bolesti ili letalni ishod. U odnosu na dostupne podatke iz literature, iako se smatra da je *p53* mutacioni status važna determinanta prognoze kancera, za sada, i druge studije nisu dokazale da je *p53* mutacioni status, sam po sebi, prediktor preživljavanja ili odgovora na antikancersku terapiju kod pacijenata sa NSCLC. Takođe, nije dokazana jasna veza između mutacionog statusa *p53* i verovatnoće da bi SCLC ili NSCLC bili podložniji ulasku u apoptozu (91). Neke od studija pokazale su da plućni karcinoidi kod kojih postoji wild tip *p53* imaju u daljem toku ipak nizak maligni potencijal što je dalo pretpostavku na postojanje različitih mehanizama koji učestvuju u tumorogenezi karcinoida u poređenju sa SCLC, iako obe vrste tumora, pripadaju, za sada, istoj gupi NET-a (242). Na osnovu dostupnih podataka iz literature, vezano za ekspresiju *ERCC1* postoje konfliktne rezultate. Dok je u studijama Kima, Smita i saradnika, kao i u studijama japanskih autora zaključeno da ne postoji povezanost *ERCC1* ekspresije i vremena do progresije bolesti ili ukupnog preživljavanja, studija Ceppija i saradnika pokazala je da je niži nivo ekspresije *ERCC1* bio povezan sa boljim ukupnim preživljavanjem (108).

Slično ovom zaključku i studije koje su se bavile korelacijom između *Bcl2* ekspresije i stepena apoptoze kod SCLC dale su konfliktne rezultate sa zaključkom da ekspresija *Bcl2* sama po sebi nije pokazana kao prognostički faktor kod pacijenata sa karcinomom pluća. Za pacijente sa plućnim karcinoidima do sada, u dostupnoj literature, nema dovoljno objavljenih rezultata o mogućem prognostičkom značaju nivoa ekspresije *Bcl2* (243).

Dodatno analizirajući korelacije nivoa ekspresija za *p53*, *IGF-1R*, *ERCC1*, *Bax*, *Bcl2* i *Bcl2/Bax* u odnosu na kliničke karakteristike tumora, iako bez pokazanog statističkog značaja u našoj grupi pacijenata, dobili smo rezultate koji su pokazali da su: (1) pacijenti sa višim vrednostima ekspresija *IGF-1R* imali viši pN stadijum bolesti, kao i češće AC. (2) Pacijenti sa višim nivoima ekspresije *p53* su imali niži klinički stadijum bolesti, niži pT i pN stadijum tumora kao i češće TC. (3) Pacijenti sa višim nivoima ekspresija *ERCC1* su imali niži pT stadijum i češće TC, (4) Pacijenti sa višim vrednostima *Bax* imali su češće: niži pT stadijum, klinički stadijum bolesti i češće TC. I studija Brambile i saradnika pokazala je da su profili ekspresije *p53*, *Bax* i *Bcl-2* bili povezani sa patohistološkim podtipom tumora ali samo između podgrupa (TC +AC) u odnosu na

(SCLC +LCNET). U ovoj studiji dokazana je predominacija *Bax* ekspresije kod pacijenata sa TC i AC u poređenju sa pacijentima sa SCLC i LCNET kod kojih je postojala predominacija ekspresije *Bcl2* (238). U studiji Brambile i saradnika, *p53* imunofenotip nije imao uticaj na preživljavanje u grupi pacijenata sa NET-ima. Ali obzirom da je u ovoj studiji uključeno samo četiri pacijenta sa AC , nije bilo moguće dati zaključak vezan za uticaj ekspresija kod karcinoida. U ovoj studiji nije pokazana korelacija između *p53*, *Bax* i *Bcl-2* ekspresije i stadijuma bolesti ali je pokazana korelacija između *Bcl-2/Bax* odnosa i stadijuma bolesti. Od u studiji ispitanih 24 NET-a sa *Bcl-2/Bax* odnosom većim od 1 samo 46% je bilo stadijuma I-II, dok je od 24 NET-a sa *Bcl-2/Bax* odnosom manjim od 1, njih 75% imalo niži stadijum (I-II) bolesti ($p= 0,04$). Visoki nivoi ekspresije *Bax* proteina bili su u korelaciji sa dužim preživljavanjem ($p= 0,002$) a visoki nivoi *Bcl-2* ekspresije u korelaciji sa kraćim preživljavanjem ($p= 0,004$). U Brambilinoj studiji *Bcl-2/ Bax* odnos manji od 1 je bio u korelaciji sa dužim preživljavanjem ($p= 0,005$) (238). I pojedine druge studije ukazale su na zaključak da je *Bcl2* ekspresija bila u korelaciji sa agresivnošću tumora (244).

U našoj studiji koristeći dobijene cut-off vrednosti za *Bcl2* (0,145) pokazali smo da su pacijenti sa nižim nivoima ekspresija i statistički češće bili mlađe životne dobi ($p= 0,02$). Iako bez pokazane statističke razlike, pacijenti sa višom cut-off vrednosti ekspresije *Bcl2* su imali češće viši pT stadijum bolesti (pT3, $p= 0,24$) kao i češće AC (58,6% pacijenata/ prema 22,2%; $p=0,12$). Iako bez dokazane statističke značajnosti, pokazali smo da su niži nivoi ekspresija *Bcl2* češće postojali kod pacijenata koji nisu imali relaps bolesti i koji su imali duže medijane preživljavanja. U našoj studiji pokazana je statistička značajna povezanost između postojanja viših nivoa ekspresije (cut-off > 0,145) *Bcl2* i *p53* ekspresije ($p= 0,07$). Koristeći dobijenu cut-off vrednost za *Bcl2/Bax* (0,301) pokazali smo da su pacijenti sa *Bcl2/Bax* > 0,301 statistički češće imali pT3 (viši) stadijum bolesti (33,3% prema 0%, $p = 0,001$), kao i češće pN2 (viši) stadijum (19,0% prema 5,88%, $p= 0,28$; iako bez statistički potvrde), kao i češće viši (IIIa) stadijum bolesti (23,8% prema 5,88%, $p= 0,28$; iako bez statističke potvrde). Pacijenti sa nižim *Bcl2/Bax* odnosom (cut off < 0,301) su imali češće TC u odnosu na AC (64,7% prema 35,2%, $p= 0,10$; bez statističke potvrde) kao i ređe relaps bolesti (64,7 % prema 35,29 %, $p= 0,30$, bez statističke značajnosti). Pacijenti sa *Bcl2/Bax* < 0,301 su imali duže medijane preživljavanja. Pokazana je statistički značajna povezanost ($p= 0,01$) između

$Bcl2/Bax < 0,301$ i nižih nivoa ekspresije ERCC1. U literature se navodi da su drugi autori koristili cut-off vrednost za $Bcl2/Bax \leq 1$. U studiji Brambile i saradnika zaključeno je da je kod pacijenata sa karcinoidima bronha (TC i AC) kod kojih je postojala niža ekspresija *Bax* (što je rezultiralo i sa postojanjem *Bcl2/Bax* odnosom > 1 kod ovih pacijenata) postojalo statistički lošije preživljavanje. U toj studiji međutim ovaj trend nije potvrđen multivarijantnom analizom, tako da je zaključeno da se histološka klasifikacija kod pacijenata sa neuroendokrinim tumorima pokazala kao bolji prediktor preživljavanja nego *Bcl2/Bax* odnos ≥ 1 (238). U našoj studiji pokazali smo da su više vrednosti *Bax* ekspresija bile češće kod pacijenata sa TC u poređenju sa pacijentima sa AC. Takođe pacijenti sa višim srednjim vrednostima *Bcl2* su imali češće AC što je vodilo i ka višem *Bcl2/Bax* odnosu kod pacijenata sa AC. Ovi podaci pojačavaju pretpostavku da fin balans između molekula koji učestvuju u mehanizmima apoptoze ima vitalnu ulogu u procesu tumorogeneze.

U našoj grupi Medijana za OS nije dostignuta i petogodišnja stopa preživljavanja je bila 76,5% (Grafikon 5). Svi dosadašnji podaci iz literature potvrđuju da je korišćenje sadašnje TNM klasifikacije korisno za dokazivanje korelacije između TNM stadijuma bolesti i prognoze bolesti. Kao što je već prethodno objavljeno pacijenti sa regionalno zahvatanjem limfnih čvorova, većim tumorom i višim stadijumom bolesti, kao i PH dokazanim AC imaju lošiju prognozu (33,34,165,166). U našoj studiji pokazali smo da su pacijenti sa višim pT stadijumom bolesti i statistički potvrđeno imali lošije preživljavanje. (pT3 u poređenju sa pT1 i pT2; $p < 0,05$). Takođe pacijenti kod kojih su bili zahvaćeni limfni čvorovi imali su i statistički lošije ukupno preživljavanje (pN1+N2 u poređenju sa pNo; $p < 0,05$). Isti trend je pokazan i za vezu kliničkog stadijuma bolesti kod karcinoida bronha i ukupnog preživljavanja. Pacijenti sa višim kliničkim stadijumom bolesti imali su i statistički lošije ukupno preživljavanja (II i IIIa stadijum u poređenju sa I stadijumom bolesti; $p < 0,05$) (Tabele 36 i 37 i Grafikoni 6,7 i 8). U skladu sa poznatim podacima iz literature i u našoj grupi pacijenti sa AC imali su lošiju prognozu u poređenju sa TC ($p = 0.02$; Tabela 36, Grafikon 10), što u kombinaciji sa dodatno postojanjem zahvaćenosti limfnih čvorova i višim stadijumom bolesti može predstavljati i kriterijum za odluku o primeni adjuvantno hemioterapije kod ovih pacijenata (127).

Svi dostupni podaci u literaturi ukazuju da je operativno lečenje osnovni i jedini kurativni oblik lečenja pacijenata sa karcinoidom bronha i ukoliko se operišu, karcinoidi bronha

imaju dobru prognozu (127,165,166,177). U literaturi se izrazito povoljna prognoza i dugogodišnje preživljavanje TC objašnjava malim procentom nastanka lokalnih i distalnih metastaza koje se eventualno mogu javiti u samom toku bolesti ili u postoperativnom toku. TC može da da regionalne meastaze u 5 do 10% slučajeva što je potvrđeno u mnogim studijama (177). Razlikovanje tipičnog od atipičnog karcinoida je važno zbog prognostičkog aspekta. Pacijenti sa TC imaju dobru prognozu i u literaturi navedeno 5- godišnje preživljavanje od 87 % - 100% i 10- to godišnje preživljavanje 82% - 87% (58,165,166). Za razliku od toga AC je u najvećem broju studija pokazao lošu prognozu zbog velike onkološke agresivnosti (58,123,225,245). Za atipični karcinoid rezultatima u literaturi pominju 5-to godišnje preživljavanje od 25% - 75 % 5 dok je 10- to godišnje preživljavanje za pacijente sa AT samo 22% - 56% u najvećem broju serija (118) . Ukupno 5-to godišnje preživljavanje za pacijente sa karcinoidom bronha je bolje ukoliko su pacijenti lečeni hirurški i kreće se od 87 – 92% a 10-to godišnje preživljavanje od 77% -90% (6,177,246,247). Rezultati 5-godišnjeg i 10-to godišnjeg preživljavanja se razlikuju između serija pacijenata u zavisnosti od procenta pacijenata koji imaju postavljenu dijagnozu AC. U našoj grupi pacijenata bolje ukupno preživljavanje bilo je kod pacijenata kod kojih je rađena lobektomija ili bilobektomija, u poređenju, naročito, sa rađenom pneumonektomijom ($p= 0,01$).

Rezultati univarijantne Cox-ove regresione analize za ukupno preživljavanje u celoj grupi potvrdili su da su pacijenti sa višim pT stacijumom bolesti (pT2 i pT3) u odnosu na niži pT1 imali bolje ukupno preživljavanje (dokazana statistička značajnost, $p= 0,003$). Pacijenti koji su imali pozitivnu zahvaćenost limfnih čvorova (N1+N2+N3) u poređenju sa N0 stadijumom bolesti imali su i statistički potvrđeno, lošije ukupno preživljavanje ($p= 0,048$) kao i pacijenti sa višim kliničkim stadijumom bolesti ($p= 0,05$). Pacijenti sa AC imali su u poređenju sa TC lošije preživljanje (dokazana statistička značajnost , $p= 0,03$) , takođe statistički je pokazano da je i vrsta operacije uticala na ukupno preživljavanje ($p= 0,0006$) Tabela 45. Iako je ukupno preživljavanje bilo lošije u grupi pacijenata sa višim *Bcl2/ Bax* odnosom ($Bcl2/ Bax > 0,301$), nije dostignuta statistička razlika, pri korišćenju ROC analizom dobijene cut-off vrednosti od 0,301. Za dobijenu Roc cut-off vrednost 0,145 za *Bcl2* , iako nije pokazana statistička razlika, pacijenti sa nižom vrednosti su imali lošije OS , a medijana OS za pacijente sa $Bcl2 > 0,145$ nije dostignuta.

Obzirom na sve dobijene rezultate mišljenja smo da su dodatna ispitivanja disregulacije ekspresije familije *Bcl2* proteina kao i njihov uticaj na preživljavanje kod pacijenata sa NET-ima pluća u budućnosti neophodna, i na većim kohortama pacijenta, kako bi se ukazalo na jasnije biološko ponašanje ovih retkih tumora.

6. ZAKLJUČCI

1. U odnosu na prezentujuće simptome između pacijenata sa TC i AC nije pokazana statistička razlika vezana za učestalost simptoma sem za postojanje hemoptizija gde je pokazana statistička značajna razlika: pacijenti sa AC su statistički češće imali hemoptizije (53,85%) u odnosu na pacijente sa TC koji su u većini slučajeva bili bez hemoptizija (80,77%)($p = 0,009$).
2. Ispitivanjem pTNM karakteristika tumora pokazano je da su pacijenti sa AC statistički češće imali inicijalno viši pT stadijum bolesti (pT2a , pT2b kao i pT3) ($p = 0,025$) kao i zahvaćene limfne žlezde (pN1+N2) ($p = 0,009$)
3. Pacijenti sa AC su statistički češće imali stadijum II/III bolesti ($p = 0,01$).
4. Primenjujući analize Receiver Operating Characteristics kriva (ROC), potvrdili smo samo za *Bcl2* i *Bcl2/Bax* odnos postojanje diskriminativnog potencijala za definisanje PH podvrste tumora (AC u odnosu na TC).
5. Našom analizom ustanovljene su ROC cut-off vrednosti od: 0.1451 za *Bcl2* i 0.3014 za odnos *Bcl2/Bax*.
6. Primenjujući ROC analizu nismo potvrdili postojanje diskriminacionog potencijala za ostale nivoe ekspresija parametara: *IGF-1R*, *p53*, *Bax*, *ERCC1* u odnosu na definisanje podvrste tumora (AC / TC) , kao i u odnosu na ishod lečenja.
7. Ukupno praćenje pacijenata je bilo između 1 i 237 meseca, sa medijanom od 93,54 meseca. (srednje 102 meseca, SD 57,94). Za to vreme relaps bolesti je imalo 14 od 52 pacijenta (26,92%) nakog čega je usled dalje sistemske progresije nastupio i letalni ishod kod 14 /52 pacijenata.
8. Medijana za OS nije dostignuta i petogodišnja stopa preživljavanja je bila 76,5%
9. Analiza preživljavanja potvrdila je da su neke kliničko-patološke karakteristike tumora imale uticaj na ukupno preživljavanje. Pacijenti sa pT3 stadijumom bolesti imali su statistički značajnije, kraće preživljavanje u poređenju sa pacijentima koji su imali pT1 i pT2 stadijum bolesti
10. Postojanje zahvaćenosti limfnih nodusa (N1+N2) u poređenju sa pacijentima koji su imali No status dalo je statistički lošije OS.

11. Pacijenti sa stadijumom III bolesti su imali statistički dokazano, kraće ukupno preživljavanje u poređenju sa pacijentima u I stadijumu bolesti.
12. Pacijenti kod kojih je rađena pneumonektomija imali su lošije ukupno preživljavanje u odnosu na pacijente kod kojih je rađena lobektomija ili bilobektomija, ali bolje OS u poređenju sa pacijentima kod kojih je rađena atipična resekcija tumora
13. Pokazana je statistički značajna razlika u OS u odnosu na PH podtip tumora: pacijenti sa AC imali su kraće ukupno preživljavanje u poređenju sa pacijentima sa TC
14. Rezultati univarijantne Cox-ove regresione analize za ukupno preživljavanje u celoj grupi potvrdili su da su : (1) pacijenti sa višim pT stadijumom bolesti (pT2 i pT3) u odnosu na niži pT1 imali statistički potvrđeno bolje ukupno preživljavanje ($p=0,003$), (2) Pacijenti koji su imali pozitivnu zahvaćenost limfnih čvorova ($N1+N2+N3$) u poređenju sa $N0$ stadijumom bolesti imali su statistički lošije ukupno preživljavanje ($p=0,048$), (3) pacijenti sa višim kliničkim stadijumom bolesti imali su statistički lošije ukupno preživljavanje ($p=0,05$), (4) Pacijenti sa AC imali su u poređenju sa TC satistički lošije preživljanje ($p=0,03$), (5) vrsta operacije statistički je uticala na ukupno preživljavanje ($p=0,0006$)
15. Nije pokazana statistička razlika u OS u odnosu na kategorije *Bcl2* i *Bcl2/ Bax* za ROC dobijene cut-off vrednosti za *Bcl2* i *Bcl2/Bax* , mada je medijana OS bila lošija u grupi sa višim *Bcl2/Bax* odnosom (82,4 meseca prema 137,4 meseca) , ali bez pokazane statistički značajne razlike.
16. *Bcl2* ekspresija i *Bcl2/Bax* odnos mogu biti značajni nezavisni dijagnostički parametri za distinkciju AC u odnosu na TC bronha.
17. Obzirom da PH podtip (AC u odnosu na TC) ima uticaj na OS kod pacijenata sa karcinoidom bronha, dodatna istraživanja na većoj grupi ovih pacijenata mogla bi jasnije da definišu prognostički potencijal *Bcl2* i odnosa *Bcl2/Bax* za OS kod ovih pacijenata.

7. LITERATURA

1. Jensen RT, Doherty GM. Carcinoid tumors and the carcinoid syndrome. In: DeVita VT.Jr, Hellman S, Rosenberg SA,eds. Cancer: principles and practice of oncology, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001:1813.
2. De Lellis RA. The neuroendocrine system and its tumors: an overview. *Am J Clin Pathol* 2001; 115:S5.
3. Filosso PL, Asamura H, Brunelli A, et al. Knowledge of pulmonary neuroendocrine tumors: where are we now? *Thorac Surg Clin.*2014;24:ix-xii.
4. Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med.*2010;134:1628- 1638.
5. Yao JC, Hassan M, Phan A et al. One hundred years after “ carcinoid”: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35 825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26:3063-72.
6. Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer.* 2003;97:934-959.
7. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicolson AG, WHO Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.4thed.Lyon, France: International Agency for Research on Cancer ; 2015.
8. Oberndorfer S. Karzinoide tumoren des dunndarms. *Frankf Z Pathol* 1907; 1:426-432.
9. Lubarch O. Ueber den primaren Krebs des Ileum, nebst Bemerkungen ubes das gleichzeitige Vorkommen von Krebs und Tuberkolose. *Virchows Arch* 1888; 111:280-317.
10. Soga J. Statistical evaluation of 2001 carcinoid cases with metastases, collected from literature: a comparative study between ordinary carcinoids and atypical varieties. *J Exp Clin Cancer Res* 1998;17:3.
11. Fenoglio-Preiser CM. Gastrointestinal neuroendocrine/neuroectodermal tumors. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: S 79.
12. Feldman JM, O’Dorisio TM: Role of neuropeptides and serotonin in the diagnosis of carcinoid tumors. *Am J Med* 1986; 81 (Suppl 6B): 41.

13. Fraser RS, Muller NL, Colman N, Pare PD. Neuroendocrine neoplasms. In: Fraser RS, Muller NL, Colman N, Pare PD, eds. *Fraser and Pare's Diagnosis of Diseases of the Chest*. Philadelphia:WB Saunders, 1999; 1229-1251.
14. Kema IP, de Vries GE, Sloof MJH, Biesma B, Muskiet FAJ. Serotonin, catecholamines, histamine, and their metabolites in urine, platelets, and tumor tissue of patients with carcinoid tumors. *Clin Chem* 1994; 40:86.
15. Frohlich F. Die „Helle Zelle“ der Bronchialschleimhaut und ihre beziehungen zum Problem der Cemoreceptoren. *Frankfurter Z Pathol* 1949; 60: 517.
16. Gaffey MJ, Mills SE, Askin FB, Ross GW, Sale Ge et al. Clear cell tumor of the lung. A clinicopathologic, immunohistochemical and ultrastructural study of eight cases. *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 248-259.
17. Gaffey MJ, Mills SE, Frierson HFJr, Askin FB, et al. Clear cell tumor of the lung. Immunohistochemical and ultrastructural evidence of melanogenesis. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 644-653.
18. Warren WH, Memoli VA, Gould VE. Immunohistochemical and ultrastructural analysis of bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms. *Ultrastruct Pathol* 1984; 7: 185-199.
19. US National Cancer Institute. Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) data base, 1973-2004.<http://seer.cancer.gov/>.
20. Berge T, Linell F. Carcinoid tumors. Frequency in a defined population during a 12-year period. *Acta Pathol Microbiol Scand (A)* 1976;84:322-330.
21. Gatta G, Ciccolallo L. Eurocare Working group: Survival from rare cancer in adults. *Lancet Oncol* 7:132-140,2006.
22. Morandi U, Casali C, Rossi G. Bronchial Typical Carcinoid Tumors. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2006, 18:191-198.
23. Phan AT, Oberg K, Choi J, et al. NANETS consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the thorax (includes lung and thymus). *Pancreas*.2010;39:784-798.
24. Sachitanandan N, Harle RA, Burges JR: Bronchopulmonary carcinoid in multiple neuroendocrine neoplasia type 1. *Cancer* 103(3):509-5,2005.
25. Zikusoka MN et al. The molecular genetics of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer* 2005; 104:2292-2309.

26. Warren WH, Gould VE: Neuroendocrine tumors of the bronchopulmonary tract: a reappraisal of their classification after 20 years. *Surg Clin North Am* 2002; 82:525-540.
27. Williams E, Sandler M. The classification of carcinoid tumors. *Lancet* 1963;1:238-239.
28. Travis WD, Linnoila RI, Traskos MG, Hitchcock Cl, et al. Neuroendocrine tumors of the lung with proposed criteria for large-cell neuroendocrine carcinoma. An ultrastructural, immunohistochemical and flow cytometric study fo 35 cases. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 529-553.
29. Travis WD, Rush W, Flieder DB, et al. Survival analysis of 200 pulmonary neuroendocrine tumors with clarification of criteria for atypical carcinoid and its separation from typical carcinoid. *Am J Surg Pthol* 1998; 22: 934-944.
30. Travis WD, Colby TV, Corrin B. *Histological typing of the Lung and Pleural Tumours*. 3rd ed. Berlin: Springer, 1999.
31. Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, et al. *Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Pathology and Genetics*. IARC press, Lyon, 2004.
32. Beasley MB, Brambilla E, Travis WD. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. *Semin Roentgenol* 2005;40:90-97.
33. Volante M, Gatti G, Papotti M. Classification of lung neuroendocrine tumors: lights and shadows. *Endocrine*. 2015;50:315-319.
34. Travis WD, Giroux DJ, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the inclusion of broncho-pulmonary carcinoid tumors in the torthcoming (seventh) edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2008;3:1213-1223.
35. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization classification of llung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances sissnce the 2004 classification. *J Thorac Oncol*. 2015;10:1243-1260.
36. Swarts DRA, vanSuylen R.J, den Bakker MA, et al. Interobserver variability for the WHOclassification of pulmonary carcinoids. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:1429-1436.

37. Mangum MD, Greco FA, Hainsworth JD, Hande KR, et al. Combined small-cell and non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*.7; 1989:607-612.
38. D'Adda T, Pelosi G, Lagrasta C, Azzoni C, et al. Genetic alterations in combined neuroendocrine neoplasms of the lung. *Mod.Pathol*.21;2008:414-422.
39. Fellegara G, D'Adda T, Pilato FP, Froido E, et al. Genetics of a combined lung small cell carcinoma and large cell neuroendocrine carcinoma with adenocarcinoma. *Virchows Arch*.453; 2008:107-115.
40. Huang J, Behrens C, Wistuba II, Gazdar AF, et al. Clonality of combined tumors. *Arch Pathol.Lab.Med*.126;2002:437-441.
41. Travis WD, Brambilla, E, Burke, AP, Marx, A, Nicholson, AG. (Eds). World Health Organisation classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon: IARC; 2015. ISBN: 9789283224365.
42. Soga J, Yakuwa Y, *1999) Bronchopulmonary carcinoids: An analysis of 1875 reported cases with special reference to a comparison between typical carcinoids and atypical varieties. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 5: 211- 219.
43. Modlin IM, Lye KD. Carcinoid tumors of the stomach.*Ann Surg Oncol* 2003;12(2):153.
44. Sterlacci W, Fiegl M, Hilbe W, Auberger J, Mikuz G, Tzankov A. Clinical relevance of neuroendocrine differentiation in non-small cell lung cancer assessed by immunohistochemistry: a retrospective study on 405 surgically resected cases.
45. Thomas J, Lamb T, Ashcrof T, Corrin B, Edwards C, et al. How reliable is the diagnosis of lung cancer using small biopsy specimens? Report of a UKCCR lung cancer working party. *Thorax* 1993; 48: 1135-1139.
46. Crapanzano P, Zakowski MF. Diagnostic dilemmas in pulmonary cytology. *Cancer* 2001; 93: 364-375.
47. Ruffini E, Bongiovani M, Cavallo A et al.: The significance of associated pre-invasive lesions in patients resected for primary lung neoplasm.*Eur J Cardiothoracic Surg* 165-172,2004.
48. Wick MR. Immunohistology of neuroendocrine and neuroectodermal tumors. *Semin Diagn pathol* 2000; 17: 194-203.

49. Stojšić J, Jovanic I, Markovic J, Gajic M. Contribution of immunohistochemistry in the differential diagnosis of non-small cell lung carcinomas on small biopsy samples. *J BUON*. 2013; 18(1): 176-87. PMID: 23613404
50. Klingen TA, 1, Chen Y, Gundersen MD, Aas H, Westre B, Sauer T. Thyroid transcription factor-1 positive primary breast cancer: a case report with review of the literature. *Diagn Pathol*. 2010; 5:37-41. DOI: [10.1186/1746-1596-5-37](https://doi.org/10.1186/1746-1596-5-37).
51. Graham AD, Williams AR, Salter DM. TTF-1 expression in primary ovarian epithelial neoplasia. *Histopathology*. 2006; 48(6): 764-5. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02365.x
52. Norheim i, Theodorsson E, Brodin E, Oberg K. Tachykinins in carcinoid tumors: their use as a tumor marker and possible role in the carcinoid flush. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 605
53. Skov B.G, Holm B, Erreboe A. et al. ERCC1 and Ki-67 in small cell lung carcinoma and other neuroendocrine tumors of the lung: Distribution and impact on survival. *J. Thorac. Oncol.* 2010. 5:453-459.
54. Burkitt MD, Pritchard DM, Review article : pathogenesis and management of gastric carcinoid tumors. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:1305-1320.
55. Borch K, Ahren B, et al. Gastric carcinoids : biologic behavior and prognosis after differentiated treatment in relation to type. *Ann Surg* 2005; 242:64-73.
56. Modlin IM, Kidd M, Latich I, et al. Current status of gastrointestinal carcinoids. *Gastroenterology* 2005; 128:1717-1751.
57. Gal AA, Koss MN, Hochholzer L. Pigmented pulmonary carcinoid tumor. An immunohistochemical and ultrastructural study. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 832-836.
58. Hage R, Brutel de la Riviere A, Seldenrijk CA, et al. Update in Pulmonary Carcinoid Tumors: A Review Article. *Ann Surg Oncol* 2003; 10:697-704.
59. Martini N, Zaman MB, Bains MS , et al. Treatment and prognosis in bronchial carcinoid involving regional lymph nodes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107:1-7.

60. Bensch KG, Corrin B, Pariente R, Spencer H, et al. Oat-cell carcinoma of the lung. Its origin and relationship to bronchial carcinoid. *Cancer* 22;1968:1163-1172.
61. Bensch KG, Gordon GB, Miller LR. Studies on the bronchial counterpart of the Kultschitzky (argentaffin) cell and innervation of bronchial glands. *J Ultrastruct. Res.*12;1965:668-686.
62. Warburton D, Schwartz M, Tefft D, Flores-Delgado G, et al. The molecular basis of lung morphogenesis. *Mech Dev.*92;2000:55-81.
63. Ito T, Udaka N, Okudela K, Yazawa T, et al. Mechanisms of neuroendocrine differentiation in pulmonary neuroendocrine cells and small cell carcinoma. *Endocr pathol.*14; 2003: 133-139.
64. Sidhu GS. The endodermal origin of digestive and respiratory tract APUD cells. Histopathologic evidence and a review of the literature. *Am J Pathol.* 96; 1979: 5-20.
65. Linnoila RI. Functional facets of the pulmonary neuroendocrine system. *Lab Invest.* 86;2006:425-444.
66. Boers JE, den Brok JL, Koudstaal J, Arends JW, et al. Number and proliferation of neuroendocrine cells in normal human airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med.* 154; 1996: 758-763.
67. Cutz P, Jackson A. Neuroepithelial bodies as airway oxygen sensors. *Respir Physiol.*115;1999:201-214.
68. Sutherland KD, Berns A. Cell of origin of lung cancer. *Mol Oncol.*4;2010:397-403.
69. Sutherland KD, Proost N, Brouns I, Adriansen D, et al. Cell of origin of small cell lung cancer: inactivation of Trp53 and rb1 in distinct cell types of adult mouse lung. *Cancer Cell.* 19;2011:754-764.
70. Linnoila LR, Li Y. Neuroendocrine transcription factor ASCL1 defines multiple progenitors in the lung during the development and repair. *J Thorac Oncol.*6;2011:S372-S373.
71. Bonikos DS, Archibald R, Bensch KG. On the origin of the so-called tumorlets of the lung. *Hum Pathol.*7; 1976: 461-469.

72. Walch AK, et al.: Typical and atypical carcinoid tumors of the lung are characterized by 11q deletions as detected by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 1998,153:1089-1098.
73. Debelenko LV, Swalwell JJ et al. MEN 1 gene mutation analysis of high grade neuroendocrine lung carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 28:58-65.
74. D'Adda T, Keller G, Bordi C et al.: Loss of heterozygosity in 11q13-14 regions in gastric neuroendocrine tumors non associated with multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome. *Lab Invest* 1999,79:671-677.
75. Zhao J, Meir D et al.: Genomic alteration in well-differentiated gastrointestinal and bronchial neuroendocrine tumors (carcinoids). *Am J Pathol* 2000,157:1431-1438.
76. Wistuba II, Behrens C, Virmani AK, Mele G, et al. High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/ preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res.* 60;2000: 1949-1960.
77. Wistuba II, Behrens C, Milchgrub S, Bryant D, Hung J, et al. Sequential molecular abnormalities are involved in the multistage development of squamous cell lung carcinoma. *Oncogene.* 18;1999: 643-650.
78. Petzmann S, Ullmann R, Halbwdel I, Popper HH. Analysis of chromosome-11 aberrations in pulmonary and gastrointestinal carcinoids: an array comparative genomic hybridisation-based study. *Virchows Arch.*445;2004:151-159.
79. Swarts DR, Claessen SM, Jonkers YM, van Suylen RJ, et al. Deletions of 11q22.3-q25 are associated with atypical lung carcinoids and poor clinical outcome. *Am J Pathol.*179; 2011:1129-1137.
80. Rasio D, Negrini M, Manenti G, Dragani TA, Croce CM, et al. Loss of heterozygosity at chromosome 11q in lung adenocarcinoma: identification of three independent regions. *Cancer Res.*55; 1995:3988-3991.
81. Ullmann R, Petzmann S, Klemen H, Fraire AE, et al. The position of pulmonary carcinoids within the spectrum of neuroendocrine tumors of the lung and other tissues. *Genes Chromosomes Cancer.*34;2002:78-85.
82. Koreth J, Bakkenist CJ, McGee JO. Chromosomes 11Q and cancer: a review. *J Pathol.* 187; 1999: 28-38.

83. Marchevsky AM, Walts AE. Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia (DIPNECH). *Semin Diagn Pathol.*2015;32:438-444.
84. Wirtschafter E, Walts AE, Liu ST, Marchevsky AM. Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia of the lung (DIPNECH): current best evidence. *Lung.* 2015;193:659-667.
85. Travis WD. Pathology and diagnosis of neuroendocrine tumors: lung neuroendocrine. *Thoracic Surg Clin.*2014;24:257-266.
86. Gustafsson BI, Kidd M, Chan A, Malfertheiner MV, et al. Bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Cancer.*2008; 113:5-21.
87. Hendry JH, West CM. Apoptosis and mitotic cell death: their relative contributions to normal- tissue and tumor radiation response. *Int J Radiat.* 1997; 71:709-719.
88. Soini Y, Paakko P, Lehto VP. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *Am J Paathol.*153;1998:1041-1053.
89. Komaki R, Milas L, Ro JY, et al. Prognostic biomarker study in pathologically staged N1 non-small cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*40;1998:787-796.
90. Reeve JG, Xiong J, Morgan J , et al. Expression of apoptosis-regulatory genes in lung tumor cell lines: relationship to p53 expression and relevance to acquired drug resistance. *Br J Cancer.*73; 1996:1193-1200.
91. Sirzen F, Zhivotovsky B, Nilsson A, et al. Higher spontaneous apoptotic index in small cell compared with non small cell lung carcinoma cell lines; lack of correlation with Bcl2/Bax. *Lung Cancer.*22;1998:1-13.
92. Sirzen F, Zhivotovsky B, Nilsson A, et al. Spontaneous and radiation-induced apoptosis in lung carcinoma cells with different intrinsic radiosensitivities. *Anticancer Res.*18;1998:695-699.
93. Joseph B, Ekedahl J, Lewensohn R, et al. Differences in expression of procaspases in small cell and non-small cell lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.*262;1999:381-387.
94. Swarts DR, Ramaekers FC, Speel EJ. Molecular and cellular biology of neuroendocrine lung tumors: evidence for separate biological entities. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826(2):255-71.

95. Brambilla E, Negoescu A, Gazzeri S, et al. Apoptosis-related factors p53, Bcl2, and Bax in neuroendocrine lung tumors. *Am J Pathol* 1996; 149(6): 1941–1952.
96. Bristow RG, Benchimol S, Hill RP. The p53 gene as a modifier of intrinsic radiosensitivity: implications for radiotherapy. *Radiother Oncol.* 40;1996:197-223.
97. Chiarugi V, Magnelli L, Cinelli M. Role of p53 mutations in the radiosensitivity status of tumor cells. *Tumori.* 84; 1998:517-520.
98. Safran H, King T, Choy H et al. P53 mutations do not predict response to paclitaxel/radiation for non-small cell lung carcinoma. *Cancer.* 78;1996:1203-1210.
99. Reed JC. Bcl2 family proteins. *Oncogene.* 17;1998:325-336.
100. Campos L, Roualt JP, Sabido O, et al. High expression of Bcl-2 protein in acute myeloid leukemia cells is associated with poor response to chemotherapy. *Blood.* 81;1993:3091-3096.
101. Silvestrini R, Costa A, Lequaglie C , et al. Bcl-2 protein and prognosis in patients with potentially curable non-small-cell lung cancer. *Virchows Arch.*432;1998:441-444.
102. Maitra A, Amirkhan RH, Saboorian MH, et al. Survival in small cell lung carcinoma is independent of Bcl-2 expression. *Hum Pathol.*30;1999:712-717.
103. Anton RC, Brown RW, Younes M, et al. Absence of prognostic significance of Bcl-2 immunopositivity in small cell lung cancer: analysis of 427 cases. *Hum Pathol.*28;1997:1079-1082.
104. Fontanini G, Vignati S, Bigni D, et al. Bcl2 protein: a prognostic factor inversely correlated to p53 in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer.*1995,71:1003-1007.
105. Laitinen KL, Soini Y, Mattila J et al. Atypical bronchopulmonary carcinoids show a tendency toward increased apoptotic and proliferative activity. *Cancer* 2000;88:1590-8.
106. Granberg D, Wilander E et al. Prognostic markers in patients with typical bronchial carcinoid tumors. *J Clin Endocrinol metab* 2000; 85:3425-30.
107. Lohmann DR, Negoescu A, et al. Infrequent mutations of the p53 gene in pulmonary carcinoid tumors. *Cancer Res* 1993;53:5797-801.

108. Skov B.G, Holm B, Erreboe A, et al. ERCC1 and Ki-67 in small cell lung carcinoma and other neuroendocrine tumors of the lung: Distribution and impact on survival. *J. Thorac. Oncol.* 2010, 5:453–459.
109. Lopez-Calderero I, Chavez ES, Garcia-Carbonero R. The insulin-like growth factor pathway as a target for cancer therapy. *Clin Transl Oncol* 2010; 12:326-38.
110. Swarts DR, Ramaekers FC, Speel EJ. Molecular and cellular biology of neuroendocrine lung tumors: evidence for separate biological entities. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826(2):255-71.
111. Gatto F, Hofland LJ. The role of somatostatin and dopamine D2 receptors in endocrine tumors. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18(6):R233-51.
112. Kalhan A, Gharibi B, Vazquez M, et al. Adenosine A2A and A2B receptor expression in neuroendocrine tumours: potential targets for therapy. *Purinergic Signal* 2012; 8(2):265-74.
113. Grossrubatscher E, Veronese S, Ciaramella PD. High expression of dopamine receptor subtype 2 in a large series of neuroendocrine tumors. *Cancer Biol Ther* 2008; 7(12):1970-8.
114. Fuxe K, Ferré S, Canals M, et al. Adenosine A2A and dopamine D2 heteromeric receptor complexes and their function. *J Mol Neurosci* 2005; 26(2-3):209-20.
115. Ferrada C, Ferré S, Casadó V, et al. Interactions between histamine H3 and dopamine D2 receptors and the implications for striatal function. *Neuropharmacology* 2008; 55(2):190-7.
116. Oberg K. Carcinoid tumors: molecular genetics, tumor biology and update of diagnosis and treatment. *Curr Opin Oncol* 2002; 14:38.
117. Shimizu T, Tanaka S, Haruma K, et al. Growth characteristics of rectal carcinoid tumors. *Oncology* 2000; 59:229-237.
118. Thomas CF, Tazelaar HD, Jett JR. Typical and atypical pulmonary carcinoids: outcome in patients presenting with regional lymph node involvement. *Chest* 2001; 119:1143-1150.
119. Turner GB, Johnston BT, et al. Circulating markers of prognosis and response to treatment in patients with midgut carcinoid tumors. *Gut* 2006;55:1586-1591.

120. Rorstad O. Prognostic indicators for carcinoid neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. *J Surg Oncol* 2005; 89:151-160.
121. Corleto VD, Delle Fave G, Jensen RT. Molecular insights into gastrointestinal neuroendocrine tumors: importance and recent advances. *Dig Liver Dis* 2002; 34:668.
122. Kytola S, Hoog A et al.: Comparative genomic hybridization identifies loss of 18q22-qter as an early and specific event in tumorigenesis of midgut carcinoids. *Am J Path* 2001,158:1803-1808.
123. Filosso PL, Rena O, Donati G, et al. Bronchial carcinoid tumors: surgical management and longterm outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 303-309.
124. Schreurs AJM, Westermann CJJ, et al. A twenty-five year follow-up of ninety-three resected typical carcinoid tumors of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104:1470-1475.
125. Fink G, Krelbaum T, Yellin A, et al. Pulmonary carcinoid: presentation diagnosis and outcome in 142 cases in Israel and review of 640 cases from the literature. *Chest* 2001; 119:1647-1651.
126. Caplin ME, et al. ENETS consensus conference participants. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. *Ann Oncol*.2015 Aug;26(8):1604-20.
127. Wolin EM. Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated and Intermediate-Differentiated Neuroendocrine Tumors of the Lung. *Chest*.2017 May;151(5):1141-1146.
128. Detterbeck FC, Clinical presentation and evaluation of neuroendocrine tumors of the lung. *Thoracic Surg Clin*.2014;24:267-276.
129. Scanagatta P, Montesor E, Pergher S, et al. Cushings syndrome induced by bronchopulmonary carcinoid tumors. A review of 98 cases and our experience of two cases. *Chir Ital* 2004; 56:63-70.
130. Osella G, Orlandi F, Caraci P, et al. Acromegaly due to ectopic secretion of GHRH by bronchial carcinoid in a patient with empty sella. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 163-169.

131. Fischer S, Kruger M, et al. Giant bronchial carcinoid tumors: a multidisciplinary approach. *Ann Thoracic Surg* 2001; 71:386-393.
132. Karmy-Jones R, Vallieres E. Carcinoid crisis after biopsy of bronchial carcinoid. *Ann Thorac Surg* 1993; 56:1403-1405.
133. Deb SJ, Nichols FC, Allen MS, et al. Pulmonary carcinoid tumors with Cushing's syndrome: an aggressive variant or not? *Ann Thoracic Surg* 2005;79: 1132-1136.
134. Athanassiadi K, Exarcos D, et al. Acromegaly caused by ectopic growth hormone-releasing hormone secretion by a carcinoid bronchial tumor: a rare entity. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 2004; 128 (4): 631-632.
135. Cioffi U, De Simone M, et al. Synchronous adenocarcinoma and carcinoid tumor of the terminal ileum in a Crohn's disease patient. *BMC Cancer* 2005;5:157-161.
136. July LV, Northcott KA, et al. Coexisting carcinoid tumors in familial adenomatous polyposis-associated upper intestinal adenomas. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1091-1094.
137. Granberg D, Sissons M, Kolarova T, Goldstein G, Leyden J. Lung neuroendocrine tumor (NET) patient (pt)-reported experience: Results from the first global NET pt survey. A collaboration between the International neuroendocrine cancer alliance (INCA) and Novartis Pharmaceuticals. *J Clin Oncol*.2015;33(suppl).abstr e17739.
138. Thomas J, Lamb T, Ashcroft T, Corrin B, Edwards C, et al. How reliable is the diagnosis of lung cancer using small biopsy specimens? Report of a UKCCR lung cancer working party. *Thorax* 1993; 48: 1135-1139.
139. Gustafsson BI, Kidd M, Chan A, et al. Bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Cancer*.2008; ,113:5-21.
140. Rorstad O. Prognostic indicators for carcinoid neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. *J Surg Oncol* 2005; 89:151-160.
141. Kolby L, Bernhardt P, et al. Chromogranin A as a determinant of midgut carcinoid tumor volume. *Regul Pept* 2004; 120:269-273.
142. Chong S, Lee KS, Kim B, et al. Integrated PET/CT of pulmonary neuroendocrine tumors: diagnostic and prognostic implications. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 188:1223-1231.

143. Lebtahi R, Cadiot G, et al. Clinical impact of somatostatin receptor scintigraphy in the management of patients with neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors. *J Nucl Med* 1997; 38: 853-858.
144. Van Essen M, Krenning E, et al. Peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷-Lu-octreotate in patients with foregut carcinoid tumors of bronchial, gastric and thymic origin. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34:1219-1227.
145. Rodrigues M, Traub-Weidinger T, et al. Comparison of ¹¹¹In-DOTA-Dphe1-Tyr3-octreotide and ¹¹¹In-DOTA-Ianreotide scintigraphy and dosimetry in patients with neuroendocrine tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006; 33:532-540.
146. Janson ET. Treatment of neuroendocrine tumors with somatostatin analogs. *Pituitary* 2006; 9:249-256.
147. Reisinger I, Bohuslavitzki KH, Brenner W, Braune S, et al. Somatostatin receptor scintigraphy in small-cell lung cancer: results of a multicenter study. *Journal of Nuclear Medicine* 1998; 39: 224-227.
148. Berenger N, Moretti JL, Boaziz WA, et al. Somatostatin receptor imaging in small cell lung cancer. *European Journal of Cancer* 1996; 32A: 1429-1431.
149. Granberg D, Sundin A. Octreoscan in patients with bronchial carcinoid tumors. *Clinical Endocrinology* 2003; 59: 793-799.
150. Carretta A, Chiesa G, Magnani P, Songini C, Melloni G, et al. Imaging of bronchial carcinoid tumors associated to Cushing syndrome with ¹¹¹In – Octreoscan scintigraphy and immunoscintigraphy with chromogranin monoclonal antibodies. Report of two cases. *Journal of Cardiovascular Surgery* 1997; 38: 191-194.
151. Mansi L, Rambaldi PF, Panza N, et al. Diagnosis and radioguided surgery with ¹¹¹In-pentetreotide in a patient with paraneoplastic Cushing syndrome due to a bronchial carcinoid. *European Journal of Endocrinology* 1997; 137: 688-690.
152. Castellani M, Rechini E, Gasparini M, Gerundini P. Indium ¹¹¹- pentetreotide lung uptake in infectious lung disease. *Clinical Nuclear Medicine* 1999; 24: 343-345.
153. Kwekkeboom DJ, Krenning EP, et al. Somatostatin receptor imaging in patients with sarcoidosis. *European Journal of Nuclear Medicine* 1998; 25: 1284-1292.

154. Orlefors H, Sundin A, et al. Whole-body (11)C5-hydroxytryptophan positron emission tomography as a universal imaging technique for neuroendocrine tumors: comparison with somatostatin receptor scintigraphy and computed tomography. *J Clin Endocrinol Metabol* 2005;90:3392-3400.
155. National Comprehensive Cancer Network.NCCN clinical practice guideline in oncology: small cell lung cancer.Version 1.2017.https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/sclc.pdf.Accessed September 26,2016.
156. National Comprehensive Cancer Network.NCCN clinical practice guideline in oncology: small cell lung cancer. Version 2.2016. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/neuroendocrine.pdf.Accessed November 3,2016.
157. Caplin ME, Baudin E, Ferolla P, et al. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoid.*Ann Oncol*.2015;26:1604-1620.
158. Travis WD,Giroux DJ, Chansky K, et al.The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the inclusion of broncho-pulmonary carcinoid tumors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2008;3:1213-1223.
159. Modlin IM, Sandor A. An analysis of 8305 cases of carcinoid tumors. *Cancer* 1997; 79:813.
160. McDermott EWM, Guduric B, Brennan MF. Prognostic variables in patients with gastrointestinal carcinoid tumors. *Br J Surg* 1994; 81: 1007.
161. Greenberg RS, Bamgarten DA, et al. Prognostic factor for gastrointestinal and bronchopulmonary carcinoid tumors. *Cancer* 1987; 60:2476.
162. Jensen RT. Peptide therapy. Recent advances in the use of somatostatin and other peptide receptor agonists and antagonists. In: Lewis JH, Dubois A. *Current clinical topics in gastrointestinal pharmacology*. Malden, MA: Blackwell Science, 1997:144.

163. Janson ET, Holmberg L, Stridsberg M, et al. Carcinoid tumors: analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center. *Ann Oncol* 1997; 8:685.
164. Asamura H, Kameya T, et al. Neuroendocrine neoplasms of the lung: a prognostic spectrum. *J Clin Oncol* 2006; 24: 70-76.
165. consensus Oberg K, Hellman P, Ferolla P, Papotti M. Neuroendocrine bronchial and thymic tumors: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis , treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012;23(supl 7):vii120-vii123.
166. Phan AT, Oberg K, Choi J, et al. NANETS guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the thorax (includes lung and thymus).*Pancreas.*2010;39:784-798.
167. Vadasz P, Palffy G, Egervary M, et al. Diagnosis and treatment of bronchial carcinoid tumors: clinical and pathological review of 120 operated patients. *Eur j Cardiothorac Surg* 1993; 7:8-11.
168. McMullan DM, Wood De. Pulmonary carcinoid tumors. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 15: 289-300.
169. Filosso PL, Ferolla P, Guerrero F, et al. Multidisciplinary management of advanced lung neuroendocrine tumors. *J Thorac Dis.* 2015;7:S163-S171.
170. Naalsund A, Rostad H, Strom EH, Lund MB, et al. Carcinoid lung tumors- incidence, treatment and outcomes: a population- based study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2011;39:565-569.
171. Rea F, Rizzardi G, Zuin A, et al. Outcome and surgical strategy in bronchial carcinoid tumors: single institution experience with 252 patients. *Eur J Cardiothorac Surg.*2007;31:186-191.
172. Detterbec FC. Management of carcinoid tumors. *Ann Thorac Surg.*2010;89: 998-1005.
173. Cardillo G, Sera F, DiMartino M, et al. Bronchial carcinoid tumors: nodal status and long-term survival after resection. *Ann Surg Oncol.*2010;17:3129-3136.
174. Beasley MB, Thunnissen FB, Brambilla E, Travis WD et al. Pulmonary atypical carcinoid: predictors of survival in 106 cases. *Hum Pathol* 2000; 31:1255-1265.
175. Dusmet ME, McKneally MF. Pulmonary and thymic carcinoid tumors. *World J Surg* 1996; 20:189-195.

176. Cooper WA, Thourani VH, Gal AA, et al. The surgical spectrum of pulmonary neuroendocrine neoplasms. *Chest* 2001; 119: 14-18.
177. Chughtai TS, Morin JE, et al. Bronchial carcinoid- Twenty years experience defines a selective surgical approach. *Surgery* 1997; 122:801-808.
178. Torre M, Barberis M, Barbier B, et al. Typical and atypical bronchial carcinoids. *Respir Med* 1989; 83:305-308.
179. McCaughan BC, Martini N, Bains MS. Bronchial carcinoids. Review of 124 cases. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 89: 8-17.
180. Kerstrom G, Hellman P, Hessman O. Midgut carcinoid tumors: surgical treatment and prognosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19: 717-728.
181. Sarmiento JM, Heywood G, Rubin J, et al. Surgical treatment of neuroendocrine metastases to the liver: a plea for resection to increase survival. *J Am Coll Surg* 2003;197:29.
182. Sandor A, Modlin IM. A retrospective analysis of 1570 appendiceal carcinoids. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 422.
183. Soga J. Carcinoids of the rectum: an evaluation of 1271 reported cases. *Surg Today* 1997; 27: 112.
184. Akerstrom G. Management of carcinoid tumors of the stomach, duodenum and pancreas. *World J Surg* 1996; 20:173.
185. Pavel M, O' Toole D, Costa F, et al. ENETS consensus guidelines update for the management of distant metastatic disease of intestinal, pancreatic, bronchial neuroendocrine neoplasms (MEN) and NEN of unknown primary site. *Neuroendocrinology*.2016;103:172-185.
186. Wymenga AN, de Vries EG, Leijnsma MK, et al. Effects of ondasetron on gastrointestinal symptoms in carcinoid syndrome. *Eur J Cancer* 1998; 34:1293.
187. Eriksson B, Bergstrom M, Sundin A, et al. The role of PET in localization of neuroendocrine an adrenocortical tumors. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 970: 159.
188. Arnold R, Simon B, Wied M. Treatment of neuroendocrine GEP tumors with somatostatin analogues: a review. *Digestion* 2000;62:84.
189. Schonfeld WH, Elkin EP, et al. The cost-effectiveness of octrotide acetate in the treatment of carcinoid syndrome and VIPoma. *Int J Technol Assess Health Care* 1996; 14:514.

190. Harris AG, Redfern JS. Octreotide treatment of carcinoid syndrome: analysis of published dose-titration data. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9:387.
191. Aparicio T, Ducreux M, Baudin E, et al. Antitumor activity of somatostatin analogues in progressive metastatic neuroendocrine tumors. *Eur J Canc* 2001; 37: 1014-1019.
192. Ricci S, Antonuzzo A, Galli L, et al. Octreotide acetate long-acting release in patients with metastatic neuroendocrine tumors pretreated with lanreotide. *Ann Oncol* 2000; 11:1127-1130.
193. Eriksson B, Renstrup J, Imam H, et al. High-dose treatment with lanreotide of patients with advanced neuroendocrine gastrointestinal tumors: clinical and biologic effects. *Ann Oncol* 1997; 8: 1041-1044.
194. Saltz L, Trochanowski B, et al. Octreotide as an antineoplastic agent in the treatment of functional and nonfunctional neuroendocrine tumors. *Cancer* 1993; 72: 224-248.
195. Bruns C, Weckebecker G, et al. Molecular pharmacology of somatostatin-receptor subtypes . *Ann N Y Acad Sci* 1994; 733:138-146.
196. Bruns C, Lewis I, Briner U, et al. SOM230: a novel somatostatin peptidomimetic with broad somatotropin release inhibiting factor (SRIF) receptor binding and a unique antisecretory profile. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 707-716.
197. Fanti S, Farsad M, Battista G, et al. Somatostatin Receptor Scintigraphy for Bronchial Carcinoid Follow- Up. *Clinical Nuclear Medicine* 2003; 28(7): 548-552.
198. Plockinger U, Wiedenmann B. Neuroendocrine tumors. *Biotherapy. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007;21: 145-162.
199. Ansell SM, Pitot HC, Burch PA, et al. A phase II study of high-dose paclitaxel in patients with advanced neuroendocrine tumors. *Cancer* 2001; 91:1543-1548.
200. Modlin IM, Latich I, Kidd M, et al. Therapeutic options for gastrointestinal carcinoids. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4:526-547.
201. Yao JC, Fazio N, Singh S, et al. Everolimus for the treatment of advanced, non-functional neuroendocrine tumors of the lung or gastrointestinal tract (RADIANT-4) : a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet*.2016; 387: 968-977.

202. Fazio N, Buzzoni R, Delle Fave G. Efficacy and safety of everolimus in advanced, progressive, nonfunctional neuroendocrine tumors (NET) of the lung: a subgroup analysis of the phase 3 RADIANT-4 study. Poster presented at: 13th Annual European Neuroendocrine Tumor Society Conference. March 9-11, 2016; Barcelona ,Spain.
203. Yao JC, Zhang JX, Rashid A, et al. Clinical and in vitro studies of imatinib in advanced carcinoid tumors. *Clin Cancer Res* 2007; 13:234-240.
204. Hobday TH, Donehower R. A phase II trial of gefitinib in patients with progressive metastatic neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol* 2006; 24: 189s.
205. Yao JC. Neuroendocrine tumors. Molecular targeted therapy for carcinoid and islet-cell carcinoma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007;21:163-172.
206. Taal BG, Hoefnagel CA, et al. Palliative effect of meta-iodobenzyl-guanidine in metastatic carcinoid tumors. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1829-1838.
207. Taal BG, Hoefnagel CA, Boot H, et al. Improved effect of 131-I-MIGB treatment by predosing with non- radiolabeled MIGB in carcinoid patients, and studies in xenografted mice. *Ann Oncol* 2000; 11:1437-1443.
208. Krenning EP, Jong M, et al. Radiolabeled somatostatin analogues for peptide receptor scintigraphy and radionuclide therapy. *Ann Oncol* 1999; 10:S23-S29.
209. Waldherr C, Pless M, Maecke HR, et al. The clinical value of 90-Y-DOTA-D-Phe-Tyr-octreotide (Y-DOTATOC) in the treatment of neuroendocrine tumors: a clinical phase II study. *Ann Clin Oncol* 2001; 12:941-945.
210. Ianniello A, Sansovini M, Severi S, et al. Peptide receptor radionuclide therapy with 177LuDOTATATE in advanced bronchial carcinoids : prognostic role of thyroid transcription factor 1 and 18F-FDG PET. *Eur J Nucl Med Mol Imag.* 2016; 43:1040-1046.
211. Mayo SC, de Jong MC, Pulitano C, et al. Surgical management of hepatic neuroendocrine tumor metastasis: results from an international multi-institutional analysis. *Ann Surg Oncol.*2010; 17:3129-3136.
212. Norton JA, Endocrine tumors of the gastrointestinal tract. Surgical treatment of neuroendocrine metastases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19:577-583.

213. van Vilsterin FG, Baskin-Bey ES, et al. Liver transplantation for gastroenteropancreatic neuroendocrine cancers: defining selection criteria to improve survival. *Liver Transpl* 2006; 12:448-456.
214. Fiorentini G, Rossi S; Bonechi F, et al. Intra-arterial hepatic chemoembolisation in liver metastases from neuroendocrine tumors: a phase II study. *J Chemother* 2004; 16:293-297.
215. Strosberg JR, Choi J, Cantor AB, et al. Selective hepatic artery embolisation for treatment of patients with metastatic carcinoid and pancreatic andocrine tumors. *Cancer Control* 2006;13:72-78.
216. Meij V, Zuetenhorst JM, et al. Local treatment in unresectable hepatic metastases of carcinoid tumors: experiences with hepatic artery embolisation and radiofrequency ablation. *World J Surg Oncol* 2005; 3:75-82
217. Corleto VD, Delle Fave G, Jensen RT. Molecular insights into gastrointestinal neuroendocrine tumors: importance and recent advances. *Dig Liver Dis* 2002; 34:668.
218. Warren WH, Faber LP, Gould VE. Neuroendocrine neoplasms of the lung. A clinicopathologic update. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 98: 321-332.
219. Hage R, Seldenrijk K, de Bruin P, van Swieten H. Pulmonary Large –cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC). *Eur J Cardiothorac Surg* 2003; 23(4): 457-460.
220. De Lellis RA. The neuroendocrine system and its tumors: an overview. *Am J Clin Pathol* 2001; 115:S5.
221. Hendifar AE, et al. Neuroendocrine Tumors of the Lung: Current Challenges and Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated Disease. *J Thorac Oncol.*2017 Mar;12(3):425-436.
222. Swarts D, Ramaekers F, Speel EJ. Molecular and cellular biology of neuroendocrine lung tumors: Evidence for separate biological entities. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2012; 1826:255-271.
223. Takei H, Asamura H, Maeshima A, Suzuki K, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of seventy-seven cases. *J Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2002; 124: 285-292.

224. Koo CW, Baliff JP, Torigian DA, Litzky LA, et al. Spectrum of pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia, tumorlet and carcinoids. *AJR Am J Roentgenol.*2010; 195: 461-668.
225. Fink G, Krelbaum T, Yellin A, Bendayan D, et al. Pulmonary carcinoid: presentation, diagnosis, and outcome in 142 cases in Israel and review of 640 cases from literature. *Ches* 2001; 119: 1647-1651.
226. Harpole DH, Feldman JM, Buchanan S, et al. Bronchial carcinoid tumours : a retrospective analysis of 126 patients. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 50-55.
227. Grote TH, Macon WR, Davis B, Greco FA, Johnson DH. Atypical carcinoid of the lung. A distant clinicopathologic entity. *Chest* 1988; 93: 370-375.
228. Jensen RT, Doherty GM. Carcinoid tumors and the carcinoid syndrome. In: DeVita VT.Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: principles and practice of oncology*, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:1813
229. Hurt R, Bates M. Carcinoid tumours of the bronchus: a 33 year experience. *Thorax* 1984; 39: 617-623.
230. Gustafsson BI, Kidd M, Modlin IM. Neuroendocrine tumors of the diffuse neuroendocrine system. *Curr Opp in Oncol* 2008; 20: 1-12.
231. Detterbeck FC, Clinical presentation and evaluation of neuroendocrine tumors of the lung. *Thoracic Surg Clin.*2014;24:267-276.
232. Gosney JR, Williams LJ, Dodson AR, et al. Morphology and antigen expression profile of pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia (DIPNECH). *Histopaathology.* 2011; 59:751-762.
233. Garcia –Yuste M, Matilla JM, Alvarez-Gago T, et al. Prognostic factors in neuroendocrine lung tumors: A Spanish multicenter study. *Ann Thorac Surg* 2000;70:258-263.
234. Faivre S, Sablin MP, Dreyer C, Raymond E. Novel anticancer agents in clinical trials for well-differentiated neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am.*2010;39(4):811-26.
235. Brambilla E, gazzeri S, Moro D, et al. Immunohistochemical study of p53 in human lung carcinomas. *Am J Pathol.* 1993;143:199-210.
236. Gazzeri S, Brambilla E, Caron de Fromentel C, et al. P53 genetic abnormalities and myc activation in human lung carcinoma. *Int J Cancer.* 1994; 58:24-32.

237. Takahashi T, Suzuki H, Hida T, et al. The p53 gene is very frequently mutated in small-cell lung cancer with a distinct nucleotide substitution pattern. *Oncogene* 1991;6:1775-1778.
238. Brambilla E, Negoescu A, Gazzeri S, et al. Apoptosis –Related Factors p53, Bcl2 and Bax in Neuroendocrine Lung Tumors. *Am J of Pathol.* 1996;149:1941-1952.
239. Walter RF, Werner R, Ting S, et al. Identification of deregulation of apoptosis and cell cycle in neuroendocrine tumors of the lung via NanoString nCounter expression analysis. *Oncotarget.*2015;22:6(28):24690-8.
240. Laitinen KL, Soini Y, Mattila J, Paakko P. Atypical bronchopulmonary carcinoids show a tendency toward increased apoptotic and proliferative activity. *Cancer.* 2000;88:1590-1598.
241. Ruge M, Fassan M, Clemente R, Rizzardi G, et al. Bronchopulmonary carcinoid: Phenotype and Long-term Outcome in a single- Institution Series of Italian Patients. *Clin Cancer Res* 2008;14(1):149-54.
242. Maitra A, Amirkhan RH, Saboorian MH, et al. Survival in small cell lung carcinoma is independent of Bcl-2 expression. *Hum. Pathol.* 1999; 30: 712-717.
243. Safran HT, King T, Choy H, et al. P53 mutations do not predict response to paclitaxel/radiation for nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer.* 1996; 78:1203-1210.
244. Fontanini G, Vignati S, Bigni D, et al. Bcl2 protein : a prognostic factor inversely correlated to p53 in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1995; 71:1003-1007.
245. Ferguson MK, Landreneau RJ, Hazelrigg SR, Altorki NK, et al. Long –term outcome after resection for bronchial carcinoid tumors. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000; 18:156-161.
246. McCaughan BC, Martini N, Bains MS. Bronchial carcinoids: review of 124 cases. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 89: 8-17.
247. Wilkins EW, Grillo HC, Moncure Ac et al. Changing times in surgical management of bronchopulmonary carcinoid tumor. *Ann Thorac Surg* 1984; 38:339-344.

SPISAK SKRAĆENICA

NET: Neuroendokrini tumori

TC: Tipični karcinoid

AC: Atipični karcinoid

LCNET: Large Cell Neuroendokrini Karcinom, krupnoćelijski karcinom

SCLC: Small Cell Lung Carcinoma, mikroćelijski karcinom

5-HIAA: 5-hydroxyindole-3-acetička kiselina

SEER: Surveillance Epidemiology and End Results

MEN: Multipla Neuroendokrini neoplazija

WHO: World Health Organization, Svetska Zdravstvena Organizacija

HPF: High Power Field

DIPNECH : Difuzna Neuroendokrini ćelijska hiperplazija

TTF-1: Thyroid Transcription factor-1

VIP : Vazoaktivni Intestinalni Peptid

GRP: Gastrin Releasing Peptide, gastrin oslobađajući peptid

NSE: Neuron specifična enolaza

5-HT: 5-hidroksi triptamin

5-HTP: 5-hidroksitriptofan

GHRH: Growing Hormone „*realising*“ hormon rasta

ACTH : Adrenokortikotropni hormon

PNEC: plućne neuroendokrine ćelije

NEB: Neuroepithelial Bodies, neuroepitelna tela

DNK: Deoksiribonukleinska kiselina

Bax: Bcl2-associated X protein

ERCC1: Excision repair cross-complementation group 1

IGF-1R: Insulin-like growth factor 1 receptor

SRS: Somatostatin receptor scintigrafija

SSA: Somatostatinski analozi

NCCN: National Comprehensive Cancer Network

ENETS: European Neuroendocrine Tumor Society

OS: Overall survival

Octreotide LAR: Octreotide Long Acting Release

PDGF-R: Platelet derived Growing Factor- Receptor

EGFR: Epithelial growth factor receptor

VEGF: Vascular endothelial growth factor

PRRT: Peptid receptorska radionuklidna radioterapija

BIOGRAFIJA

Marta Velinović rođena je 22. Decembra 1968. godine u Beogradu. Medicinski Fakultet na Univerzitetu u Beogradu završila je 1996. godine i 1997. godine položila državni ispit. Kao klinički lekar radila je na Institutu za Plućne bolesti i Tuberkulozu u Beogradu od 1997. do 2002. godine kao lekar volonter. Završila je specijalizaciju iz Pneumoftizilogije na Medicinskom Fakultetu u Beogradu 2002. godine. Od 2002. godine do danas zaposlena je kao specijalista Pneumoftizilog na kliničkom odeljenju Klinike za Pulmologiju u Kliničkom Centru Srbije.

Magistarsku tezu sa temom: “ Prognostički faktori značajni za dugogodišnje preživljavanje kod hirurški lečenih pacijenata sa karcinomom bronha” odbranila je 2010. godine na Medicinskom Fakultetu u Beogradu.

Radi na Klinici za pulmologiju u Kliničkom Centru Srbije dvadeset godina, poslednjih petnaest godina radi na odeljenju sa 24 pacijenta , specijalizovana za rad najviše sa pacijentima sa karcinomom bronha. Član je konzilijuma za hemioterapiju pri Dnevnoj bolnici Klinike za pulmologiju, gde učestvuje u odlukama o načinu lečenja pacijenata sa karcinomom bronha. Član je tima za suportivnu terapiju i lečenje neželjenih efekata hemioterapije. Glavno polje interesovanja je karcinom bronha.

Učestvovala je kao predavač na nizu akreditovanih predavanja u sklopu CME na Medicinskom Fakultetu Univerziteta u Beogradu sa temama palijativne terapije i aktuelnosti u lečenju karcinoma bronha. Učestvovala na edukaciji: Health Service Management, održanoj na Medicinskom Fakultetu u Beogradu 2008. godine. Ko-autor je u publikaciji: Palijativno lečenje obolelih od karcinoma pluća (2007.) i ko-autor u dva poglavlja publikacije: Hronična opstruktivna bolest pluća (2009.). Završila je kurseve GSP-a i član je ACRP-a kao i Respiratornog Uruženja Srbije i Evropskog Respiratornog Udruženja. Pohađala niz kurseva CME u zemlji i inostranstvu iz oblasti pulmologije, onkologije, torakalne hirurgije.

Udata, ima jedno dete. Govori Engleski jezik.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a _____ Marta Velinović _____

broj upisa _____

Izjavljujem


da je doktorska disertacija pod naslovom

„ Određivanje genetičkih i proteinskih biomarkera u pacijenata sa karcinoidom bronha“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 17.7.2018. _____



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora

Marta Velinović

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „ **Određivanje genetičkih i proteinskih biomarkera u pacijenata sa karcinoidom bronha**“

Mentor ___Prof Vesna Škodrić Trifunović_____

Potpisani _____Marta Velinović_____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, __17.7.2018._____



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„ Određivanje genetičkih i proteinskih biomarkera u pacijenata sa karcinoidom bronha“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, _17.7.2018._

