



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Zane Simtniece

OPERĒTA
AIZKUŅĢA DZIEDZERA VĒŽA
PROGNOSTISKIE FAKTORI

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – patoloģija

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. med. profesors **Jānis Gardovskis**

Dr. med. asociētā profesore **Ilze Štrumfa**

Rīga, 2015

Promocijas darbs izstrādāts: Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas fakultātes Ķirurģijas katedrā un Patoloģijas katedrā

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. med. profesors Jānis Gardovskis,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija
Dr. med. asociētā profesore Ilze Štrumfa,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. asociētā profesore Simona Doniņa
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija
Dr. med. asociētā profesore Ilze Matīse-Van Houtana
Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Dr. med. asociētā profesore Ave Minajeva
Tartu universitāte, Igaunija

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2015. gada 22. janvārī plkst. 14.00 Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:
www.rsu.lv



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



EIROPAS SAVIENĪBA

Promocijas darbs izstrādāts ar Eiropas sociālā fonda projekta
“Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda
ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” atbalstu,
vienošanās Nr. 2013/0004/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/020

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. med. profesors Ģirts Brīģis

SATURS

Lietotie saīsinājumi.....	5
Ievads.....	7
1.Materiāli un metodes.....	10
1.1.Pētījuma uzbūve un ētiskie apsvērumi.....	10
1.2.Pacientu atlase.....	10
1.3.Pētījuma dizains.....	10
1.4.Morfoloģiskā analīze.....	11
1.4.1.Makroskopiska izvērtēšana.....	11
1.4.2.Audu apstrāde un mikroskopiska izmeklēšana.....	13
1.5.Diagnostiskā protokola izstrāde.....	15
1.6.Imūnhistoķīmiskā vizualizācija un izvērtēšana.....	16
1.7.Izdzīvotība un prognostiskie faktori.....	19
1.8.Statistiskā analīze.....	19
2.Rezultāti.....	21
2.1.Pacientu un ķirurģisko datu apraksts.....	21
2.1.1.Aizkuņģa dziedzerā duktālās adenokarcinomas (ADDA) raksturojums.....	21
2.1.2.Aizkuņģa dziedzerā endokrīnu audzēju (AEA) raksturojums.....	21
2.2.Morfoloģija.....	22
2.2.1.ADDA raksturojums.....	22
2.2.2.AEA raksturojums.....	25
2.3.Aizkuņģa dziedzerā duktālās adenokarcinomas, aizkuņģa dziedzerā endokrīnā audzēja un aizkuņģa dziedzerā izvadu un saliņu imūnhistoķīmiskais profils.....	27
2.4.Asociācijas starp klīniskiem, morfoloģiskiem un imūnhistoķīmiskiem parametriem.....	42
2.4.1.ADDA raksturojums.....	42
2.4.2.AEA raksturojums.....	47
2.5.Izdzīvotība.....	51
2.5.1.ADDA pacientu raksturojums.....	51
2.5.2.AEA pacientu raksturojums.....	52
2.6.Asociācijas starp izdzīvotības laiku un klīniskiem un morfoloģiskiem prognostiskiem parametriem.....	53
2.6.1.ADDA prognostiskais raksturojums.....	53
2.6.2.AEA prognostiskais raksturojums.....	55

2.7.Asociācijas starp izdzīvotības laiku un imūnhistoķīmiskiem parametriem.....	55
2.7.1.Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas prognostiskais imūnhistoķīmiskais profils.....	55
2.7.2.Aizkuņģa dziedzera endokrīna audzēja prognostiskais imūnhistoķīmiskais profils.....	57
2.8.Aizkuņģa dziedzera vēža operācijas materiāla izmeklēšanas diagnostiskais protokols.....	57
3.Diskusija.....	59
3.1.Kopējā izdzīvotība.....	59
3.2.Pacientu un ķirurģisko datu apraksts.....	60
3.3.Morfoloģiskie parametri.....	61
3.4.Aizkuņģa dziedzera duktālu adenokarcinomu un endokrīno audzēju imūnhistoķīmiskais profils.....	64
4.Secinājumi.....	74
5.Praktiskās rekomendācijas.....	76
6.Izmantotā literatūra.....	77
7.Publikācijas par pētījuma tēmu.....	87

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

ADDA	– aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma
AEA	– aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs
Ag	– antigēns
AJCC	– <i>American Joint Committee on Cancer</i>
APRL	– augsta palielinājuma redzes lauks
ASV	– Amerikas Savienotās Valstis
AUC	– <i>area under curve</i>
Av	– antivielā
BRCA1	– <i>breast cancer 1 protein</i>
CD	– <i>cluster of differentiation</i>
CIA	– <i>Confidence Interval Analysis</i> (programmatūra)
CK	– citokeratīns
COX	– ciklooksigenāze
EMT	– epiteliāli mezenhimāla transformācija
G ₁ , S, G ₂	– šūnas cikla fāzes
G1; G2; G3; G4	– audzēja diferenciacijas pakāpes
HE	– hematoksilīna – eozīna vizualizācijas metode
IBM	– (aizkuņģa dziedzera) izvadi bez malignitātes
IHK	– imūnhistokīmija
IQR	– <i>interquartile range</i>
LM	– limfas mezgli
MVB	– mikrovaskularizācijas blīvums
NP	– nav pielietojams
PanIN	– aizkuņģa dziedzera intraepiteliāla neoplāzija
pM0-1	– attālu audzēja metastāžu apzīmējums pēc morfoloģiskās izmeklēšanas datiem

- pN0-1 – reģionālo limfas mezglu stāvokļa apzīmējums attiecībā uz audzēja metastāžu klātbūtni pēc morfoloģiskās izmeklēšanas datiem
- pR0-2 – rezekciju līniju stāvoklis attiecībā uz audzēja klātbūtni pēc morfoloģiskās izmeklēšanas datiem
- pT1-4 – lokālās audzēja izplatības raksturojums pēc morfoloģiskās izmeklēšanas datiem
- PVO – Pasaules Veselības Organizācija
- RL – rezekcijas līnija
- ROC – *receiver-operating characteristic*
- SBN – aizkuņģa dziedzera saliņas bez neoplāzijas
- SD – standarta novirze (*standard deviation*)
- TI – ticamības intervāls
- TNM – *tumour, node, metastasis*: ļaundabīgu audzēju klasifikācija, kas balstīta uz audzēja anatomiskās izplatības principiem: primārā audzēja lokālā izplatība (T), reģionālo limfas mezglu stāvoklis attiecībā uz audzēja metastāzēm (N), attālu metastāžu klātbūtnes vērtējums (M)

IEVADS

Aizkuņģa dziedzera karcinoma incidences ziņā neierindojas starp biežākajiem ļaundabīgajiem audzējiem, tomēr tā ir ceturtais biežākais onkoloģiskās mirstības iemesls (39; 124). Maligno epiteliālo aizkuņģa dziedzera audzēju vidū divi biežākie veidi ir aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma (ADDA) un aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs (AEA). ADDA ir labi zināma nelabvēlīgās prognozes dēļ, turpretim AEA pacientu prognoze ir būtiski labāka (112). Endokrīnie audzēji pievērš uzmanību arī ar pieaugošo incidenci (103).

Aizkuņģa dziedzera vēža terapija balstās uz ķirurģisko ārstēšanu. Diemžēl arī potenciāli radikāli operētu ADDA pacientu izdzīvotības laiks saglabājas īss. Konvenciālās ķīmijterapijas (gemcitabīns, 5-fluorouracils, cisplatīns) efektivitāte aizkuņģa dziedzera vēža ārstēšanā ir zema, jo audzēja šūnas ir rezistentas pret šo terapiju (6; 54; 91; 136).

Izzinot aizkuņģa dziedzera audzēju galvenos prognostiskos faktorus, paveras iespēja tos pētīt kā personalizētas terapijas mērķi, pārvēršot prognostiskos parametrus par prediktīviem faktoriem. Individualizēta ārstēšana, balstoties uz molekulāriem kancerogēnēzes pamatmehānismiem, ir aktuāls mērķis mūsdienu medicīnā (102). Daļa prognostisko parametru, piemēram, pacienta vecums vai audzēja lokalizācija, gan nav izmaināmi, kamēr citas pazīmes, t.sk. mitotiskā aktivitāte, epiteliāli mezenhimālā transformācija vai audzēju cilmes šūnu daba ir ietekmējami. Kaut gan gūti daudzsoļi novērojumi, vēršot terapiju uz konkrēta šūnas mehānisma bloķēšanu vai aktivāciju, pētījumu rezultāti ir pretrunīgi (19; 50; 64; 91; 133; 136; 141). Līdz ar to, lai uzlabotu un pilnveidotu terapijas iespējas, nepieciešams izziņāt audzējam specifiskos bioloģiskos mehānismus (91). Šādos pētījumos tiek izmantotas dažādas metodes, piemēram, *in situ* hibridizācija vai polimerāzes ķēdes reakcija. Savukārt, lai atklātu specifiskus proteīnus noteiktās šūnās, audzēju pētniecībā klasiski tiek lietota imūnhistokīmija (115).

Proteīni, kuri hipotētiski varētu būt iesaistīti aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas un endokrīnu audzēju karcinogēnēzē, ir proliferācijas marķieri, it īpaši Ki-67 (98), audzēju supresora proteīns p53 (89), DNA labojošais proteīns – *breast cancer 1 protein* (BRCA1) (2; 8), šūnas cikla regulētāji p21 (89), p27 (72) un ciklīns D1 (45), anti-apoptotiskais proteīns Bcl-2 (137), šūnu adhēzijas proteīns E-kadherīns (53) un audzēju cilmes šūnu marķieris CD44 (55; 100; 144). Citokeratīnu (CK) spektrs, t.sk. CK 7, CK 20,

CK 5/6 un CK 19 kopā ar intestinālās un skvamoza diferenciācijas marķieriem klasiski ļauj atklāt audzēja histogēzi, tomēr trūkst pētījumu attiecībā uz šo marķieru prognostisko nozīmi. Pretrunīgi tiek vērtēts CK 19 (31; 48; 65; 96; 112; 119; 142). Attiecībā uz neiroendokrīnu diferenciāciju nepieciešams gan detalizēts praktisks izvērtējums, gan šo audzēju padziļināti morfoloģiski un imūnfenotipiski pētījumi (103; 130). Epiteliāli mezenhimāla transformācija, izvērtējot vimentīna ekspresiju (49), ciklooksigenāzes 2 (COX-2) aktivācija (67; 89) un angioģenēzes noteikšana, izmantojot CD34 ekspresiju un mikrovaskularizācijas blīvuma (MVB) mērījumus (138), arī var būt svarīgi pētniecībā. Tomēr līdz šim aizkuņģa dziedzera audzēju morfoloģiskajā un imūnhistoķīmiskajā izpētē pastāv nozīmīgas pretrunas. Bez tam daudzi pētījumi ir veltīti dažu izolētu proteīnu noteikšanai, kas apgrūtinā integrētu morfoloģisko un proteomisko analīzi.

Pētījuma **mērķis** ir noteikt potenciāli radikāli operētu aizkuņģa dziedzera ductālu adenokarcinomu un aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju morfoloģisko un imūnhistoķīmisko profilu un šo pacientu prognozi.

Mērķa sasniegšanai tika izvirzīti sekojoši **uzdevumi**:

1. Raksturot ADDA un AEA morfoloģisko struktūru, analizējot pTNM, diferenciācijas pakāpi, invazīvās augšanas izpausmes, mitotisko aktivitāti un nekrozi;
2. Noteikt ADDA un AEA molekulāro profilu, izmantojot imūnhistoķīmiskās vizualizācijas metodi, lai analizētu šūnas cikla regulatoru, endokrīno marķieru, kā arī DNS labotājproteīnu ekspresiju, mezenhimālo un cilmes šūnu diferenciāciju;
3. Izvērtēt intestinālo un skvamozo diferenciāciju ADDA un AEA audos, izmantojot citokeratīnu spektru;
4. Izvērtēt angioģenēzi, nosakot mikrovaskularizācijas blīvumu;
5. Veikt ķirurģiski ārstētu ADDA un AEA pacientu izdzīvotības laika analīzi un faktorus, kas to ietekmē;
6. Analizēt kopsakarības starp klīniskiem, morfoloģiskiem un molekulāriem parametriem.

Zinātniskie pieņēmumi vai darba hipotēzes:

1. ADDA un AEA morfoloģiskais raksturojums atspoguļo ķirurģiski ārstētu pacientu veselības riska pakāpi un var atklāt noteiktus terapeitiskus un pētnieciskus mērķus.
2. Imūnhistoķīmiskais izvērtējums atklāj proteīnu ekspresijas atšķirības labdabīgos un atbilstošas histogēnēzes ļaundabīgos audos. Kopsakarības starp molekulāro, morfoloģisko un klīnisko atradi un izdzīvotību sniedz izpratni par kanceroģenēzes mehānismiem.
3. ADDA un AEA pacientu izdzīvotība Latvijā atbilst pasaules pieredzei.

Zinātniskā un praktiskā diagnostiskā novitāte:

1. Zinātniskā darba ietvaros padziļināti izpētītā primāru aizkuņģa dziedzera audzēju grupā izvērtēti molekulārie marķieri, kuru agrākā diagnostiskā un prognostiskā vērtība bijusi pretrunīga. Šādi rezultāti vairo uz pierādījumiem balstītu pētījumu datus. Darbs ievērojams ar plašu imūnhistoķīmiskā profila spektru, kas iekļauj 21 mērķproteīnu vienā audzēju grupā un to vienlaicīgu salīdzinājumu starp diviem biežākajiem ļaundabīgajiem epiteliālajiem aizkuņģa dziedzera audzējiem un atbilstošiem labdabīgiem audiem. Reģionālā aspektā paveikts pirmais morfoloģiskais aizkuņģa dziedzera vēža pētījums.
2. Izstrādātais darbs veicināja aizkuņģa dziedzera operāciju materiāla morfoloģiskās izvērtēšanas protokola praktisko ieviešanu. Izstrādātas rekomendācijas aizkuņģa dziedzera audzēju rutīnas imūnhistoķīmiskajiem izmeklējumiem, kas agrāk nav lietoti.

Personīgais ieguldījums

Autors veicis visas pētījuma stadijas, t.sk. pētījuma plānojumu un imūnhistoķīmisko marķieru izvēli, zinātnisko datu ieguvu un statistisko analīzi. Autors veica arī imūnhistoķīmisko vizualizāciju un ir darbā iekļauto makroskopisko un mikroskopisko attēlu autors.

Ētiskie apsvērumi

Pētījums ir veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju un Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju.

1. MATERIĀLI UN METODES

1.1. Pētījuma uzbūve un ētiskie apsvērumi

Pētījums veikts kā retrospektīvs, uz pierādījumiem balstīts aizkuņģa dziedzera ductālas adenokarcinomas un aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju morfoloģisks un imūnhistoķīmisks izvērtējums, iekļaujot pacientu izdzīvotības analīzi. Tas ietver prospektīvu apakšgrupu, lai izstrādātu aizkuņģa dziedzeru audzēju potenciāli radikālas operācijas materiāla morfoloģiskās izmeklēšanas protokolu. Šāds pētījuma dizains bija piemērots, lai veiktu precīzu morfoloģisko un imūnhistoķīmisko parametru analīzi, iekļaujot retrospektīvos datus, bet prospektīvā daļa, kuras laikā iegūts un izmantots aizkuņģa dziedzera audzēju morfoloģiskās diagnostikas protokols, ļāva novērtēt tā ietekmi ķirurģiskā materiāla izmeklēšanā. Pētījums veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju un Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju.

1.2. Pacientu atlase

Pētījumā iekļauti 94 aizkuņģa dziedzera audzēji. Laika periodā no 2004. gada janvāra līdz 2014. gada janvārim atlasīti secīgi 78 potenciāli radikāli operēti ADDA gadījumi un 16 AEA gadījumi no vienas universitātes slimnīcas. Iekļaušanas kritēriji ietvēra verificētu aizkuņģa dziedzera ductālas adenokarcinomas vai aizkuņģa dziedzera endokrīna audzēja morfoloģisko diagnozi potenciāli radikālas operācijas rezultātā iegūtā audu materiālā. Pacienti, kuriem bija citas vai neskaidras histogēnēzes audzējs, kā arī pacienti, kuriem tika veikta tikai biopsija vai kuri saņēmuši preoperatīvu ķīmijterapiju vai staru terapiju, tika izslēgti no pētījuma.

Pacientu demogrāfiskā informācija (vecums audzēja diagnostikas brīdī, dzimums), kā arī ārstēšanas dati (preoperatīvā ārstēšana, operācijas veids un datums) tika iegūti no slimības vēsturēm un operācijas materiāla nosūtījuma pavadzīmēm, kas saņemtas no Ķirurģijas klīnikas.

1.3. Pētījuma dizains

Audzēja lokalizācija aizkuņģa dziedzerī un operācijas veids tika noteikts makroskopiskās patoloģiskās izmeklēšanas laikā un pārbaudīts saskaņā ar Ķirurģijas klīnikas ierakstiem. Makroskopiskās izvērtēšanas morfoloģiskie dati tika iegūti no diagnostiskajiem slēdzieniem par aizkuņģa dziedzera patoloģiju,

izmantojot tālāk aprakstīto standartizēto metodiku. Mikroskopiskais novērtējums veikts, izmantojot diagnostiskos mikropreparātus, kuri pētījuma ietvaros tika pilnībā pārskatīti, lai pārliecinātos par diagnozi un iegūtu zinātniskos datus. Pilns pētījuma algoritms atainots 1.1. attēlā.

1.4. Morfoloģiskā analīze

Morfoloģiskie dati tika iegūti, veicot aizkuņģa dziedzera operāciju materiāla makroskopisko un mikroskopisko analīzi.

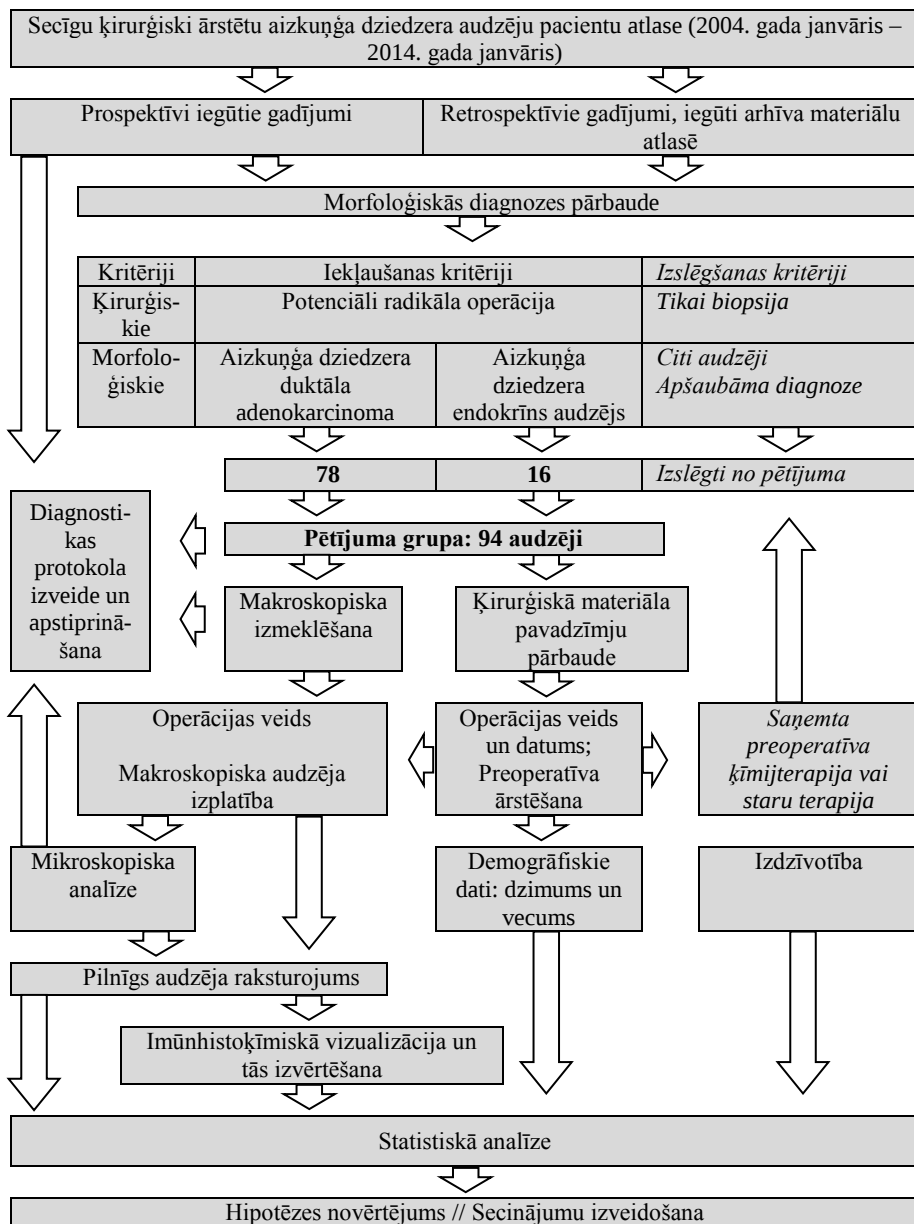
1.4.1. Makroskopiska izvērtēšana

Makroskopiskā izmeklēšana ietvēra visu iesūtīto orgānu, audzēja un limfas mezglu izvērtējumu. Vispirms ķirurģiskais materiāls tika raksturots, aprakstot un izmērot trīs dimensijās katru izņemto orgānu, tā daļu vai mīkstos audus (kuņģis, mazā un lielā loka taukaudi, divpadsmitpirkstu zarna, oments, kopējais žults vads un aknu žults vadu distālā daļa, žults pūslis un *ductus cysticus*, aizkuņģa dziedzeris, liesa, peripankreatiskie mīkstie audi un citi).

Detalizēti tika izmeklēts un aprakstīts audzējs, nosakot tā lokalizāciju aizkuņģa dziedzerī (aizkuņģa dziedzera galviņā, korpusā, astē vai vairākās iepriekš minētajās anatomiskajās daļās), attālumu starp audzēju un tuvāko rezekcijas līniju, audzēja lielāko diametru, krāsu, konsistenci un audzēja robežu makroskopisko raksturu (noapaļotas, atbīdošas *versus* infiltratīvas).

Limfas mezglu (LM) lokalizācija un skaits tika izvērtēts sekojošās grupās: peripankreatiskie LM, pankreatoduodenālie LM, kuņģa mazā loka un lielā loka LM, kā arī citi LM.

Makroskopiskās izmeklēšanas dati veidoja pamatu tālākai audzēja izmeklēšanai: lokalizācijas un pTNM novērtējumam, kā arī operācijas veida un rezekcijas līniju stāvokļa identifikācijai.



1.1. attēls. Datu apstrādes algoritms

1.4.2. Audu apstrāde un mikroskopiska izmeklēšana

Makroskopiskas izmeklēšanas laikā tika iegūti audi turpmākai apstrādei un mikroskopiskai analīzei. Lai izmeklētu audzēju un noteiktu tā precīzu izmēru mikroskopiskos paraugos, tika sagatavoti visa aizkuņģa dziedzera secīgi griezumumi ar 5 mm distanci. Rezekcijas līnijas (RL) tika nosūtītas pilnīgai mikroskopiskai izvērtēšanai, iekļaujot kuņģa un divpadsmitpirkstu zarnas proksimālo un distālo RL, asinsvadu RL, kopējā žults vada RL, aizkuņģa dziedzera RL, peripankreatisko RL (iekrāsota ar alciānzilo krāsu) un citas, ja nepieciešams. Visi atrastie LM tika pakļauti mikroskopiskai izvērtēšanai. Audu paraugi tika iegūti arī no visiem rezecētiem orgāniem, kā arī no ampulas, izšķirot to no kopējā žults vada un *papilla duodeni major*. Atlasītie audu paraugi tika pakļauti tālāk aprakstītajai tehnoloģiskajai kaskādei.

Makroskopiskās izmeklēšanas laikā iegūtie audu paraugi tika fiksēti neitrālā buferētā 10% formalīnā (*Sigma-Aldrich, Saint Louis, Amerikas Savienotās Valstis (ASV)*) un secīgi inkubēti pieaugošanas koncentrācijas 2-propanolā (*Sigma-Aldrich*), *Histograde* ksilolā (*J.T.Baker, Deventer, Nīderlande*) un paraplastā (*Diapath S.r.l., Belgamo, Itālija*), veicot šo apstrādi vakuuma infiltrācijas procesorā *Tissue-Tek® VIP™ 5 (Sakura Seiki Co., Ltd., Nagano, Japāna)*. Apstrādātie audi tika ieguldīti paraplastā (*Diapath S.r.l.*) izmantojot ieguldīšanas sistēmu *TES 99 (Medite GmbH, Burgdorf, Vācija)*. Parafīna blokos ieguldītie audu paraugi tika sagriezti 4 mikronu biezos griezumos ar mikrotomu *Microm HM 360 (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, ASV)* un uztverti uz priekšmetstikliem (*Menzel-Glaser, Braunschweig, Vācija*). Griezumi tika krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu audu krāsojamā automātā *TST 44 (Medite Medizintechnik, Burgdorf, Vācija)* un pārklāti ar segstikliņu (*Biosigma, Cona, Itālija*) izmantojot automatizētu segstikliņu pārklājēju (*Dako, Glostrup, Dānija*) un *Pertex* līmi (*Histolab, Gothenburg, Zviedrija*).

Ar hematoksilīnu un eozīnu krāsotie mikropreparāti tika izvērtēti gaismas mikroskopā (*Leica DM500, Wetzlar, Vācija*), iegūstot sekojošus datus:

1. Primārā aizkuņģa dziedzera audzēja raksturojums;
2. Audzēja metastāžu, citu ļaundabīgu audzēju vai reakтиву izmaiņu klātbūtne limfas mezglos;
3. Visu rezekcijas līniju stāvoklis;
4. Izmeklēšanai iesūtīto orgānu vai to daļu izvērtējums.

Aizkuņģa dziedzera audzējos izvērtēti sekojoši parametri: audzēja histoloģiskais veids, tā raksturojums pTNM klasifikācijā (pT, lokāla audzēja izplatība: Tis–T4 vai Tx; pN, metastāzes reģionālajos limfmezglos: N0, N1 vai Nx; pM, attālu metastāžu klātbūtne: M0, M1), audzēja bioloģiskais potenciāls, respektīvi, diferenciācijas pakāpe aizkuņģa dziedzera duktālām adenokarcinomām vai klīniski patoloģisks diferenciācijas un norises vērtējums aizkuņģa dziedzera endokrīniem audzējiem, RL stāvoklis (R0–R2 vai Rx), mitotiskā aktivitāte, intravaskulāra invāzija, peri- un intraneirāla invāzija, invāzija limfas vados un audzēja nekroze.

Audzēja histoloģiskais veids tika noteikts un klasificēts pēc Pasaules Veselības organizācijas (PVO) aizkuņģa dziedzera eksokrīno un endokrīno audzēju klasifikācijas (52; 75). pTNM izvērtējums veikts saskaņā ar *AJCC Cancer Staging Handbook* septīto izdevumu (33).

Saistībā ar bioloģisko potenciālu aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma tika klasificēta kā G1, augstu diferencēta; G2, vidēji diferencēta un G3, zemu diferencēta adenokarcinoma atbilstoši *Cancer Grading Manual*, kā attēlots 1.1. tabulā (46).

1.1. tabula

Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas diferenciācijas pakāpes

Apzīmējums	Diferenciācijas pakāpe	Glandulāru kompleksu īpatsvars	Piezīmes
G1	Augstu diferencēta adenokarcinoma	> 95%	Audzēja šūnas izkārtotas izvadu vai dziedzera veida kompleksos
G2	Vidēji diferencēta adenokarcinoma	50–95%	Izvadu vai dziedzera ir vairāk nekā solidu audzēja kompleksu
G3	Zemu diferencēta adenokarcinoma	5–50%	Solidu kompleksu ir vairāk nekā dziedzera vai izvadu veida struktūras

Aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju bioloģiskais potenciāls tika noteikts pēc to diferenciācijas un bioloģiskā potenciāla klīniski patoloģiskās klasifikācijas (turpmāk: audzēja diferenciācijas pakāpe), saskaņā ar PVO endokrīno aizkuņģa dziedzera audzēju klasifikāciju (52) izšķirot sekojošas kategorijas: labi diferencēti endokrīni audzēji ar labvēlīgu bioloģisko potenciālu, labi diferencēti endokrīni audzēji ar neskaidru potenciālu, labi diferencēta endokrīna karcinoma un zemu diferencēta endokrīna karcinoma.

Rezekcijas līniju stāvoklis klasificēts kā R0, R1, R2 vai Rx pēc sekojošiem kritērijiem: R0, negatīvas RL – makroskopiski un mikroskopiski RL netika atrastas audzēja šūnas; R1, mikroskopisks reziduāla audzēja apjoms rezekcijas līnijās – jebkurā RL mikroskopiski konstatē audzēja šūnas, neskatoties uz negatīvo makroskopisko atradi; R2, makroskopiski pozitīva rezekcijas līnija – jebkurā RL makroskopiski atrodama un mikroskopiski verificēta audzēja klātbūtne; Rx, RL nav iespējams izvērtēt.

Lai novērtētu mitotisko aktivitāti, mitozes tika skaitītas 10 augsta palielinājuma redzes laukos (APRL) ar 400x palielinājumu (t.i., 40x objektīvs un 10x okulāra lēcas; laukums 0,65 mm²) augstākās mitotiskās aktivitātes apvidos. Aktivitāte tika izteikta kā mitožu skaits/ 10 APRL.

Peri- un intraneirāla audzēja invāzija, kā arī intravaskulāra invāzija tika novērtēta kā kategoriskais mainīgais: novēro vai nenovēro. Invāzija lielajos vai mazajos asinsvados tika izvērtēta atsevišķi. Augšējā apzarņa vēna un portālā vēna tika iekļautas lielo asinsvadu grupā. Mazie asinsvadi iekļāva visus intrapankreātiskos un peripankreātiskos asinsvadus. Invāzija limfvados tika klasificēta savstarpēji izslēdzošās kategorijās kā esoša vai neesoša. Audzēja nekrozes izplatība vērtēta kā nekrotiskā apvidus relatīvais plašums (%). Mērījumi tika veikti visos mikropreparātos, un audzēja raksturojumam izmantota vidējā vērtība.

Makroskopiskie attēli iegūtas ar *Sony Cyber-shot* digitālo kameru (*Sony Electronics Inc., San Diego*, ASV). Morfoloģiskie un imūnhistoķīmiskie attēli uzņemti ar *Kappa Image Base* programmu (*KAPPA opto-electronics Inc., ASV*), izmantojot *Axiolab* (*Zeiss, Oberkochen*, Vācija) mikroskopu kā optisko sistēmu un *Kappa CF 11 DSP* kameru (*KAPPA opto-electronics Inc., ASV*).

1.5. Diagnostiskā protokola izstrāde

Aizkuņģa dziedzerā audzēju operācijas materiāla izmeklēšanas diagnostiskais protokols tika izveidots promocijas darba ietvaros, balstoties uz makroskopiskā apraksta un ķirurģiskā materiāla dissekcijas vispārīgajiem principiem un nepieciešamās informācijas iegūvi diagnostiskam novērtējumam PVO klasifikācijas un *AJCC* audzēju izvērtēšanas sistēmā (33; 52; 75; 134).

1.6. Imūnhistoķīmiskā vizualizācija un izvērtēšana

Pētāmo antigēnu imūnhistoķīmiskā vizualizācija (IHĶ) veikta formalinā fiksētos, parafinā ieguldītos audzēja audos un kontroles audos bez neoplāzijas. Lai veiktu šo vizualizāciju, katra gadījuma ietvaros tika identificēts 1 audu bloks, kurā bija ietverti saglabāti audzēja audi (t.i., bez pilnīgas nekrozes) un kurā neoplastisko audu arhitektūra un šūnu atipija bija atbilstoša konkrētā audzēja diferenciācijas pakāpei. IHĶ dati netika interpretēti audu griezumos, kuros atklājās pilnīga nekroze vai audzēja izzudums. Aizkuņģa dziedzerā audi no audzēju nesaturošas RL tika izmantoti imūnfēnotipa noteikšanai kontroles audos bez neoplāzijas.

IHĶ mērķiem ar elektronisko rotācijas mikrotomu *Microm HM 360* tika sagatavoti trīs mikrometru biezi griezumumi uz elektrostatiski uzlādēta priekšmetstikla (*Histobond*, *Marienfeld*, Vācija), un audi tika pakļauti deparafinizācijai graduētā spirta šķīdumā (*Sigma-Aldrich*) un *Histograde* ksilolā (*J.T.Baker*). Termāla antigēna struktūras atjaunošana tika veikta mikroviļņu krāsnī (3x5 min.), izmantojot bāzisku *TEG* (pH 9,0) buferi (*DAKO*). Pēc endogēnās peroksidāzes bloķēšanas (*Sigma-Aldrich*) griezumumi tika inkubēti ar primāro antivielu istabas temperatūrā magnētiskā inkubatora kamerā. Pielietotās primārās antivielas klonalitāte, sugas izcelsme, sugas specifiskums, darba atšķaidījums un inkubācijas laiks minēti 1.2. tabulā. Piesaistītās primārās antivielas tika noteiktas ar polimēru vizualizācijas sistēmu *EnVision*, kas konjugēta ar peroksidāzi. Kā hromogēns tika izmantots 3,3'-diaminobenzidīns. Kodolu krāsojumam izmantots Meijera hematoksilīns. Pēc vizualizācijas audu griezumumi tika segti ar segstikliņu (*Biosigma*). Visi IHĶ reaģenti ražoti *DAKO*, Glostrupā, Dānijā. Veiktas pozitīvas un negatīvas kvalitātes kontrolreakcijas, gūstot adekvātus rezultātus.

Imūnhistoķīmisko marķieru ekspresija tika izvērtēta gaismas mikroskopā, izmantojot augsta palielinājuma redzes lauku 400x (t.i., 40x objektīvu un 10x okulārās lēcas; laukums 0,65 mm²).

Imūnhistoķīmisko marķieru ekspresija tika izvērtēta atbilstoši intensitātei: zema, vidēja un augsta intensitāte. Marķieru ekspresija tika uzskatīta par pozitīvu, ja ekspresijas intensitāte bija vidēja vai augsta.

Primāro antivielu paneļa raksturojums

Antigēns	Antivielas raksturojums	Klons	Atšķaidījums	Inkubācija, min.
Ki-67 proteīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>MIB-1</i>	1:100	60
p53 proteīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>DO-7</i>	1:400	60
p21 ^{WAF1/Cip1} proteīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka p21	<i>SX118</i>	1:25	60
p27 ^{Kip1} proteīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka p27	<i>SX53G8</i>	1:50	60
Ciklīns D1	Monoklonāla truša Av pret cilvēka Ag	<i>EP12</i>	1:500	60
Bcl-2 onkoproteīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	124	1:800	60
E-kadherīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>NCH-38</i>	1:50	60
Glikoproteīns CD44	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>DF1485</i>	1:50	60
Citokeratīns 7	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>OV-TL 12/30</i>	1:800	60
Citokeratīns 19	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>RCK108</i>	1:200	60
Citokeratīns 20	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>Ks 20.8</i>	1:200	60
CDX2	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>DAK-CDX2</i>	1:50	60
Citokeratīns 5/6	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>D5/16 B4</i>	1:100	60
Citokeratīns, augstas molekulārmasas	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>34βE12</i>	1:400	60
p63 proteīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>DAK-p63</i>	1:200	60
Hromogranīns A	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>DAK-A3</i>	1:1000	60
CD56	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>123C3</i>	1:100	60
Vimentīns	Monoklonāla peles Av	<i>V9</i>	1:200	60
CD34 klase II	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>QBEnd10</i>	1:1	30
COX-2	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	<i>CX-294</i>	1:200	60

1.2. tabula (turpinājums)				
Antigēns	Antivielas raksturojums	Klons	Atšķaidījums	Inkubācija, min.
BRCA1	Monoklonāla peles Av	GLK-2	1:50	60

Saīsinājumi tabulā: Av, antiViela; Ag, antiGēns.

Analizējot imūnhistoķīmisko reaktivitāti, tika izvērtētas 400 secīgas šūnas. Pozitīvo šūnu relatīvais skaits tika izteikts procentos. Pētāmais gadījums tika uzskatīts par pozitīvu, ja relatīvais pozitīvo šūnu skaits sasniedza robežvērtību, kas tika specifiski definēta katram marķierim atbilstoši starptautiski citētos žurnālos publicētiem pētījumiem. Marķieru mērķa struktūras un robežvērtības ir sekojošas: nukleāras ekspresijas robežvērtības 1% un 10% izmantotas Ki-67 proteīna analīzē (17; 60; 70; 86; 117). Ki-67 pozitīvo šūnu skaits, ko apzīmē arī par Ki-67 indeksu vai proliferācijas frakciju, tika noteikts kā frakcija (%) no kopējā mērķa šūnu skaita. Gaudainas citoplazmatiskas ekspresijas robežvērtība 1% izmantota hromogranīna A analīzei, bet citoplazmatiska/ membranoza ekspresija ar analogu robežvērtību – CD56 (14; 130). Nukleāras ekspresijas robežvērtība 5% izmantota p53, p21^{WAF1/Cip1}, p27^{Kip1} proteīnam un CDX2 (7; 71; 87; 89; 99; 135). Citoplazmatiskas ekspresijas robežvērtība 5% izmantota Bcl-2 onkoproteīnam, CK 7, CK 19, CK 20, CK 5/6, CK 34βE12 un COX-2 (22; 32; 62; 67; 7; 87; 89). Nukleāras ekspresijas robežvērtība 10% izmantota ciklīna D1 un p63 proteīna (28; 41; 69; 78; 93; 105) analīzei. Vimentīna klātbūtnes novērtējumam izmantota citoplazmatiskas ekspresijas robežvērtība 10%. BRCA1 analīzei izmantota robežvērtība 10% gan nukleārās, gan citoplazmatiskās ekspresijas gadījumā. Gan E-kadherīna, gan CD44 ekspresija analizēta šūnu membrānā, izmantojot attiecīgi robežvērtības 10% (92; 121) un 30% (128).

Mikrovaskularizācijas blīvuma noteikšanai (MVB) endoteliālā diferenciācija tika noteikta ar membranozu CD34 ekspresiju. MVB izvērtēts mērķa audu 4 „karstajos punktos”. Šie apvidi tika identificēti, pārskatot visu audu materiālu zemā palielinājumā 100x (t.i., 10x objektīva un 10x okulāra lēcas). Individuālas vaskulārās struktūras tika skaitītas 400x laukā (t.i., 40x objektīva lēca un 10x okulāra lēca; 0,65 mm² laukumā), ietverot visas vaskulārās struktūras ar skaidri redzamu lūmenu un labi izteiktu lineāru formu. MVB tika aprēķināts kā vidējais vaskulāro struktūru skaits vienā augsta palielinājuma redzes laukā, kas tālāk matemātiski pārveidots kā vaskulāro struktūru skaits uz 1 mm².

1.7. Izdzīvotība un prognostiskie faktori

Pēdējā izdzīvotības datu pārbaude katram pacientam tika veikta 2014. gada februārī. Izsekošanas laiks bija laika intervāls starp operācijas laiku un pēdējo kontroli vai nāvi aizkuņģa dziedzera audzēja dēļ, vai laiks, kad patients kohortas sekojumā tika zaudēts cita iemesla dēļ. Gadījumi tika cenzēti, ja patients bija dzīvs pēdējā apskatē vai nomira cita cēloņa dēļ. Mediānais patients izsekošanas laiks bija 10,5 mēneši.

Hipotētiskie klīniskie, morfoloģiskie un imūnhistoķīmiskie prognostiskie faktori tālākai novērtēšanai tika noteikti pēc pētījumiem dažādos literatūras avotos. Saistībā ar mediāno izdzīvotības laiku tika pētīti demogrāfiskie dati (dzimums, vecums), ķirurģiskie dati (operācijas veids), audzēja morfoloģisko īpašību spektrs (pTNMGR, stadija, peri- un intra-neirāla invāzija, intravaskulāra un invāzija limfas vados, mitožu skaits, nekroze) un imūnfenotips, iekļaujot visus izmeklētos audzēja antigēnus (20), kā arī mikrovaskularizācijas blīvumu. ADDA un AEA gadījumiem izdzīvotības analīze tika vērtēta atsevišķi.

1.8. Statistiskā analīze

Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot *IBM SPSS Statistics Version 20.0* statistikas programmatūras paketi (*International Business Machines Corp., Armonk, New York, ASV*). Ticamības intervāls (TI) tika noteikts, izmantojot *Confidence Interval Analysis (CIA)* programmatūru (3).

Uzsākot statistisko analīzi, datu normālsadalījums tika pārbaudīts, izmantojot *Shapiro-Wilk* testu. Aprakstošie dati tika izteikti kā: vidējā vērtība $\pm$ standarta novirze (SD), mediāna ar starpkvartīļu diapazonu (IQR) vai relatīvās vērtības ar 95% ticamības intervālu (TI).

No aprakstošās statistikas metodēm tika izmantoti šādi testi: aprakstošā un krusteniskās tabulas Pīrsona Hī-kvadrāta metode, divvariāciju korelācija kā Spīrmana rangu korelācijas koeficients, ne-parametriskās metodes kā Manna-Vitnija U-tests un Kruskala–Vallisa vienvirziena dispersijas rangu analīze. Datiem ar statistiski ticamu atšķirību tika izmantota ROC līknes analīze, lai noteiktu ietekmi uz neatkarīgo vērtību. Arī mikrovaskularizācijas blīvuma robežvērtība tika noteikta ar ROC līknes analīzi. *Post-hoc* analīze Bonferoni modifikācijā tika izmantota, lai noteiktu atšķirības starp 3 vai vairāk grupām.

Izdzīvotības analīzei tika izmantota Kaplāna-Meijera analīze ar sekojošu *log-rank* testu un Koksas proporcionālo draudu regresiju.

Atšķirības tika uzskatītas par statistiski nozīmīgām, ja p vērtība $\leq 0,05$.

2. REZULTĀTI

2.1. Pacientu un ķirurģisko datu apraksts

2.1.1. ADDA raksturojums

Visa pētījuma laikā (2004.–2014. g.) potenciāli radikālas ADDA rezekcijas bija veiktas 78 pacientiem, tajā skaitā 41/ 78 (52,6%; 95% ticamības intervāls (TI) = 41,6–63,3) sievietēm un 37/ 78 (47,4%; 95% TI = 36,7–58,4) vīriešiem. Vidējais pacientu vecums $\pm$ standarta novirze (SD) bija $63,4 \pm 11,0$ (95% TI = 60,9–65,9) gadi, mediānā vērtība – 67,0 (starpkvartīļu diapazons, IQR = 18,3) gadi. Sieviešu vidējais vecums $\pm$ SD bija $66,0 \pm 10,0$ (95% TI = 62,8–69,2) gadi; mediānais vecums bija 68,0 (IQR = 13,5) gadi. Vīriešu vidējais vecums $\pm$ SD bija $60,5 \pm 11,6$ (95% TI = 56,6–64,4) gadi; mediānais vecums bija 59,0 (IQR = 17,5) gadi.

Pankreatoduodenektomija tika veikta 62/ 78 (79,5%; 95% TI = 69,3–87,0) pacientiem, totāla pankreatektomija 6/ 78 (7,7%; 95% TI = 3,6–15,8) gadījumos, distālā pankreatektomija 9/ 78 (11,5%; 95% TI = 6,2–20,5) pacientiem un Begera (*Beger*) operācija 1/ 78 (1,3%; 95% TI = 0,2–6,9) pacientam. Splenektomija veikta 8/ 78 (10,3%; 95% TI = 5,3–19,0) gadījumos. ADDA metastāzes no aknām vienlaicīgi tika rezecētas 3/ 78 (3,9%; 95% TI = 1,3–10,7) personām.

ADDA visbiežāk, respektīvi, 65/ 78 (83,3%; 95% TI = 73,5–90,0) gadījumos, bija lokalizēta aizkuņģa dziedzera galviņā.

2.1.2. AEA raksturojums

Visā pētījuma periodā 16 pacientiem tika veikta aizkuņģa dziedzera endokrīna audzēja (AEA) potenciāli radikāla ķirurģiska ārstēšana. Šajā grupā sievietes veidoja statistiski ticami lielāku pacientu daļu nekā vīrieši: 12/ 16 (75,0%; 95% TI = 50,5–89,8) *versus* 4/ 16 (25,0%; 95% TI = 10,2–49,5). Vidējais pacientu vecums $\pm$ SD bija $59,4 \pm 9,2$ (95% TI = 54,5–64,3) gadi un mediānā vērtība bija 56,5 (IQR = 16) gadi. Sieviešu vidējais vecums $\pm$ SD bija $59,7 \pm 10,2$ (95% TI = 53,2–66,2), mediānais vecums 56,5 (IQR = 18) gadi. Vīriešu vidējais vecums $\pm$ SD bija $58,5 \pm 6,0$ (95% TI = 49,0–68,0), mediānais vecums bija 57,0 (IQR = 11) gadi.

Izvērtējot operācijas veidu, pankreatoduodenektomija veikta 2/ 16 (12,5%; 95% TI = 3,5–36,0) pacientiem, totāla pankreatektomija 1/ 16 (6,3%; 95% TI = 1,1–28,3) pacientam, distālā pankreatektomija 7/ 16 (43,8%;

95% TI = 23,1–66,8) gadījumos un audzēja enukleācija 6/ 16 (37,5%; 95% TI = 18,5–61,4) pacientiem. Splenektomija tika veikta 5/ 16 (31,3%; 95% TI = 14,2–55,6) gadījumos. Attālās metastāzes tika atklātas un rezecētas 2/ 16 (12,5%; 95% TI = 3,5–36,0) pacientiem.

AEA lokalizācijas ziņā bija vienmērīgi sadalīti sekojošās grupās: aizkuņģa dziedzera galviņas, korpasa, korpasa un astes un tikai astes daļas audzēji. Katrā grupā bija 4/ 16 (25,0%; 95% TI = 10,2–49,5) gadījumu.

2.2. Morfoloģija

2.2.1. ADDA raksturojums

Dati par audzēja lielāko izmēru bija pieejami 61/ 78 (78,2%; 95% TI = 67,8–85,9) ADDA gadījumu. Audzēja lielākā diametra diapazons bija 1,5 līdz 9 cm. Vidējais audzēja izmērs $\pm$ SD bija $3,6 \pm 1,4$ (95% TI = 3,2–4,0) cm, bet mediānā vērtība 3,4 (IQR = 2) cm. Lielākoties (56/ 61; 91,8%; 95% TI = 82,2–96,5) audzēja izmērs pārsniedza 2 cm.

Visas ADDA bija invazīvas; izolētu *carcinoma in situ* (pTis) gadījumu nebija. Divos gadījumos iztrūka informācija gan par audzēja izmēru, gan par tā invāziju ārpus aizkuņģa dziedzera audiem, līdz ar to pT parametrs šajos gadījumos tika klasificēts kā pTx.

Limfas mezgli tika izmeklēti 77/ 78 gadījumos (98,7%; 95% TI = 93,1–99,8). Izmeklēto LM skaits bija no 1 līdz 58. Vidējais izvērtēto LM skaits $\pm$ SD bija $19,4 \pm 15,1$ (95% TI = 16,0–22,8), mediānā vērtība – 15,0 (IQR = 24,0). Vēža metastāžu skarto LM skaits bija no 1 līdz 13, vidējais daudzums $\pm$ SD bija $3,6 \pm 3,2$ (95% TI = 2,7–4,5), mediānā vērtība bija 3,0 (IQR = 3,8).

Ja tika izmeklēti mazāk kā 12 LM, tad pN1 konstatēts 14/ 28 (50,0%; 95% TI = 32,6–67,4) pacientu. Pretstatā, pN1 biežums bija 38/ 49 (77,6%; 95% TI = 64,1–87,0), ja izvērtēto LM skaits bija 12 vai vairāk. pN1 gadījumu skaits bija 17/ 23 (73,9%; 95% TI = 53,5–87,5), ja izvērtēti tika 12–23 LM un 21/ 26 (80,8%; 95% TI = 62,1–91,5), ja tika izvērtēti vairāk kā 24 LM. 1/ 78 (1,3%; 95% TI = 0,2–6,9) gadījumu nebija datu par LM stāvokli (pNx).

Rezekcijas līniju vidū peripankreatiskā RL tika identificēta kā RL ar visaugstāko pozitivitātes risku. Tai sekoja aizkuņģa dziedzera RL (2.1. tabula). Pētāmajā grupā nebija R2 gadījumu. RL stāvoklis netika precizēts (pRx) 5/ 78 (6,4%; 95% TI = 2,8–14,1) pacientiem.

Pilns ADDA pTNM parametru, audzēja diferenciācijas pakāpju un RL stāvokļa raksturojums ir apkopots 2.1. tabulā.

**ADDA raksturojums atbilstoši pTNM parametriem, audzēja
diferenciācijas pakāpei un rezekcijas līniju stāvoklim**

Parametrs	Relatīvais biežums, %	Relatīvā biežuma 95% TI
pT parametrs		
pT1	1,3	0,2–7,1
pT2	0,0	0,0–4,8
pT3	98,7	92,9–99,8
Audzēja skartie orgāni un audi pT3 gadījumos		
Peripankreatiskie taukaudi	100	87,5–100
Divpadsmitpirkstu zarna	59,3	40,7–75,5
Ampula Vater vai Oddi sfinkteris	55,6	37,3–72,4
Kopējais žults vads	25,9	13,2–44,7
Lielie asinsvadi ¹	14,8	5,9–32,5
Resnā zarna	3,7	0,7–18,3
pN parametrs		
pN0	32,5	23,1–43,5
pN1	67,5	56,5–76,9
pM parametrs		
pM0	96,2	89,3–98,7
pM1	3,8	1,3–10,7
Audzēja diferenciācijas pakāpe		
G1	17,9	11,0–27,9
G2	46,2	35,5–57,1
G3	35,9	26,2–47,0
Rezekcijas līnijas		
Negatīvas	42,5	31,8–53,9
Pozitīvas	57,5	46,1–68,2
Iesaistītās rezekcijas līnijas		
Aizkuņģa dziedzera RL	38,1	20,8–59,1
Peripankreatiskā RL	81,0	60,0–92,3
Kopējā žults vada RL vai aknu žults vada RL	23,8	10,6–45,1
Asinsvadu RL	4,8	0,9–22,7

¹ Izslēdzot *truncus coeliacus* un augšējo apzarņa artēriju

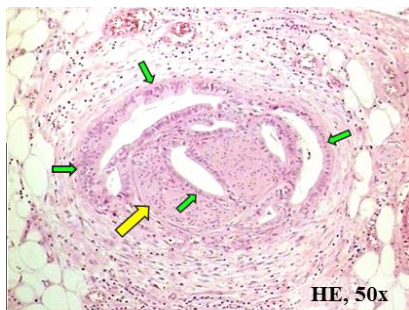
Saīsinājumi tabulā: ADDA, aizkuņģa dziedzera ductāla adenokarcinoma; TI, ticamības intervāls; pT1, audzējs atrodas aizkuņģa dziedzera robežās un audzēja lielākais diametrs nepārsniedz 2 cm; pT2, audzējs atrodas aizkuņģa dziedzera robežās un audzēja lielākais diametrs ir lielāks par 2 cm; pT3, audzējs izplatījies ārpus aizkuņģa dziedzera robežām, bet bez invāzijas *truncus coeliacus* vai augšējā apzarņa artērijā; pN0, reģionālajos limfas mezglos nav audzēja metastāžu; pN1, vismaz 1 reģionālā limfas mezglā ir audzēja metastāzes; pM0, nav attālo metastāžu; pM1, ir morfoloģiski pierādītas attālās metastāzes; G1, augstu diferencēta adenokarcinoma; G2, vidēji diferencēta adenokarcinoma; G3, zemu diferencēta adenokarcinoma; RL, rezekcijas līnijas (33; 46).

Pēc pilnīga pTNM izvērtējuma ADDA stadijas bija sekojošas: IA 1/ 75 (1,3%; 95% TI = 0,3–7,2) gadījumu, IB stadija netika konstatēta, IIA 21/ 75 (28,0%; 95% TI = 19,1–39,0), IIB 49/ 75 (65,3%; 95% TI = 54,1–75,1), III 1/ 75 (1,3%; 95% TI = 0,3–7,2) un IV stadija 3/ 75 (4,0%; 95% TI = 1,4–11,1) gadījumu. Audzēja stadija netika precizēta 3 pacientiem, ieskaitot gadījumu, kurā trūka morfoloģisko datu par limfas mezglu stāvokli un 2 gadījumus ar neprecizētu audzēja izmēru un ekstrapankreatisko invāziju.

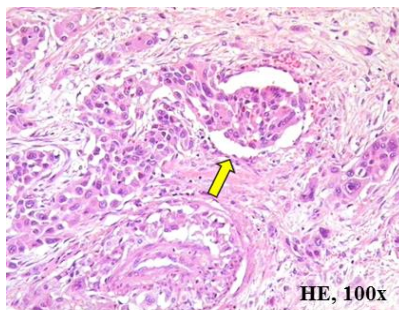
ADDA audos vismaz 1 mitoze/ 10 APRL tika identificēta 77/ 78 (98,7%; 95% TI = 93,1–99,8) gadījumu. Mitotiski aktīvās ADDA mitozu daudzums variēja no 1 līdz 12 mitozēm. Vidējais mitozu daudzums no visiem gadījumiem $\pm$ SD bija $3,7 \pm 2,5$ (95% TI = 3,1–4,3) mitozes un mediānā vērtība – 3,0 (IQR = 3) mitozes.

Intravaskulāra audzēja invāzija tika konstatēta 30/ 78 (38,5%; 95% TI = 28,5–49,6) gadījumos, t.sk. lielajos asinsvados 6/ 78 (7,7%; 95% TI = 3,6–15,8) gadījumu un mazajos asinsvados – 25/ 78 (32,1%; 95% TI = 22,8–43,0) gadījumu. Perineirāla invāzija tika atrasta 68/ 78 (87,2%; 95% TI = 78,0–92,9), bet intraneirāla – 28/ 78 (35,9%; 95% TI = 26,2–47,0) audzēju (2.1. attēls). Invāzija limfas vados (2.2. attēls) konstatēta 29/ 78 (37,2%; 95% TI = 27,3–48,3) gadījumu.

Audzēja nekroze atklāta 21/ 78 (26,9%; 95% TI = 18,3–37,7) gadījumos, un tās plašums bija 0,4–37% audzēja audu. Vidējais nekrozes plašums $\pm$ SD bija $10,4\% \pm 9,2$ (95% TI = 6,2–14,6), mediānā vērtība – 10,0% (IQR = 15,3).



2.1. attēls. Aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomas perineirāla un intraneirāla invāzija. Zaļās bultas, vēža kompleksi; dzeltenā bulta, nervs. Hematoksilīns – eozīns (HE), attēla palielinājums 50x.



2.2. attēls. Aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomas invāzija limfas vadā (bulta). Hematoksilīns – eozīns (HE), attēla palielinājums 100x.

2.2.2. AEA raksturojums

AEA lielākais diametrs pētītajā grupā bija no 1,2 līdz 12,5 cm. Vidējais audzēja izmērs $\pm$ SD bija $3,9 \pm 3,2$ (95% TI = 2,2–5,6) cm, mediānā vērtība – 2,9 (IQR = 4,3) cm. 9/ 16 (56,3%; 95% TI = 33,2–76,9) audzēju bija lielāki par 2 cm. Visos AEA gadījumos bija precīzi noteikts lielākais audzēja diametrs, līdz ar to zināms precīzs pT parametrs (2.2. tabula).

Izvērtēto limfas mezglu skaits bija no 1 līdz 33. Vidējais LM daudzums $\pm$ SD bija $6,2 \pm 10,0$ (95% TI = 0,0–13,6), mediānā vērtība – 1,5 (IQR = 6). LM skaits ar audzēja metastāzēm bija no 1 līdz 2 LM. pNx grupa ietvēra 6/ 16 (37,5%; 95% TI = 18,5–61,4) gadījumus.

Morfoloģiski pierādītas attālās metastāzes tika identificētas 2/ 16 (12,5%; 95% TI = 3,5–36,0) pacientiem, un abos gadījumos tās bija lokalizētas aknās. Attiecībā uz rezekcijas līnijām pRx tika noteikts 5/ 16 (31,3%; 95% TI = 14,2–55,6) gadījumos.

Pilns pTNM parametru, audzēja diferenciācijas pakāpi un RL stāvokļa raksturojums AEA gadījumos ir attēlots 2.2. tabulā.

2.2. tabula

AEA raksturojums saskaņā ar pTNM parametriem, audzēja diferenciācijas pakāpi un rezekcijas līniju stāvokli

Parametrs	Relatīvais biežums, %	Relatīvā biežuma 95% TI
pT parametrs		
pT1	25,0	10,2–49,5
pT2	37,5	18,5–61,4
pT3	37,5	18,5–61,4
Iesaistītās struktūras pT3 gadījumos		
Peripankreatiskie taukaudi	83,3	43,7–97,0
Divpadsmitpirkstu zarna	33,3	9,7–70,0
Ampula Vater vai Oddi sfinkteris	16,7	3,0–56,4
Kuņģis vai liesa	16,7	3,0–56,4
pN parametrs		
pN0	80,0	49,0–94,3
pN1	20,0	5,7–51,0
pM parametrs		
pM0	87,5	64,0–96,5
pM1	12,5	3,5–36,0

2.2. tabulas turpinājums

Parametrs	Relatīvais biežums, %	Relatīvā biežuma 95% TI
Audzēja diferenciācijas pakāpe		
Augstu diferencēts labdabīgs endokrīns audzējs	6,2	1,1–28,3
Augstu diferencēts endokrīns audzējs, ar neskaidru potenciālu	56,3	33,2–76,9
Augstu diferencēta endokrīna karcinoma	31,3	14,2–55,6
Zemu diferencēta endokrīna karcinoma	6,2	1,1–28,3
Rezekcijas līnijas		
Negatīvas	72,7	43,4–90,3
Pozitīvas	27,3	9,8–56,6
Iesaistītās rezekcijas līnijas		
Aizkuņģa dziedzera RL	66,7	20,8–93,9
Peripankreatiskā RL	33,3	6,2–79,2
Kuņģa RL	33,3	6,2–79,2

Saīsinājumi tabulā: AEA, aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs; TI, ticamības intervāls; pT1, audzējs atrodas aizkuņģa dziedzera robežās un audzēja lielākais diametrs nepārsniedz 2 cm; pT2, audzējs atrodas aizkuņģa dziedzera robežās un audzēja lielākais diametrs ir lielāks par 2 cm; pT3, audzējs izplatījies ārpus aizkuņģa dziedzera robežām, bet bez invāzijas *truncus coeliacus* vai augšējā apzarna artērijā; pN0, reģionālajos limfās mezglos nav audzēja metastāžu; pN1, vismaz 1 reģionālā limfas mezglā ir audzēja metastāzes; pM0, nav attālo metastāžu; pM1, ir morfoloģiski pierādītas attālas metastāzes; RL, rezekcijas līnijas (33; 52).

AEA stadijas bija sekojošas: IA 2/ 10 (20,0%; 95% TI = 5,7–51,0) gadījumos, IB 3/ 10 (30,0%; 95% TI = 10,8–60,3), IIA 2/ 10 (20,0%; 95% TI = 5,7–51,0) pacientiem, IIB 1/ 10 (10,0%; 95% TI = 1,8–40,4) gadījumos, III stadijas audzēju nebija un IV stadija konstatēta 2/ 10 (20,0%; 95% TI = 5,7–51,0) gadījumos. Audzēja stadija netika precizēta 6 pacientiem, jo šajos gadījumos morfoloģiskai izvērtēšanai netika atsūtīti limfas mezgli.

Mitotiskā aktivitāte tika konstatēta 10/ 16 (62,5%; 95% TI = 38,6–81,5) gadījumos, kuros mitožu skaita diapazons bija no 1 līdz 13. Vidējais mitožu skaits $\pm$ SD sasniedza $4,0 \pm 3,8$ (95% TI = 1,3–6,7) un mediānā vērtība 3,0 (IQR = 4,0) mitozes/ 10 APRL.

Intravaskulāra invāzija tika konstatēta 8/ 16 (50,0%; 95% TI = 28,0–72,0) audzēju, un visos gadījumos tā bija mazajos asinsvados. Perineirāla invāzija tika atrasta 2/ 16 (12,5%; 95% TI = 3,5–36,0) audzēju. Nevienā gadījumā netika konstatēta intraneirāla audzēja invāzija. Audzēja emboli limfas

vados bija 2/ 16 (12,5%; 95% TI = 3,5–36,0) gadījumos. Pētāmās grupas ietvaros AEA nekroze netika konstatēta.

2.3. Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas, aizkuņģa dziedzera endokrīna audzēja un aizkuņģa dziedzera izvadu un saliņu imūnhistoķīmiskais profils

Pētīto imūnhistoķīmisko marķieru, t.sk. Ki-67, p53, p21, p27, ciklīna D1, Bcl-2, CK 7, CK 19, CK 20, CDX2, CK 5/6, CK 34βE12, p63, E-kadherīna, CD44, hromogranīna A, CD56, vimentīna, COX-2 un BRCA1 ekspresija tika izvērtēta ADDA audos, aizkuņģa dziedzera izvados bez malignitātes (IBM), AEA audos un aizkuņģa dziedzera saliņās bez neoplāzijas (SBN) pazīmēm.

Šūnas cikla marķieru izvērtējums tika uzsākts ar proliferācijas aktivitātes analīzi kā vienu no galvenajām audzēja pamatīpašībām. ADDA proliferācijas aktivitāte bija nozīmīgi augstāka nekā AEA vai aizkuņģa dziedzera labdabīgos audos. Savukārt AEA proliferācijas aktivitāte ir augstāka nekā aizkuņģa dziedzera SBN, kā parādīts 2.3. tabulā.

Līdzīgi proliferācijas aktivitātei, arī proteīna p53 pozitīva ekspresija nozīmīgi biežāk konstatēta ADDA gadījumos nekā AEA, aizkuņģa dziedzera IBM vai SBN. Vērtējot jebkuru p53 ekspresijas līmeni, proteīna klātbūtne konstatēta 73,0% (95% TI = 61,9–81,8) ADDA gadījumu, bet tikai 12,3% (95% TI = 6,6–21,8) aizkuņģa dziedzera IBM. Izvērtējot AEA, p53 pozitīva ekspresija konstatēta retāk nekā ADDA, respektīvi, 26,7% (95% TI = 10,9–52,0) audzēju. Ņemot vērā ekspresijas robežvērtību, pozitīva ekspresija tika konstatēta 67,6% (95% TI = 56,3–77,1) ADDA gadījumu, pretstatā 4,1% (95% TI = 1,4–11,4) aizkuņģa dziedzera IBM. Analoga atšķirība vērojama arī, izvērtējot pozitīvo šūnu vidējo daudzumu.

p21 ekspresija ADDA audos bija statistiski ticami biežāka nekā aizkuņģa dziedzera IBM un AEA, t.i., 95,9% (95% TI = 88,6–98,6) *versus* 30,4% (95% TI = 20,9–42,1) *versus* 71,4% (95% TI = 45,4–88,3). Vidējais p21 pozitīvo šūnu daudzums apstiprināja novēroto sakarību (2.3. tabula).

Proteīna p27 pozitīva ekspresija tika novērota visos gadījumos un visos 4 izvērtējamo audu tipos (2.3. tabula). Tomēr vidējais p27 pozitīvo šūnu skaits bija nozīmīgi zemāks ADDA gadījumos (28,2%; 95% TI = 24,2–32,2) nekā AEA (62,6%; 95% TI = 46,6–78,6) vai aizkuņģa dziedzera IBM (42,3%; 95% TI = 39,0–45,6) un SBN (75,3%; 95% TI = 64,5–86,1).

ADDA audos konstatēta nozīmīgi paaugstināta ciklīna D1 ekspresija salīdzinoši ar aizkuņģa dziedzeru IBM. Ciklīna D1 pozitīvo šūnu vidējais, relatīvais daudzums ADDA gadījumos bija 19,3% (95% TI = 16,4–22,2), bet aizkuņģa dziedzeru IBM – 2,6% (95% TI = 1,3–3,9). Augsts ekspresijas līmenis tika konstatēts arī endokrīnos audos: gan audzējos, gan endokrīnos audos bez neoplastiskas transformācijas (2.3. tabula).

2.3. tabula

Šūnas cikla marķieru ekspresijas raksturojums aizkuņģa dziedzeru audos ar un bez neoplāzijas

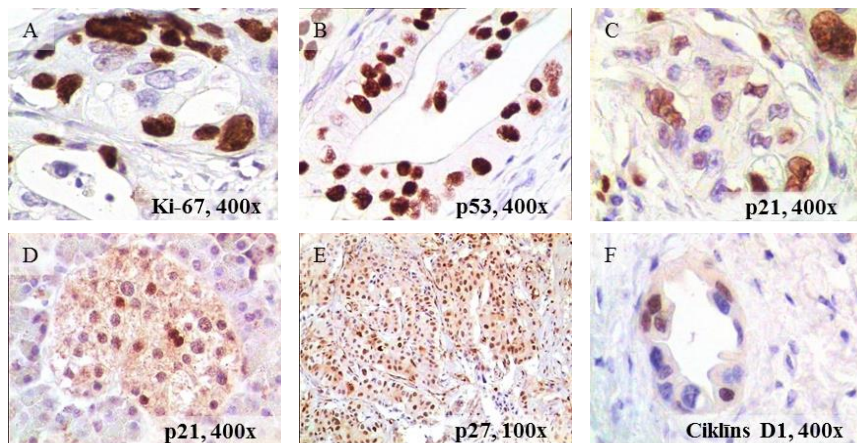
Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzeru IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzeru SBN
Ki-67				
Gadījumu skaits ar jebkuru Ki-67 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	75 100 95,1–100	13 17,8 10,7–28,1	15 100 79,6–100	0 0,0 0,0–20,4
Vidējais Ki-67 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	23,2 ± 15,0 19,7–26,7	1,8 ± 0,9 1,3–2,3	3,4 ± 3,4 1,5–5,3	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo Ki-67 gadījumu skaits; %; 95% TI (robežvērtība 1%)	75 100 95,1–100	13 17,8 10,7–28,1	15 100 79,6–100	0 100 0,0–20,4
Pozitīvo Ki-67 gadījumu skaits; %; 95% TI (robežvērtība 10%)	63 84,0 74,1–90,6	0 0,0 0,0–5,0	2 13,3 3,7–37,9	0 100 0,0–20,4
p53				
Gadījumu skaits ar jebkuru p53 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	54 73,0 61,9–81,8	9 12,3 6,6–21,8	4 26,7 10,9–52,0	2 13,3 3,7–37,9
Vidējais p53 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	46,8 ± 28,6 39,0–54,6	4,4 ± 3,5 1,7–7,1	34,5 ± 26,1 7,0–76,0	4,5 ± 4,9 0,0–48,5
Pozitīvo p53 gadījumu skaits; %; 95% TI	50 67,6 56,3–77,1	3 4,1 1,4–11,4	3 20,0 7,1–45,2	1 6,7 1,2–29,8
p21				
Gadījumu skaits ar jebkuru p21 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	70 95,9 88,6–98,6	21 30,4 20,9–42,1	10 71,4 45,4–88,3	5 38,5 17,7–64,5
Vidējais p21 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	26,2 ± 17,1 22,1–30,3	4,3 ± 3,7 2,6–6,0	8,1 ± 9,5 1,3–14,9	11,2 ± 9,0 0,0–22,4

2.3. tabula (turpinājums)				
Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzera IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzera SBN
Pozitīvo p21 gadījumu skaits; %; 95% TI	62 84,9 75,0–91,4	5 7,2 3,1–15,9	4 28,6 11,7–54,7	4 30,8 12,7–57,6
p27				
Gadījumu skaits ar jebkuru p27 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	74 100 95,1–100	68 100 94,7–100	14 100 78,5–100	13 100 77,2–100
Vidējais p27 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	28,2 ± 17,4 24,2–32,2	42,3 ± 13,5 39,0–45,6	62,6 ± 27,7 46,6–78,6	75,3 ± 17,9 64,5–86,1
Pozitīvo p27 gadījumu skaits; %; 95% TI	68 91,9 83,4–96,2	68 100 94,7–100	14 100 78,5–100	13 100 77,2–100
Ciklīns D1				
Gadījumu skaits ar jebkuru ciklīna D1 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	67 90,5 81,7–95,3	7 9,9 4,9–19,0	9 75,0 46,8–91,1	11 84,6 57,8–95,7
Vidējais ciklīna D1 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	19,3 ± 11,7 16,4–22,2	2,6 ± 1,4 1,3–3,9	30,9 ± 32,3 6,1–55,7	20,4 ± 13,9 11,1–29,7
Pozitīvo ciklīna D1 gadījumu skaits; %; 95% TI	48 64,9 53,5–74,8	0 0,0 0,0–5,1	5 41,7 19,3–68,1	8 61,5 35,5–82,3
Bcl-2				
Gadījumu skaits ar jebkuru Bcl-2 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	1 1,3 0,2–7,2	8 11,0 5,7–20,2	0 0,0 0,0–20,4	0 0,0 0,0–20,4
Vidējais Bcl-2 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	NP	17,5 ± 13,6 6,1–28,9	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo Bcl-2 gadījumu skaits; %; 95% TI	1 1,3 0,2–7,2	8 11,0 5,7–20,2	0 0,0 0,0–20,4	0 0,0 0,0–20,4

Saīsinājumi tabulā: ADDA, aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma; IBM, izvadi bez malignitātes; AEA, aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs; SBN, saliņas bez neoplāzijas, TI, ticamības intervāls; SD, standarta novirze; IQR, starpkvartiļu intervāls; NP, nav pielietojams.

Pozitīva Bcl-2 ekspresija endokrīnos audos netika konstatēta. Retos gadījumos tā bija novērojama starp ADDA gadījumiem (1,3%, 95% TI = 0,2–7,2). Pētot aizkuņģa dziedzera IBM, Bcl-2 ekspresija konstatēta 8/ 73 (11,0%; 95% TI = 5,7–20,2) audu materiālos.

Pilns šūnas cikla marķieru izvērtējums ir attēlots 2.3. tabulā un 2.3. attēlā.



2.3. attēls. Šūna cikla marķieru imūnhistoķīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā (ADDA), aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā (AEA) un aizkuņģa dziedzera salīnās bez neoplāzijas (SBN). A, nukleāra Ki-67 ekspresija ADDA audos; B, nukleāra p53 ekspresija ADDA audos; C, nukleāra p21 ekspresija ADDA audos; D, nukleāra p21 ekspresija aizkuņģa dziedzera SBN, E, nukleāra p27 ekspresija AEA audos; F, nukleāra ciklīna D1 ekspresija ADDA audos. Imūnperoksidāze, A, anti-Ki67; B, anti-p53; C–D, anti-p21; E, anti-p27; F, anti-ciklīns D1. Attēla palielinājums 100x (E) un 400x (A–D, F).

Gan E-kadherīna, gan CD44 ekspresija izvērtētajos audos bez neoplastiskas transformācijas bija nozīmīgi atšķirīga (2.4. tabula).

E-kadherīna ekspresija bija biežāk novērojama aizkuņģa dziedzera IBM nekā SBN: 97,0% (95% TI = 89,8–99,2) *versus* 64,3% (95% TI = 38,8–83,7) gadījumu. Salīdzinot aizkuņģa dziedzera audzējus, E-kadherīna ekspresija bija būtiski biežāka ADDA nekā AEA audos.

CD44 pozitivitāte bija vairāk vizualizējama aizkuņģa dziedzera IBM nekā aizkuņģa dziedzera SBN ar vidējo CD44 pozitīvo šūnu skaitu 39,9% (95% TI = 34,5–45,3) *versus* 13,8% (95% TI = 7,0–20,6) šūnu. Analogi atšķirās

pozitīvo gadījumu skaits: 59,4% (95% TI = 47,6–70,2) *versus* 7,7% (95% TI = 1,4–33,3) aizkuņģa dziedzera IBM un aizkuņģa dziedzera SBN, respektīvi.

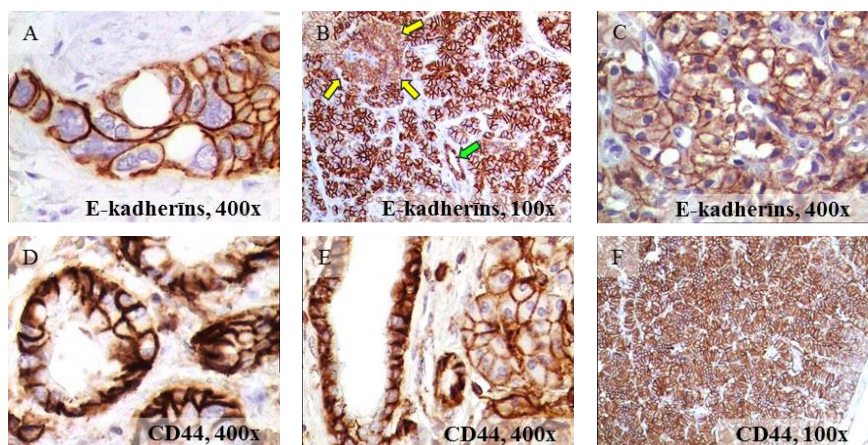
Šūnas adhēzijas marķieru ekspresijas rezultāti ir apkopoti 2.4. tabulā un imūnhistoķīmiskā vizualizācija – 2.4. attēlā.

2.4. tabula

Adhēzijas marķieru ekspresijas raksturojums aizkuņģa dziedzera audos ar un bez neoplāzijas

Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzera IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzera SBN
E-kadherīns				
Gadījumu skaits ar jebkuru E-kadherīna ekspresijas līmeni; %; 95% TI	74 98,7 92,8–99,8	65 97,0 89,8–99,2	13 92,9 68,5–98,7	9 64,3 38,8–83,7
Vidējais E-kadherīna pozitīvo šūnu daudzums $\pm$ SD (%); 95% TI	62,9 $\pm$ 30,3 55,9–69,9	69,7 $\pm$ 31,7 61,8–77,6	49,6 $\pm$ 34,7 28,6–70,6	54,9 $\pm$ 27,2 34,0–75,8
Pozitīvo E-kadherīna gadījumu skaits; %; 95% TI	72 96,0 88,9–98,6	61 91,0 81,8–95,8	10 71,4 45,4–88,3	8 57,1 32,6–78,6
CD44				
Gadījumu skaits ar jebkuru CD44 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	63 86,3 76,6–92,4	67 97,1 90,0–99,2	8 57,1 32,6 – 78,6	12 92,3 66,7–98,6
Vidējais CD44 pozitīvo šūnu daudzums $\pm$ SD (%); 95% TI	37,2 $\pm$ 23,6 31,3–43,1	39,9 $\pm$ 22,2 34,5–45,3	48,8 $\pm$ 33,6 20,7–76,9	13,8 $\pm$ 10,7 7,0–20,6
Pozitīvo CD44 gadījumu skaits; %; 95% TI	33 45,2 34,3–56,6	41 59,4 47,6–70,2	5 35,7 16,3–61,2	1 7,7 1,4–33,3

Saīsinājumi tabulā: ADDA, aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma; IBM, izvadi bez malignitātes; AEA, aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs; TI, ticamības intervāls; SD, standarta novirze; IQR, starpkvartīļu intervāls.



2.4. attēls. Šūnas adhēzijas marķieru imūnhistokīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā (ADDA), aizkuņģa dziedzera izvados bez malignitātes (IBM), aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā (AEA), aizkuņģa dziedzera salīnās bez neoplāzijas (SBN). A–C, membranoza E-kadherīna ekspresija: A, ADDA audos; B, aizkuņģa dziedzera IBM (zaļa bulta) un aizkuņģa dziedzera SBN (dzeltenas bultas); C, AEA audos; D–F, membranoza CD44 ekspresija: D, ADDA audos; E, aizkuņģa dziedzera IBM; F, AEA audos. Imūnperoksidāze, A–C, anti-E-kadherīns; D–F, anti-CD44. Attēla palielinājums 100x (B) un 400x (A, C–F).

Citokeratīnu spektrs kā audzēja histogēnēzes raksturojums un diferenciāldiagnostiski svarīgs parametrs tika izvērtēts kopā ar CDX2 un skvamozas diferenciācijas marķieri p63 (2.5. tabula). ADDA ekspresijas spektrs bija identisks aizkuņģa dziedzera IBM attiecībā uz CK 7, CK 19 un augstas molekulārmasas citokeratīnu gan, vērtējot jebkura līmeņa ekspresiju, gan, analizējot robežvērtību pārsniegušo ekspresiju. Tomēr gan CK 7, gan CK 19 ekspresija ADDA bija nozīmīgi samazināta, salīdzinot ar aizkuņģa dziedzera IBM, izvērtējot vidējo pozitīvo šūnu daudzumu: CK 7 ekspresija vidēji konstatēta 91,5% (95% TI = 88,1–94,9) ADDA šūnu, bet 98,0% (95% TI = 96,8–99,2) šūnu aizkuņģa dziedzera IBM. Vidējais CK 19 šūnu daudzums bija 86,8% (95% TI = 83,7–89,9) ADDA šūnās, bet 95,7% (95% TI = 94,0–97,4) šūnu aizkuņģa dziedzera IBM.

Aizkuņģa dziedzera IBM bija pilnīgi negatīvi attiecībā uz CK 20, CK 5/6 un p63 ekspresiju, turpretim ADDA tika konstatēta šo 3 marķieru pozitīva ekspresija. Neskatoties uz CK 20 ekspresijas atšķirību, CDX2

ekspresija bija novērojama vienādi bieži gan ADDA audos, gan aizkuņģa dziedzerā IBM.

Reizēm AEA tika konstatēta CK 7, CK 19 un p63 ekspresija, bet aizkuņģa dziedzerā SBN neekspresēja nevienu marķieri no citokeratīnu spektra, CDX2 un p63. CK 19 AEA audos statistiski ticamu atšķīrās no aizkuņģa dziedzerā SBN, vērtējot jebkura līmeņa ekspresijas biežumu: 42,9% (95% TI = 21,4–67,4) *versus* 0% (95% TI = 0,0–20,4) gadījumu. Attiecībā uz CK 7, CK 19 un p63, AEA audos konstatēts statistiski ticami mazāks vidējo pozitīvo šūnu daudzums nekā ADDA audos. Izvērstis citokeratīnu spektra, CDX2 un p63 ekspresijas apraksts ir apkopots 2.5. tabulā un attēlots 2.5. attēlā.

2.5. tabula

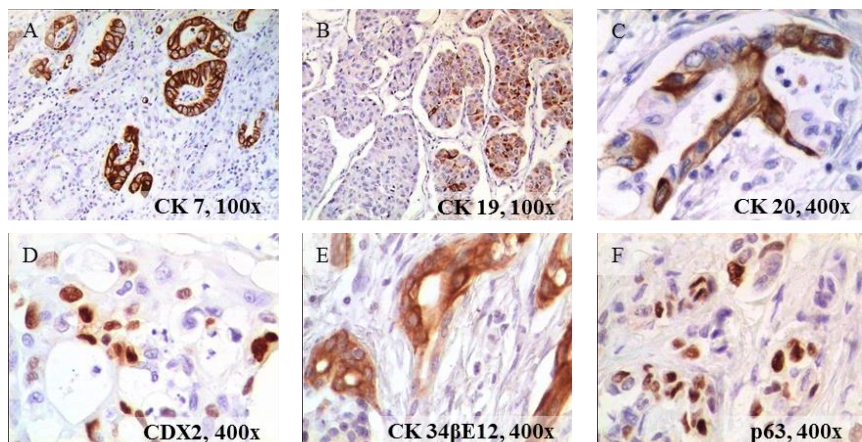
Citokeratīnu spektra, intestinālās un skvamozās diferenciācijas marķieru ekspresijas raksturojums aizkuņģa dziedzerā audos ar un bez neoplāzijas

Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzerā IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzerā SBN
CK 7				
Gadījumu skaits ar jebkuru CK 7 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	74 100 95,1–100	71 100 94,9–100	2 14,3 4,0–39,9	0 0,0 0,0–22,8
Vidējais CK 7 pozitīvo šūnu daudzums $\pm$ SD (%); 95% TI	91,5 $\pm$ 14,7 88,1–94,9	98,0 $\pm$ 5,0 96,8–99,2	15,5 $\pm$ 3,5 0,0–47,0	0 $\pm$ 0 0,0–0,0
Pozitīvo CK 7 gadījumu skaits; %; 95% TI	73 98,6 92,7–99,8	71 100 94,9–100	2 14,3 4,0–39,9	0 0,0 0,0–22,8
CK 19				
Gadījumu skaits ar jebkuru CK 19 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	75 100 95,1–100	71 100 94,9–100	6 42,9 21,4–67,4	0 0,0 0,0–20,4
Vidējais CK 19 pozitīvo šūnu daudzums $\pm$ SD (%); 95% TI	86,8 $\pm$ 13,5 83,7–89,9	95,7 $\pm$ 7,2 94,0–97,4	22,8 $\pm$ 34,5 0,0–59,0	0 $\pm$ 0 0,0–0,0
Pozitīvo CK 19 gadījumu skaits; %; 95% TI	75 100 95,1–100	71 100 94,9–100	4 28,6 11,7–54,7	0 0,0 0,0–20,4
CK 20				
Gadījumu skaits ar jebkuru CK 20 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	27 36,0 26,1–47,3	0 0,0 0,0–5,1	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–20,4

2.5. tabula (turpinājums)				
Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzerā IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzerā SBN
CK 20				
Vidējais CK 20 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	13,7 ± 15,5 7,6–19,8	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo CK 20 gadījumu skaits; %; 95% TI	17 22,7 14,7–33,3	0 0,0 0,0–5,1	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–20,4
CDX2				
Gadījumu skaits ar jebkuru CDX2 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	9 12,0 6,4–21,3	15 20,8 13,1–31,6	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–21,5
Vidējais CDX2 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	16,1 ± 7,5 10,3–21,9	18,1 ± 9,6 12,8–23,4	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo CDX2 gadījumu skaits; %; 95% TI	9 12,0 6,4–21,3	14 19,4 12,0–30,0	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–21,5
CK 5/6				
Gadījumu skaits ar jebkuru CK 5/6 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	10 13,3 7,4–22,8	0 0,0 0,0–5,4	0 0,0 0,0–20,4	0 0,0 0,0–21,5
Vidējais CK 5/6 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	8,7 ± 5,8 4,6–12,8	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo CK 5/6 gadījumu skaits; %; 95% TI	5 6,7 2,9–14,7	0 0,0 0,0–5,4	0 0,0 0,0–20,4	0 0,0 0,0–21,5
CK 34βE12				
Gadījumu skaits ar jebkuru CK 34βE12 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	73 97,3 90,8–99,3	66 98,5 92,0–99,7	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–21,5
Vidējais CK 34βE12 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	54,9 ± 28,8 48,2–61,6	46,4 ± 21,0 41,2–51,6	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo CK 34βE12 gadījumu skaits; %; 95% TI	72 96,0 88,9–98,6	65 97,0 89,8–99,2	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–21,5
p63				
Gadījumu skaits ar jebkuru p63 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	28 37,3 27,3–48,7	0 0,0 0,0–5,1	4 28,6 11,7–54,7	0 0,0 0,0–21,5

2.5. tabula (turpinājums)				
Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzerā IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzerā SBN
p63				
Vidējais p63 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	22,4 ± 19,0 15,0–29,8	0 ± 0 0,0–0,0	3,3 ± 2,5 0,0–7,3	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo p63 gadījumu skaits; %; 95% TI	18 24,0 15,8–34,8	0 0,0 0,0–5,1	0 0,0 0,0–21,5	0 0,0 0,0–21,5

Saīsinājumi tabulā: ADDA, aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma; IBM, izvadi bez malignitātes; AEA, aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs; SBN, saliņas bez neoplāzijas; TI, ticamības intervāls; SD, standarta novirze; IQR, starpkvartīļu intervāls.



2.5. attēls. Citokeratīnu spektra, CDX2 un skvamozas diferenciācijas marķieru ekspresijas imūnhistoķīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā (ADDA) un aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā (AEA). A, citoplazmatiska CK 7 ekspresija ADDA audos; B, citoplazmatiska CK 19 ekspresija AEA audos; C, citoplazmatiska CK 20 ekspersija ADDA audos; D, nukleāra CDX2 ekspresija ADDA audos; E, citoplazmatiska CK 34βE12 ekspresija ADDA audos; F, nukleāra p63 ekspresija ADDA audos. Imūnperoksidāze, A, anti-CK 7; B, anti-CK 19; C, anti-CK 20; D, anti-CDX2; E, anti-CK 34βE12; F, anti-p63. Attēla palielinājums 100x (A,B) un 400x (C–F).

Hromogranīns A tika pētīts endokrīnās diferenciācijas atklāšanai. Vērtējot jebkura līmeņa ekspresiju, gadījumu skaita ziņā netika atrastas atšķirības starp hromogranīna A ekspresiju ADDA un aizkuņģa dziedzera IBM,

kā arī starp AEA un aizkuņģa dziedzera SBN, bet pārliecinoša atšķirība tika atklāta starp aizkuņģa dziedzera eksokrīniem audiem (ADDA, aizkuņģa dziedzera IBM) un endokrīniem audiem (AEA, aizkuņģa dziedzera SBN), respektīvi: 40,0% (95% TI = 28,6–52,6); 30,0% (95% TI = 19,9–42,5) un 100% (95% TI = 79,6–100); 100% (95% TI = 79,6–100) gadījumu. Arī vidējais hromogranīna A pozitīvo šūnu daudzums nozīmīgi atšķīrās starp eksokrīnajiem un endokrīnajiem audiem (2.6. tabula). ADDA konstatēts statistiski ticami lielāks vidējais pozitīvo šūnu skaits nekā aizkuņģa dziedzera IBM: 7,6% (95% TI = 4,1–11,1) un 1,2% (95% TI = 1,0–1,4) šūnu. Attiecībā uz hromogranīna A diagnostisko vērtību ADDA un AEA diferenciāldiagnostikā pēc PVO kritērijiem, sensitivitāte bija 100% (95% TI = 79,6–100) un specifitāte – 100% (95% TI = 94,0–100). Pozitīvā un negatīvā prediktīvā vērtība bija 100% (95% TI = 79,6–100) un 100% (95% TI = 94,0–100).

Atšķirībā no hromogranīna A, aizkuņģa dziedzera IBM konstatēts statistiski un bioloģiski nozīmīgi lielāks CD56 pozitīvo šūnu vidējais, relatīvais skaits nekā ADDA audos: 26,6% (95% TI = 21,9–31,3) *versus* 4,3% (95% TI = 2,1–6,5). CD56 pozitīvo šūnu skaits aizkuņģa dziedzera IBM pārsniedz arī hromogranīna A pozitīvo šūnu daudzumu. Neuroendokrīnās diferenciācijas marķieru ekspresijas raksturojums ir apkopots 2.6. tabulā un attēlots 2.6. attēlā.

2.6. tabula

Neuroendokrīno marķieru ekspresija aizkuņģa dziedzera audos ar un bez neoplāzijas

Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzera IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzera SBN
Hromogranīns A				
Gadījumu skaits ar jebkuru hromogranīna A ekspresijas līmeni; %; 95% TI	24 40,0 28,6–52,6	18 30,0 19,9–42,5	15 100 79,6–100	15 100 79,6–100
Vidējais hromogranīna A pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	7,6 ± 8,4 4,1–11,1	1,2 ± 0,4 1,0–1,4	97,9 ± 2,2 96,7–99,1	99,4 ± 0,7 99,0–99,8
Pozitīvo hromogranīna A gadījumu skaits; %; 95% TI	24 40,0 28,6–52,6	18 30,0 19,9–42,5	15 100 79,6–100	15 100 79,6–100

2.6. tabula (turpinājums)				
Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzera IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzera SBN
CD56				
Gadījumu skaits ar jebkuru CD56 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	24 40,0 28,6–52,6	54 90,0 79,9–95,3	14 100 78,5–100	14 100 78,5–100
Vidējais CD 56 pozitīvo šūnu daudzums $\pm$ SD (%); 95% TI	4,3 $\pm$ 5,2 2,1–6,5	26,6 $\pm$ 17,3 21,9–31,3	97,7 $\pm$ 3,2 95,9–99,5	99,1 $\pm$ 0,8 98,6–99,6
Pozitīvo CD56 gadījumu skaits; %; 95% TI	24 40,0 28,6–52,6	54 90,0 79,9–95,3	14 100 78,5–100	14 100 78,5–100

Saīsinājumi tabulā: ADDA, aizkuņģa dziedzera duktāla adenokarcinoma; IBM, izvadi bez malignitātes; AEA, aizkuņģa dziedzera endokrīns audzējs; SBN, salīņas bez neoplāzijas; TI, ticamības intervāls; SD, standarta novirze; IQR, starpkvartiļu intervāls.

Mezenhimālā intermedialā filamenta vimentīna ekspresija epiteliālajā komponentā tika konstatēta gan ADDA audos, gan aizkuņģa dziedzera IBM un arī AEA audos. Aizkuņģa dziedzera IBM pozitīvo šūnu skaits bija ievērojami mazāks nekā audzējos: 5,2% (95% TI = 2,7–7,7) šūnu aizkuņģa dziedzera IBM; 33,1% (95% TI = 17,6–48,6) ADDA un 37,7% (95% TI = 8,1–67,3) AEA šūnu.

COX-2 pozitīva ekspresija tika konstatēta tikai audzēju audos. Gan ADDA, gan AEA konstatēts līdzīgs skaits gadījumu ar jebkura līmeņa COX-2 ekspresiju, bet ADDA novērots nozīmīgi lielāks pozitīvo šūnu relatīvais daudzums nekā AEA audos: 23,8% (95% TI = 17,7–29,9) ADDA *versus* 6,2% (95% TI = 0,0–13,0) AEA audos.

BRCA1 ekspresija ir reta atrade visās izvērtētajās struktūrās. Visbiežāk tā konstatēta aizkuņģa dziedzera SBN: 26,7% (95% TI = 10,9–52,0) gadījumu ar vidējo pozitīvo šūnu skaitu 51,5% (95% TI = 30,3–72,7).

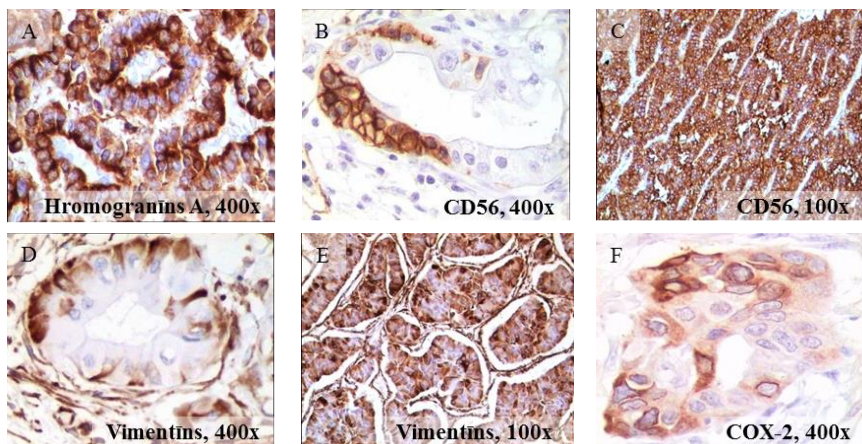
Vimentīna, COX-2 un BRCA1 ekspresija aizkuņģa dziedzera audos ir apkopota 2.7. tabulā un attēlota 2.6. attēlā.

**Vimentīna, COX-2 un BRCA1 ekspresijas raksturojums aizkuņģa
dziedzerā audos ar un bez neoplāzijas**

Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzerā IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzerā SBN
Vimentīns				
Gadījumu skaits ar jebkuru vimentīna ekspresijas līmeni; %; 95% TI	20 27,0 18,2–38,1	10 13,9 7,7–23,7	6 42,9 21,4–67,4	0 0,0 0,0–20,4
Vidējais vimentīna pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	33,1 ± 33,1 17,6–48,6	5,2 ± 3,5 2,7–7,7	37,7 ± 28,2 8,1–67,3	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo vimentīna gadījumu skaits; %; 95% TI	12 16,2 9,5–26,2	1 1,4 0,3–7,5	5 35,7 16,3–61,2	0 0,0 0,0–20,4
COX-2				
Gadījumu skaits ar jebkuru COX-2 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	39 52,7 41,5–63,7	0 0,0 0,0–5,3	5 35,7 16,3–61,2	0 0,0 0,0–22,8
Vidējais COX-2 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	23,8 ± 18,8 17,7–29,9	0 ± 0 0,0–0,0	6,2 ± 5,5 0,0–13,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo COX-2 gadījumu skaits; %; 95% TI	33 44,6 33,8–55,9	0 0,0 0,0–5,3	1 7,1 1,3–31,5	0 0,0 0,0–22,8
BRCA1 (nukleāra ekspresija)				
Gadījumu skaits ar jebkuru BRCA1 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	0 0,0 0,0–4,8	1 1,5 0,3–8,0	0 0,0 0,0–20,4	0 0,0 0,0–20,4
Vidējais BRCA1 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	0 ± 0 0,0–0,0	NP	0 ± 0 0,0–0,0	0 ± 0 0,0–0,0
Pozitīvo BRCA1 gadījumu skaits; %; 95% TI	0 0,0 0,0–4,8	1 1,5 0,3–8,0	0 0,0 0,0–20,4	0 0,0 0,0–20,4

2.7. tabula (turpinājums)				
Parametrs	ADDA	Aizkuņģa dziedzerā IBM	AEA	Aizkuņģa dziedzerā SBN
BRCA1 (citoplazmatiska ekspresija)				
Gadījumu skaits ar jebkuru BRCA1 ekspresijas līmeni; %; 95% TI	4 5,3 2,1–12,8	1 1,5 0,3–8,0	2 13,3 3,7–37,9	4 26,7 10,9–52,0
Vidējais BRCA1 pozitīvo šūnu daudzums ± SD (%); 95% TI	10,8 ± 7,5 0,0–22,7	NP	17,5 ± 19,1 0,0–100	51,5 ± 13,3 30,3–72,7
Pozitīvo BRCA1 gadījumu skaits; %; 95% TI	2 2,6 0,7–9,1	1 1,5 0,3–8,0	1 6,7 1,2–29,8	4 26,7 10,9–52,0

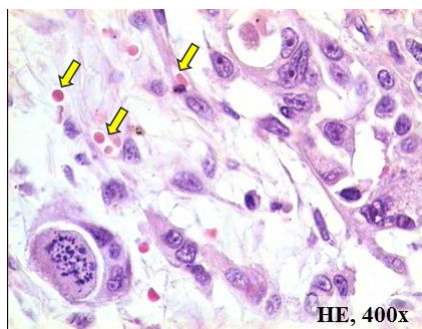
Saīsinājumi tabulā: COX-2, ciklooksigenāze 2; ADDA, aizkuņģa dziedzerā duktālā adenokarcinoma; IBM, izvadi bez malignizācijas; AEA, aizkuņģa dziedzerā endokrīns audzējs; SBN, saliņas bez neoplāzijas; TI, ticamības intervāls; SD, standarta novirze; IQR, starpkvartīļu intervāls; NP, nav pielietojams.



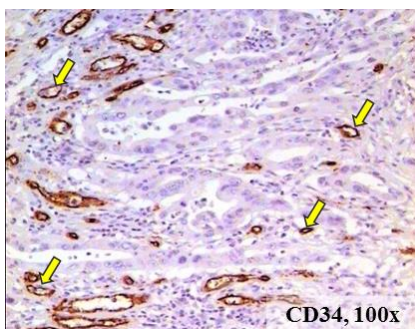
2.6. attēls. Neuroendokrīnās, mezenhimālās diferenciācijas un ar angiogēnēzi saistīto marķieru ekspresijas imūnhistokīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzerā duktālā adenokarcinomā (ADDA) un aizkuņģa dziedzerā endokrīnā audzējā (AEA). A, citoplazmatiska granulārā hromogranīna A ekspresija AEA audos; B un C, membranoza un citoplazmatiska CD56 ekspresija: B, ADDA audos; C, AEA audos; D un E, citoplazmatiska vimentīna ekspresija: D, ADDA audos; E, AEA audos; F, citoplazmatiska ciklooksigenāzes 2 (COX-2) ekspresija ADDA audos. Imūnperoksīdāze, A, anti-hromogranīns A; B–C, anti-CD56; D–E, anti-vimentīns; F, anti-COX-2. Attēla palielinājums 100x (C, E) un 400x (A, B, D, F).

Mikrovaskularizācijas blīvums (MVB) tika izvērtēts, pielietojot endotēlija imūnhistoķīmisko vizualizāciju ar CD34. ADDA audos mikrovaskularizācijas blīvuma (2.7. un 2.8. attēli) diapazons bija no 11 līdz 144 vaskulārām struktūrām vienā augsta palielinājuma redzes laukā. Vidējais MVB $\pm$ SD bija $48,7 \pm 22,1$ (95% TI = 43,4–53,9) un mediānā vērtība – 44,5 (IQR = 30) vaskulārās struktūras/ APRL.

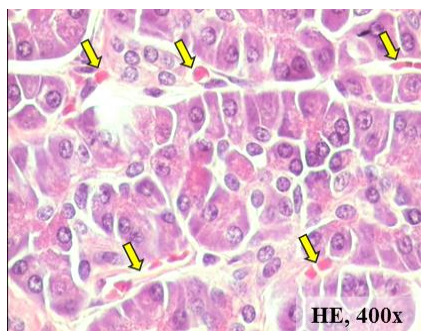
Normālai aizkuņģa dziedzera parenhīmai raksturīgi sekojoši mikrovaskularizācijas blīvuma (2.9. un 2.10. attēli) parametri: diapazons bija 14–163 vaskulāras struktūras/ APRL līdzīgi atradei ADDA audos. Tomēr vidējais MVB $\pm$ SD bija $82,3 \pm 0,9$ (95% TI = 77,2–87,4) un mediānā vērtība bija 81,0 (IQR = 29) vaskulārās struktūras/ APRL, sasniedzot nozīmīgi augstāku MVB nekā ADDA stromā.



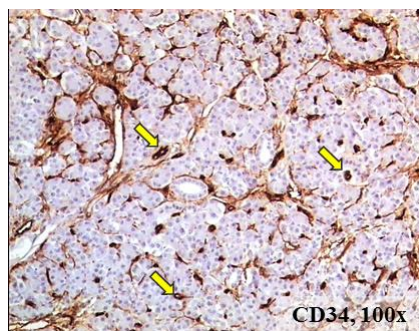
2.7. attēls. Asinsvadi (bultas) aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā. Hematoksilīns – eozīns (HE), attēla palielinājums 400x.



2.8. attēls. Asinsvadu (bultas) imūnhistoķīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā. Imūnperoksīdāze, anti-CD34, attēla palielinājums 100x.

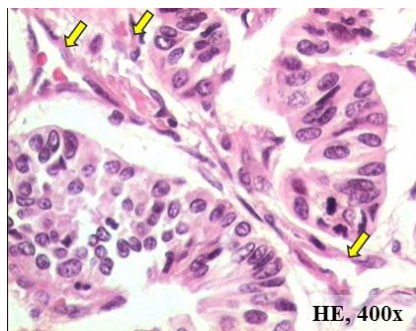


2.9. attēls. Asinsvadi (bultas) normālā aizkuņģa dziedzera parenhīmā.
Hematoksilīns – eozīns (HE), attēla palielinājums 400x.

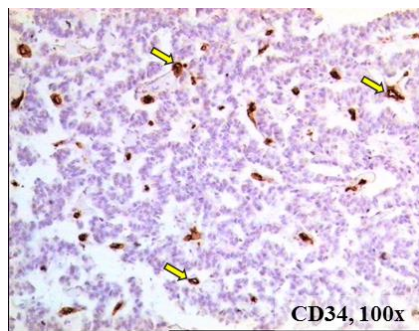


2.10. attēls. Asinsvadu (bultas) imūnhistokīmiskā vizualizācija normālā aizkuņģa dziedzera parenhīmā.
Imūnperoksidāze, anti-CD34, attēla palielinājums 100x.

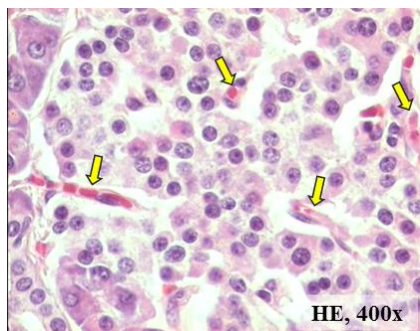
AEA audos konstatēts MVB robežās no 21 līdz 128 vaskulārām struktūrām/ APRL (2.11. un 2.12. attēli). Vidējais MVB $\pm$ SD bija $70,4 \pm 24,2$ (95% TI = 56,4–84,4) un mediānā vērtība – 75,5 (IQR = 43) vaskulārās struktūras/ APRL. Aizkuņģa dziedzera saliņās MVB diapazons bija no 28 līdz 168 vaskulārām struktūrām/ APRL. Vidējais MVB $\pm$ SD saliņās (2.13. un 2.14. attēli) bija $79,5 \pm 31,1$ (95% TI = 60,7–98,3) un mediānā vērtība bija 81,0 (IQR = 45) vaskulārās struktūras/ APRL.



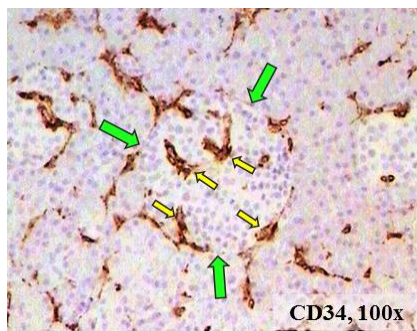
2.11. attēls. Asinsvadi (bultas) aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā.
Hematoksilīns – eozīns (HE), attēla palielinājums 400x.



2.12. attēls Asinsvadu (bultas) imūnhistokīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā.
Imūnperoksidāze, anti-CD34, attēla palielinājums 100x.



2.13. attēls. Asinsvadi (bultas) aizkuņģa dziedzerā saliņās bez neoplāzijas. Hematoksilīns – eozīns (HE), palielinājums 400x.

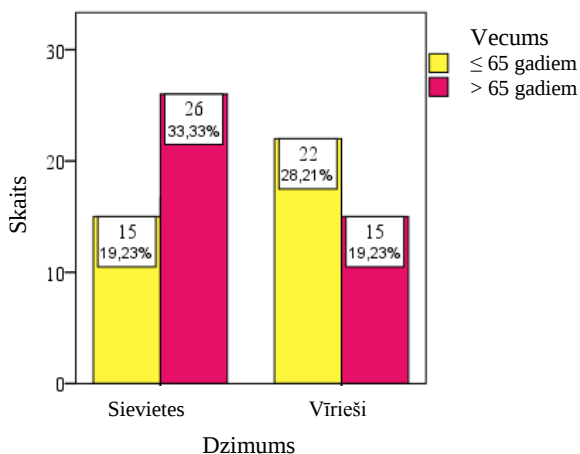


2.14. attēls. Asinsvadu (dzeltenas bultas) imūnhistoķīmiskā vizualizācija aizkuņģa dziedzerā saliņā (zaļās bultas) bez neoplāzijas. Imūnperoksīdāze, anti-CD34, palielinājums 100x.

2.4. Asociācijas starp klīniskiem, morfoloģiskiem un imūnhistoķīmiskiem parametriem

2.4.1. ADDA raksturojums

Izmantojot Manna-Vitnija U testu, konstatēta tendence atšķirties saslimušo vīriešu un sieviešu vecumam ($z = -1,913$; $p = 0,056$). Statistiski nozīmīga asociācija tika atklāta starp dzimumu un pacientu vecumu ≤ 65 vai > 65 gadiem (2.15. attēls), izmantojot Pīrsona Hī-kvadrāta testu ($\chi^2 = 4,081$; $p = 0,043$). Tas norāda, ka sieviešu grupā vēzis attīstās vēlāk (> 65 gadiem), bet vairāk vīriešu ir grupā ≤ 65 gadiem. Tā kā nepastāv asociācija starp dzimumu un audzēja izmēru ($z = -0,435$; $p = 0,663$) vai stadiju ($\chi^2 = 4,373$; $p = 0,358$), vecuma atšķirība nav saistīta ar novēlotu diagnostiku sievietēm.



2.15. attēls. Sieviešu un vīriešu attiecība starp vecuma grupām ≤65 un >65 gadiem

Audzējiem, kas ir lielāki par 2 cm, raksturīga tendence uz biežāku pN1 atradi ($\chi^2 = 3,564$; $p = 0,059$) un pārliecinoša asociācija ar biežāku pR1 ($\chi^2 = 9,421$; $p = 0,002$) atradi.

pN1 atrade bija biežāka gadījumos, kuros bija lielāks izmeklēto limfas mezglu skaits ($z = -2,460$; $p = 0,014$) ar vāju ietekmi pēc ROC līknes analīzes ($AUC = 0,674$; 95% TI = 0,542–0,805; $p = 0,014$). Statistiski ticama saistība tika atrasta starp biežāku pN1 atradi un zemāku audzēja diferenciācijas pakāpi ($\chi^2 = 7,090$; $p = 0,029$), audzēja invāziju mazajos asinsvados ($\chi^2 = 12,737$; $p < 0,001$), intravaskulāru audzēja invāziju ($\chi^2 = 7,399$; $p = 0,007$), perineirālu invāziju ($\chi^2 = 3,973$; $p = 0,046$) un audzēja invāziju limfas vados ($\chi^2 = 4,919$; $p = 0,027$).

Attālo metastāžu klātbūtne saistījās ar audzēja invāziju lielajos asinsvados ($\chi^2 = 15,282$; $p < 0,001$), intravaskulāru ($\chi^2 = 4,992$; $p = 0,025$) un intraneirālu invāziju ($\chi^2 = 5,571$; $p = 0,018$).

Augstāka audzēja stadija bija saistīta ar biežāku invāziju lielajos ($\chi^2 = 28,046$; $p < 0,001$) un mazajos asinsvados ($\chi^2 = 11,850$; $p = 0,019$), kā arī ar intravaskulāru ($\chi^2 = 13,041$; $p = 0,011$) un perineirālu invāziju ($\chi^2 = 9,550$; $p = 0,049$). Padziļināti analizējot IIA un IIB audzēja stadijas, atklātas audzēja diferenciācijas pakāpju atšķirības starp šīm stadijām ($\chi^2 = 6,022$; $p = 0,049$), t.i., zemāka diferenciācijas pakāpe bija IIB stadijas audzējiem.

Rezekcijas līniju stāvoklis (pR1) pārliecinoši asociējās ar biežāku audzēja perineirālu invāziju ($\chi^2 = 13,908$; $p < 0,001$); konstatēta arī tendence uz asociāciju ar intraneirālu invāziju ($\chi^2 = 3,589$; $p = 0,058$).

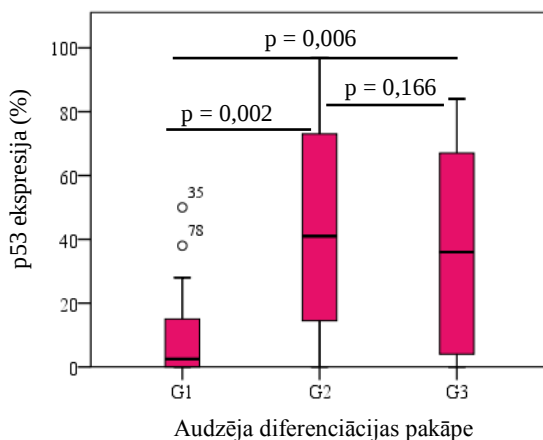
Zemāka audzēja diferenciācijas pakāpe bija saistīta ar invāziju mazajos asinsvados ($\chi^2 = 8,432$; $p = 0,015$), intravaskulāru ($\chi^2 = 10,266$; $p = 0,006$) un perineirālu invāziju ($\chi^2 = 8,021$; $p = 0,018$).

Imūnhistoķīmiski izvērtētā proliferācijas frakcija (nosakot Ki-67), p53 proteīns, šūnas cikla regulējošie marķieri p21, p27 un ciklīns D1, šūnas adhēzijas proteīni E-kadherīns un CD44, kā arī citokeratīnu spektrs, skvamozas, intestinālas, mezenhimālas un neuroendokrīnas diferenciācijas marķieri un citi pētāmie proteīni atklāja noteiktas korelācijas ar klīniskiem un morfoloģiskiem parametriem, kā arī imūnhistoķīmisko marķieru savstarpējas asociācijas.

Izmantojot Manna-Vitnija U testu, augstāka proliferācijas frakcija atklāta ADDA audos ar biežāku perineirālu invāziju ($z = -1,974$; $p = 0,004$); ietekme vērtējama kā vidējas pakāpes (AUC = 0,704; 95% TI = 0,550–0,857; $p = 0,049$). Vāja, pozitīva korelācija konstatēta starp Ki-67 ekspresiju un metastāžu skaitu LM ($r_s = 0,322$; $p = 0,023$).

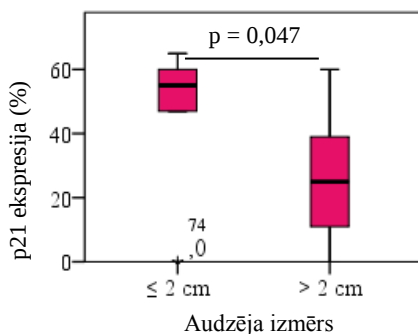
Audzējiem ar zemāku p53 ekspresiju tika novērota biežāka invāzija lielajos asinsvados ($z = -2,020$; $p = 0,043$) ar vidēji stipru ietekmi (AUC = 0,748; 95% TI = 0,558–0,937; $p = 0,045$). Nozīmīgi augstāka p53 ekspresija konstatēta audzējos ar perineirālu invāziju ($z = -2,021$; $p = 0,043$) pēc Manna-Vitnija U testa; parametra ietekme pēc ROC līknes analīzes vērtējama kā vidēja (AUC = 0,707; 95% TI = 0,583–0,830; $p = 0,045$).

Izmantojot Manna-Vitnija U testu, augstāka p53 ekspresija konstatēta zemāk diferencētos audzējos ($\chi^2 = 8,673$; $p = 0,013$). Lai precizētu p53 ekspresijas atšķirības starp audzējiem ar dažādām diferenciācijas pakāpēm, tika izmantota *post-hoc* analīze ar Bonferroni modifikāciju (2.16. attēls).



2.16. attēls. Proteīna p53 ekspresijas (%) vidējo rangu atšķirības starp dažādām audzēja diferenciācijas pakāpēm aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā
 Saīsinājumi attēlā: G1, augstu diferencēta adenokarcinoma; G2, vidēji diferencēta adenokarcinoma; G3 zemu diferencēta adenokarcinoma

Audzējiem ar zemāku p21 ekspresiju biežāk konstatēts lielāks izmērs, kas pārsniedz 2 cm ($z = -1,982$; $p = 0,047$) ar vidēju parametra ietekmi ($AUC = 0,770$; 95% TI = $0,437-1,000$; $p = 0,048$), kā attēlots 2.17. attēlā.



2.17. attēlā. Proteīna p21 ekspresijas (%) vidējo rangu atšķirība starp aizkuņģa dziedzera duktālām adenokarcinomām ar izmēru ≤2cm versus >2cm

Netika atrastas nozīmīgas korelācijas starp p27 ekspresiju un klīniskiem vai morfoloģiskiem parametriem.

Audzējos ar zemāku ciklīna D1 ekspresiju raksturīga biežāka invāzija lielajos asinsvados ($z = -1,982$; $p = 0,047$). Parametra ietekme ir vidēji stipra ($AUC = 0,745$; 95% TI = 0,617–0,873; $p = 0,048$).

CD44 ekspresijas vidējie rangi bija augstāki pN1 audzējos nekā pN0 gadījumos ($z = -2,577$; $p = 0,010$) ar vidēji stipru ietekmi ($AUC = 0,689$; 95% TI = 0,557–0,821; $p = 0,010$) un audzējos ar perineirālu invāziju salīdzinoši ar gadījumiem, kur tā iztrūkst ($z = -2,781$; $p = 0,005$). Vāja, pozitīva korelācija tika atrasta starp CD44 un audzēja diferenciācijas pakāpi ($r_s = 0,266$; $p = 0,023$). Attiecībā uz savstarpējām imūnhistoķīmisko marķieru korelācijām, CD44 piemita tendence uz negatīvu korelāciju ar mikrovaskularizācijas blīvumu ($r_s = -0,234$; $p = 0,054$), kā arī pozitīvu korelāciju ar Ki-67 ($r_s = 0,281$; $p = 0,016$).

Citokeratīnu spektra analīze ietvēra CK 7, CK 19, CK 20, CK 5/6 un CK 34βE12 izvērtējumu, integrējot to ar skvamozas un intestinālas diferenciācijas analīzi, kam izmantota attiecīgi p63 un CDX2 ekspresija. Konstatētas sekojošas asociācijas ar klīniskiem un morfoloģiskiem parametriem, kā arī ar citiem imūnhistoķīmiskiem marķieriem.

CK 19 ekspresija neatklāja saistības ar klīniskiem un morfoloģiskiem parametriem, bet korelēja ar CK 34βE12 ($r_s = 0,429$; $p < 0,001$), p21 ($r_s = 0,316$; $p = 0,007$), p27 ($r_s = 0,271$; $p = 0,020$) un CK 7 ($r_s = 0,413$; $p < 0,001$) ekspresiju.

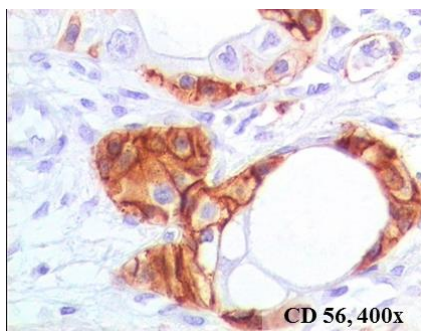
CK 34βE12 ekspresijas vidējie rangi bija augstāki audzējos, kuros konstatēta intravaskulāra invāzija ($z = -2,062$; $p = 0,039$) ar vāju parametra ietekmi ($AUC = 0,642$; 95% TI = 0,515–0,769; $p = 0,039$), perineirāla augšana ($z = -2,234$; $p = 0,025$) ar vidēji stipru parametra ietekmi ($AUC = 0,731$; 95% TI = 0,566–0,895; $p = 0,026$) un intraneirāla invāzija ($z = -2,269$; $p = 0,023$) ar vāju ietekmi ($AUC = 0,659$; 95% TI = 0,525–0,792; $p = 0,023$).

CK 5/6 ekspresijas vidējo rangu atšķirība tika atrasta starp audzēja grupām ar/ bez intraneirālas invāzijas ($z = -1,975$; $p = 0,048$), bet bez nozīmīgas ietekmes pēc ROC līknes analīzes ($p = 0,265$).

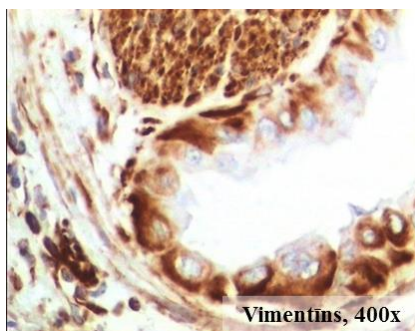
Gan hromogranīna A, gan CD56 ekspresijai (2.18. attēls) bija vidēji stipra korelācija ar mikrovaskularizācijas blīvumu: $r_s = 0,490$; $p = 0,033$ un $r_s = 0,522$; $p = 0,022$, attiecīgi. Abi endokrīnie marķieri arī stipri korelēja savā starpā ($r_s = 0,985$; $p < 0,001$). Hromogranīnam A konstatēta negatīva korelācija ar audzēja stadiju ($r_s = -0,445$; $p = 0,049$). Gan hromogranīns A, gan CD56 negatīvi korelēja ar CK 7 ($r_s = -0,507$; $p = 0,022$ un $r_s = -0,483$; $p = 0,031$).

Pacientiem ar attālām metastāzēm konstatēti ievērojami augstāki vimentīna ekspresijas (2.19. attēls) vidējie rangi nekā pM0 gadījumos ($z = -2,538$; $p = 0,011$), pie tam parametra ietekme bija ļoti izteikta ($AUC = 0,915$; 95% TI = 0,832–0,999; $p = 0,046$).

COX-2 ekspresijas vidējie rangi audzējā bija augstāki pN1 nekā pN0 gadījumos ($z = -2,073$; $p = 0,038$) ar vāju ietekmi ($AUC = 0,644$; 95% TI = 0,512–0,776; $p = 0,049$). Visiem trijiem pacientiem ar attālām metastāzēm konstatēta COX-2 ekspresija ar pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu 11,0–25,0%. Atklāta tendence uz COX-2 ekspresijas vidējo rangu atšķirību starp audzējiem ar dažādu diferenciacijas pakāpi ($\chi^2 = 5,805$; $p = 0,055$).



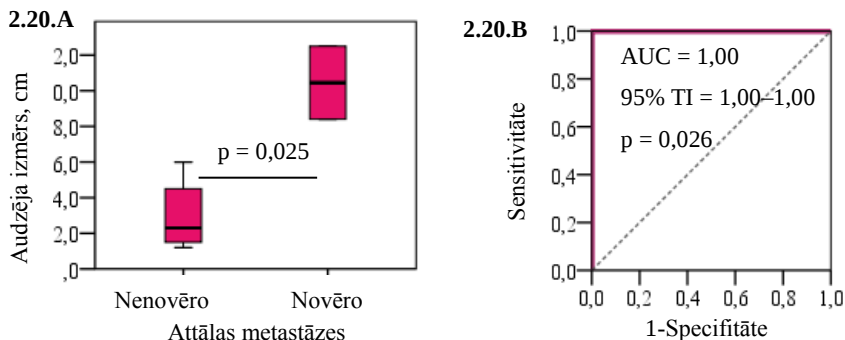
2.18. attēls. Membranoza un citoplazmatiska CD56 ekspresija aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā. Imūnperoksidāze, anti-CD56, palielinājums 400x.



2.19. attēls. Citoplazmatiska vimentīna ekspresija aizkuņģa dziedzera duktālā adenokarcinomā. Imūnperoksidāze, anti-vimentīns, palielinājums 400x.

2.4.2. AEA raksturojums

Audzēja izmēra vidējie rangi bija augstāki gadījumos ar audzēja invāziju asinsvados ($z = -2,006$; $p = 0,045$) ar vidēji stipru ietekmi ($AUC = 0,79$; 95% TI = 0,55–1,00; $p = 0,046$). Tika atrasta arī asociācija starp audzējiem ar izmēru ≤ 2 un > 2 cm un starp gadījumiem ar un bez audzēja invāzijas asinsvados ($\chi^2 = 6,349$; $p = 0,012$). Audzēja izmēra vidējie rangi bija augstāki pacientiem ar attālām metastāzēm nekā pM0 grupā ($z = -2,234$; $p = 0,025$) ar ļoti izteiktu ietekmi ($AUC = 1,00$; 95% TI = 1,00–1,00; $p = 0,026$), kā parādīts 2.20. attēlā.



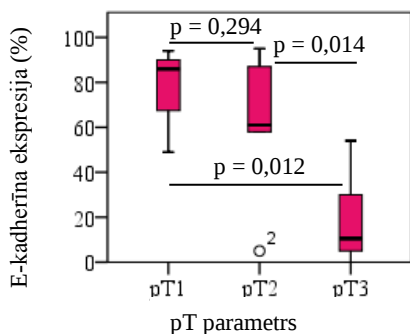
2.20. attēls. Aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju izmēru vidējo rangu atšķirības starp gadījumiem ar un bez attālām audzēja metastāzēm. 2.20.A, parametra sadalījums un izkliede ar p vērtību; 2.20.B, ROC liknes analīze
Saīsinājumi attēlā: TI, ticamības intervāls

pT parametra analīze atklāja asociāciju ar audzēja diferenciācijas pakāpi ($\chi^2 = 18,667$; $p = 0,005$) un invāziju asinsvados ($\chi^2 = 10,667$; $p = 0,005$). Savukārt audzēja invāzija asinsvados (nenovēro/ novēro) bija saistīta ar audzēja diferenciācijas pakāpi ($\chi^2 = 9,778$; $p = 0,021$).

Imūnhistoķīmiskā profila izvērtēšana klīniskā un morfoloģiskā kontekstā tika veikta, analizējot IHĶ marķieru ekspresijas vidējo rangu atšķirību starp klīniskiem un morfoloģiskiem parametriem, kā arī korelācijas starp tiem un IHĶ marķieru pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu.

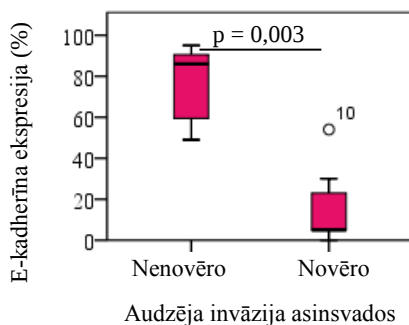
Ki-67 ekspresijas vidējie rangi atklāja tendenci uz atšķirību starp audzējiem ar/ bez attālām metastāzēm ($z = -1,922$; $p = 0,055$). Vidēji stipra korelācija tika konstatēta starp Ki-67 ekspresiju un audzēja izmēru ($r_s = 0,584$; $p = 0,022$), kā arī diferenciācijas pakāpi ($r_s = 0,588$; $p = 0,021$). Tika atklāta stipra asociācija ar audzēja stadiju ($r_s = 0,688$; $p = 0,028$) un mitotisko aktivitāti ($r_s = 0,660$; $p = 0,007$).

E-kadherīna ekspresijas (2.23. attēls) vidējie rangi bija atšķirīgi atkarībā no pT parametra ($\chi^2 = 6,128$; $p = 0,047$) un intravaskulāras invāzijas ($z = -3,016$; $p = 0,003$) ar ļoti izteiktu parametra ietekmi (AUC = 0,980; 95% TI = 0,917–1,000; $p = 0,003$), kā parādīts 2.21. un 2.22. attēlos.

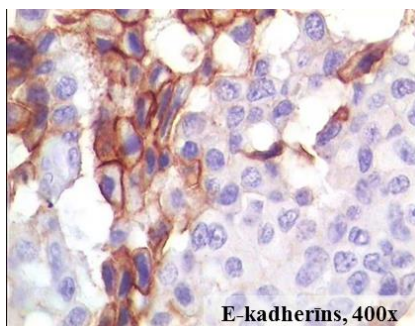


2.21. attēls. E-kadherīna ekspresijas (%) vidējo rangu atšķirība starp pT parametriem aizkuņģa dziedzera endokrīnos audzējos

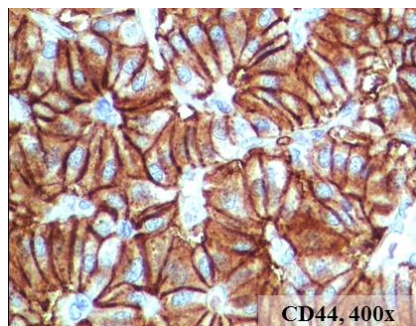
Saīsinājumi attēlos: pT1, audzējs atrodas aizkuņģa dziedzera robežās un audzēja lielākais diametrs nepārsniedz 2 cm; pT2, audzējs atrodas aizkuņģa dziedzera robežās, audzēja lielākais diametrs ir lielāks par 2 cm; pT3, audzējs izplatījies ārpus aizkuņģa dziedzera robežām, bet bez invāzijas *truncus coeliacus* vai augšējā apzarņa artērijā.



2.22. attēls. E-kadherīna ekspresijas (%) vidējo rangu atšķirība starp aizkuņģa dziedzera endokrīniem audzējiem bez vai ar audzēja invāziju asinsvados



2.23. attēls. Membranoza E-kadherīna ekspresija aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā. Imūnperoksidāze, anti-E-kadherīns, attēla palielinājums 400x.



2.24. attēls. Membranoza CD44 ekspresija aizkuņģa dziedzera endokrīnā audzējā. Imūnperoksidāze, anti-CD44, attēla palielinājums 400x.

Attiecībā uz E-kadherīna ekspresiju, atšķirība tika atrasta starp audzējiem ar/ bez perineirālas invāzijas ($z = -3,016$; $p = 0,003$). E-kadherīna ekspresija korelēja arī ar audzēja pT parametru ($r_s = -0,655$; $p = 0,011$) un

diferenciācijas pakāpi ($r_s = -0,680$; $p = 0,007$). Starp IHĶ marķieriem, E-kadherīns uzrādīja stipru, pozitīvu korelāciju ar mikrovaskularizācijas blīvumu ($r_s = 0,701$; $p = 0,005$). Attiecībā uz CD44 ekspresiju (2.24. attēls), konstatēta tendence uz negatīvu korelāciju ar proliferācijas aktivitāti ($r_s = -0,531$; $p = 0,051$).

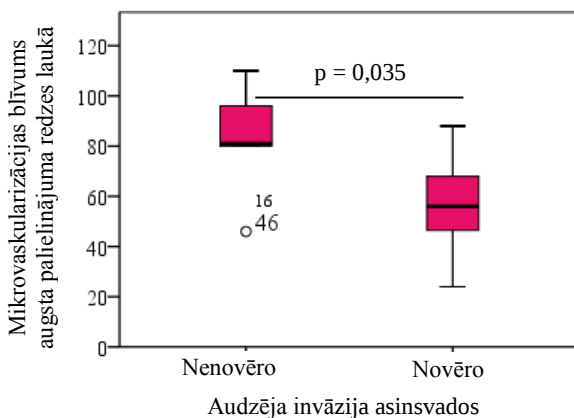
Attiecībā uz citokeratīnu spektru un skvamozas un intestinālas diferenciācijas marķieriem, no kopsakarību analīzes tika izslēgti pilnīgi negatīvie marķieri. Līdz ar to saistībā ar klīniskiem un morfoloģiskiem datiem, kā arī pilnu imūnhistoķīmisko profilu izvērtēti CK 7, CK 19 un p63.

Statistiski nozīmīga CK 19 ekspresijas vidējo rangu atšķirība tika konstatēta atkarībā no audzēja pT parametriem ($\chi^2 = 8,068$; $p = 0,018$) ar nozīmīgu atšķirību starp pT1 un pT3 ($p = 0,022$), kā arī starp pT2 un pT3 ($p = 0,004$). Augstāka CK 19 ekspresija tika novērota pT3 audzējos. CK 19 ekspresija bija arī augstāka audzējos, kuros konstatēta invāzija asinsvados ($z = -2,335$; $p = 0,020$) ar stipru parametra ietekmi (AUC = 0,837; 95% TI = 0,604–1,000; $p = 0,035$); perineirāla invāzija ($z = -2,224$; $p = 0,026$) ar ļoti izteiktu parametra ietekmi (AUC = 0,958; 95% TI = 0,847–1,000; $p = 0,045$); kuru izmērs pārsniedz 2 cm ($z = -1,930$; $p = 0,054$) un diferenciācijas pakāpe ir zemāka ($\chi^2 = 7,803$; $p = 0,050$). Tika atrasta arī atšķirība starp AEA ar/ bez audzēja invāzijas limfas vados ($z = -2,022$; $p = 0,043$), bet bez nozīmīgas ietekmes pēc ROC līknes analīzes ($p = 0,068$).

Izmantojot Spīrmana korelācijas analīzi, CK 19 ekspresija korelēja ar audzēja pT parametru ($r_s = 0,654$; $p = 0,011$), stadiju ($r_s = 0,730$; $p = 0,025$) un diferenciācijas pakāpi ($r_s = 0,744$; $p = 0,002$), kā arī ar mitotisko aktivitāti ($r_s = 0,675$; $p = 0,008$). CK 19 ekspresijai bija arī tendence uz korelāciju ar audzēja izmēru ($r_s = 0,528$; $p = 0,052$). Starp IHĶ marķieriem, CK 19 ekspresija korelēja ar Ki-67 ($r_s = 0,572$; $p = 0,033$), CK 7 ($r_s = 0,607$; $p = 0,021$) un vimentīna ekspresiju ($r_s = 0,551$; $p = 0,041$). Tika konstatēta negatīva korelācija ar mikrovaskularizācijas blīvumu ($r_s = -0,639$; $p = 0,014$).

Vimentīna ekspresijai piemita tendence uz korelāciju ar audzēja izmēru ($r_s = 0,531$; $p = 0,051$), bet tā korelēja ar proliferācijas frakciju ($r_s = 0,543$; $p = 0,045$) un CK 19 ekspresiju ($r_s = 0,551$; $p = 0,041$).

Audzējiem, kuros konstatēta intravaskulāra invāzija, bija raksturīgi arī zemāki mikrovaskularizācijas blīvuma vidējie rangi ($z = -2,113$; $p = 0,035$) ar stipru ietekmi (AUC = 0,837; 95% TI = 0,610–1,000; $p = 0,035$), kā attēlots 2.25. attēlā.



2.25. attēls. Mikrovaskularizācijas blīvuma atšķirība (pēc vidējā ranga) attiecībā uz aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju invāziju asinsvados

Mikrovaskularizācijas blīvums korelē ar mitotisko aktivitāti ($r_s = -0,697$; $p = 0,006$), kā arī ar p53 ($r_s = 0,705$; $p = 0,005$), ciklīna D1 ($r_s = 0,578$; $p = 0,049$), E-kadherīna ($r_s = 0,701$; $p = 0,005$), un p63 ekspresiju ($r_s = 0,688$; $p = 0,007$). Tika konstatēta negatīva korelācija ar CK 19 ($r_s = -0,639$; $p = 0,014$).

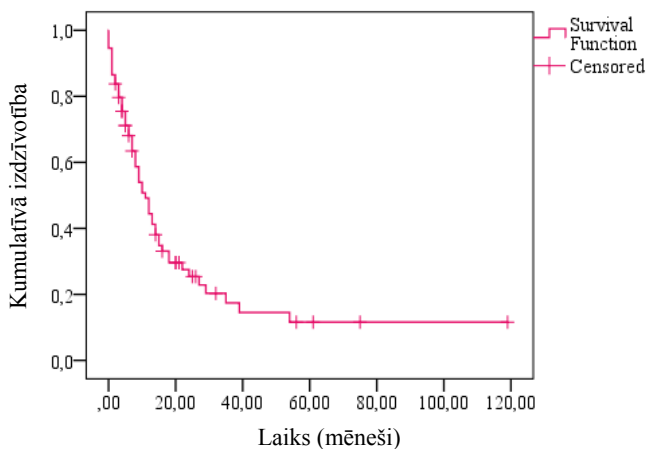
COX-2 ekspresijas vidējie rangi bija augstāki AEA ar perineirālu invāziju ($z = -2,557$; $p = 0,011$); šai gadījumā parametra ietekme bija ļoti izteikta (AUC = 1,000; 95% TI = 1,000–1,000; $p = 0,028$). COX-2 ekspresija bija arī augstāka AEA ar invāziju limfas vados ($z = -2,024$; $p = 0,043$), bet bez nozīmīgas ietekmes ($p = 0,083$), veicot ROC līknes analīzi.

2.5. Izdzīvotība

2.5.1. ADDA pacientu raksturojums

Izdzīvotības funkcijas analīze tika veikta 74 pacientiem. Četriem pacientiem neizdevās izsekot līdzī visu pētījuma periodā. Starp izsekotajiem pacientiem, 54/ 74 (73,0%; 95% TI = 61,9–81,8) nomira pētījuma laikā, bet 20/ 74 (27,0%; 95% TI = 18,2–38,1) pacienti bija dzīvi. Mediānais izdzīvotības laiks bija 11,0 (95% TI = 7,6–14,4) mēneši. Atbilstošā Kaplāna-Meijera līkne redzama 2.26. attēlā.

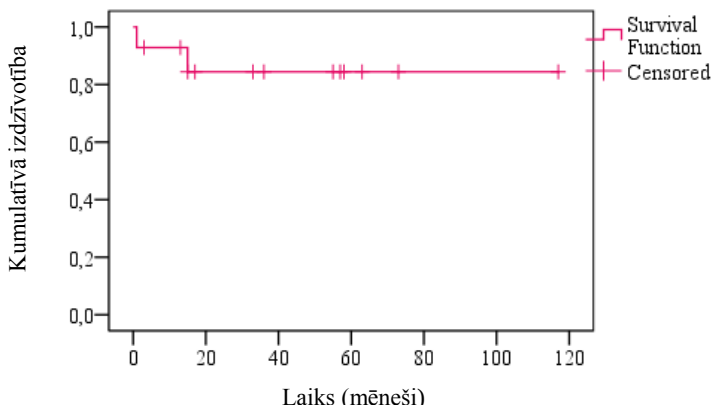
Pirmā mēneša laikā pēc operācijas nomira 4/ 74 (5,4%; 95% TI = 2,1–13,1) pacienti, bet 70/ 74 (94,6%; TI = 86,9–97,9) pacienti izdzīvoja.



2.26. attēls. Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas pacientu Kaplāna-Meijera kumulatīvās izdzīvotības līkne

2.5.2. AEA pacientu raksturojums

Izdzīvotības funkcijas analīze tika veikta 14 AEA pacientiem. Izsekošanas laikā, 2/ 14 (14,3%; 95% TI = 4,0–39,9) pacienti nomira. Šie cilvēki nodzīvoja attiecīgi 1 un 15 pilnus mēnešus pēc operācijas. Mediāno izdzīvotības laiku nebija iespējams noteikt nevēlamo iznākumu retās sastopamības dēļ. Atbilstošā Kaplāna-Meijera līkne redzama 2.27. attēlā.



2.27. attēls. Kaplāna-Meijera kumulatīvās izdzīvotības līkne pacientiem ar aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju

2.6. Asociācijas starp izdzīvotības laiku un klīniskiem un morfoloģiskiem prognostiskiem parametriem

2.6.1. ADDA prognostiskais raksturojums

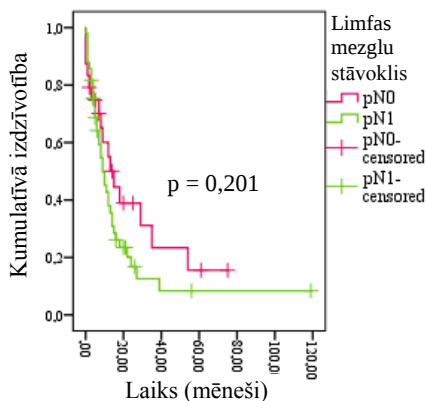
Tendence uz atšķirīgu kopējo izdzīvotības laiku tika atrasta starp audzējiem ar dažādām diferenciācijas pakāpēm (*log-rank*, $p = 0,050$). Mediānais pacientu izdzīvotības laiks G1 audzēju gadījumos bija 18,0 (95% TI = 8,1–28,0) mēneši, G2 – 13,0 (95% TI = 9,0–17,0) mēneši, bet G3 – tikai 6,0 (95% TI = 2,2–9,8) mēneši.

Izdzīvotības laika analīzes rezultāti atklāja statistiski nozīmīgu atšķirību attiecībā uz audzēja invāziju lielajos asinsvados (*log-rank*, $p = 0,013$). Mediānais izdzīvotības laiks bija 12,0 (95% TI = 7,8–16,2) mēneši pacientiem bez audzēja invāzijas lielajos asinsvados, turpretim tikai 3,0 (95% TI = 0,7–5,3) mēneši pacientiem, kuriem tika konstatēta audzēja invāziju lielajos asinsvados. Jāuzsver, ka pastāv pārliecinoša asociācija ($\chi^2 = 15,282$; $p < 0,001$) starp audzēja invāziju lielajos asinsvados un attālu metastāžu attīstību. Visi trīs pacienti, kuriem bija attālas metastāzes, nodzīvoja 1, 3 un 22 mēnešus.

Statistiski nozīmīga mediānās izdzīvotības laika atšķirība tika konstatēta atkarībā no nekrozes klātbūtnes audzējā (*log-rank*, $p = 0,001$). Mediānais izdzīvotības laiks bija 13,0 (95% TI = 9,3–16,8) mēneši pacientiem, kuru audzējos nekonstatēja nekrozi, pretstatā 4,0 (95% TI = 1,4–6,6) mēnešiem pacientiem ar audzēja nekrozi.

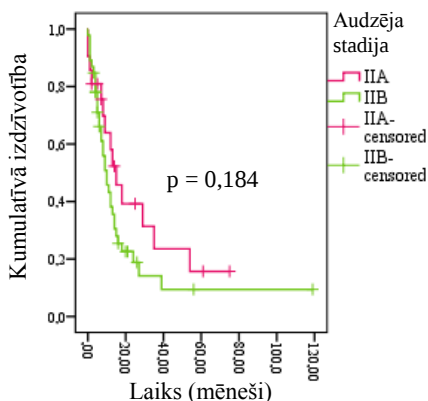
Dažu morfoloģisku parametru gadījumā neatklājās statistiski nozīmīga izdzīvotības atšķirība, bet, veicot Kaplāna-Meijera kumulatīvās izdzīvotības līknes analīzi, ir izteikta vizuāla tendence uz atšķirīgiem līknes kritumiem. Šāda atrade tika konstatēta sekojošām morfoloģiskām pazīmēm: limfas mezglu stāvoklis pN0 *versus* pN1 (*log-rank*, $p = 0,201$) un audzēja stadija IIA *versus* IIB (*log-rank*, $p = 0,184$). Atbilstošās Kaplāna-Meijera līknes redzamas 2.28. un 2.29. attēlos.

Attiecībā uz rezekcijas līniju stāvokli, mediānais izdzīvotības laiks bija 14,0 (95% TI = 8,9–19,1) mēneši pacientiem ar negatīvām RL un 10,0 (95% TI = 6,8–13,2) mēneši pacientiem ar pozitīvām RL. Analoga tendence iezīmējās ADDA pacientiem ar un bez audzēja perineirālas invāzijas (*log-rank*, $p = 0,088$). Kaplāna-Meijera līknes redzamas 2.30. un 2.31. attēlos.



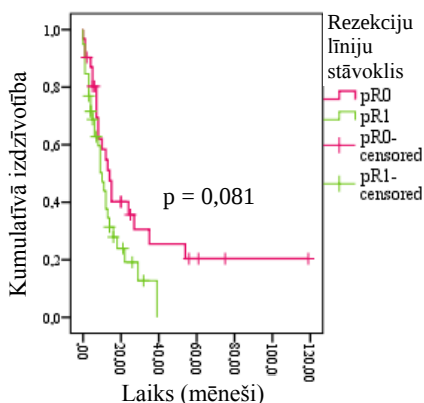
2.28. attēls. Kaplāna-Meijera līkne attiecībā uz limfas mezglu stāvokli aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomās

Saīsinājumi attēlā: pN0, reģionālajos limfas mezglos metastāžu nav; pN1, vismaz 1 no reģionālajiem limfas mezgliem ir metastāzes.



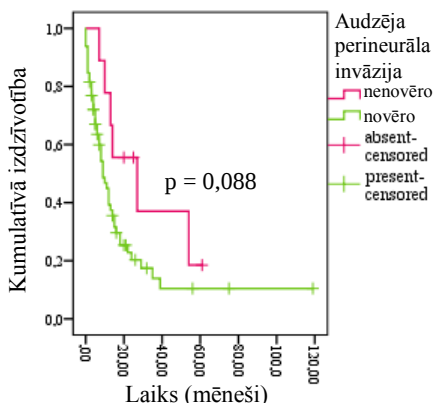
2.29. attēls. Kaplāna-Meijera līkne attiecībā uz audzēja stadijām IIA un IIB aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomās

Saīsinājumi attēlā: IIA, pT3N0M0; IIB, pT1-3N1M0.



2.30. attēls. Kaplāna-Meijera līkne attiecībā uz rezekcijas līniju stāvokli aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomās

Saīsinājumi attēlos: pR0, rezekcijas līnijas brīvas no audzēja; pR1, pozitīva rezekcijas līnija – audzēja šūnas atrodas rezekcijas līnijā.



2.31. attēls. Kaplāna-Meijera līkne attiecībā uz audzēja perineirālu invāziju aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomās

Parametri, kas nesaistās ar statistiski nozīmīgu mediānās izdzīvotības laika atšķirību, ir sekojoši: pacienta dzimums ($p = 0,151$), vecums $\leq 65 / > 65$ gadiem ($p = 0,424$), operācijas veids ($p = 0,603$), audzēja lokalizācija ($p = 0,075$), audzēja izmērs $\leq 2 / > 2$ cm ($p = 0,226$); invāzija mazajos asinsvados ($p = 0,628$); intravaskulāra invāzija ($p = 0,127$); intraneirāla invāzija ($p = 0,072$) un invāzija limfas vados ($p = 0,553$).

2.6.2. AEA prognostiskais raksturojums

AEA gadījumos netika atrastas mediānās izdzīvotības laika atšķirības, analizējot sekojošus klīniskus un morfoloģiskus parametrus: pacienta dzimums ($p = 0,284$); vecums $\leq 65 / > 65$ gadiem ($p = 0,431$); audzēja lokalizācija ($p = 0,640$); audzēja izmērs $\leq 2 / > 2$ cm ($p = 0,208$); pT parametrs ($p = 0,216$); pN0/ pN1 ($p = 0,486$); pM0/ pM1 ($p = 0,606$); audzēja stadija ($p = 0,080$); pR0/ pR1 ($p = 0,520$); audzēja diferenciācijas pakāpe ($p = 0,314$); invāzija asinsvados ($p = 0,138$); perineirāla invāzija ($p = 0,195$) un invāzija limfas vados ($p = 0,389$). Abi pacienti ar attālām metastāzēm tika novēroti 13 un 15 mēnešus ilgi, un abi pacienti pētījuma noslēgumā bija dzīvi.

2.7. Asociācijas starp izdzīvotības laiku un imūnhistokīmiskiem parametriem

2.7.1. Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas prognostiskais imūnhistokīmiskais profils

Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas pacientu grupā statistiski nozīmīga mediānā izdzīvotības laika atšķirība konstatēta saistībā ar vimentīna ekspresiju audzējā ($\log$ -rank, $p = 0,002$): mediānais izdzīvotības laiks bija 14,0 (95% TI = 10,7–17,3) mēneši pacientiem, kuriem netika novērota vimentīna ekspresija audzējā, turpretim pacientiem ar vimentīna ekspresiju audzējā mediānais izdzīvotības laiks bija 4,0 (95% TI = 1,7–6,3) mēneši.

Statistiski nozīmīga mediānās izdzīvotības laika atšķirība tika konstatēta attiecībā uz CD44 ekspresiju ($\log$ -rank, $p = 0,018$). Mediānais izdzīvotības laiks bija 15,0 (95% TI = 9,6–20,4) mēneši pacientiem, kuru audzējā nekonstatēja CD44 ekspresiju, bet tikai 8,0 (95% TI = 6,0–10,0) mēneši pacientiem, kuru audzējs ekspresēja CD44.

Starp šūnas cikla regulētājpoteīniem, statistiski nozīmīga mediānās izdzīvotības laika atšķirība tika atrasta starp pacientiem ar pozitīvu vai negatīvu

p27 ekspresiju audzējā (*log-rank*, $p = 0,003$). Mediānais izdzīvotības laiks bija 3,0 (95% TI = 1,9–4,1) mēneši pacientiem bez p27 ekspresijas audzējā. Turpretim pacientiem ar p27 pozitīvu ekspresiju audzējā mediānais izdzīvotības laiks bija 12,0 (95% TI = 7,9–16,1) mēneši.

Statistiski nozīmīga mediānās izdzīvotības laika atšķirība netika atrasta starp grupām ar negatīvu un pozitīvu Ki-67 ekspresiju, nosakot robežvērtību 10% ($p = 0,350$).

Morfoloģiskie un imūnhistoķīmiskie parametri, kuri monofaktoriālā analīzē bija statistiski ticami saistīti ar mediāno izdzīvotības laiku, tika pakļauti multifaktoriālai analīzei, izmantojot Koksas proporcionālo draudu regresiju. Tika konstatēti dažādi faktoru modeļi, kuri saistīti ar īsāka izdzīvotības laika risku. Modeļos tika iekļauti sekojoši faktori: audzēja invāzija lielajos asinsvados, audzēja nekroze, pozitīva vimentīna un CD44 ekspresija un negatīva p27 ekspresija. Izdzīvotības modeļi ar draudu attiecību (*Hazard ratio*) ir attēloti 2.8. tabulā. Koksas proporcionālo draudu regresija netika ietekmēta ($p > 0,05$), ja izmantoja modeļus, kas iekļāva pozitīvas/ negatīvas rezekcijas līnijas un audzēja stadijas, t.sk. arī atsevišķi izveidojot modeli IIA un IIB stadijas analīzei.

Kopumā multifaktoriālā analīze apstiprināja audzēja invāziju lielajos asinsvados, kā arī vimentīna, p27 un CD44 ekspresiju kā izdzīvotības laiku ietekmējošus neatkarīgus faktorus.

2.8. tabula

**Morfoloģisku un imūnhistoķīmisku faktoru saistība ar izdzīvotību
aizkuņģa dziedzera duktālu adenokarcinomu grupā pēc Koksas
proportcionālo draudu regresijas analīzes**

Modeļa Nr.	Parametrs	Draudu attiecība*	Draudu attiecības* TI	p vērtība
1.	Audzēja invāzija lielajos asinsvados (Ir/ nav)	4,156	1,489–11,600	0,007
	Vimentīns (Neg/ poz)	2,204	1,062–4,573	0,034
	CD44 (Neg/ poz)	2,209	1,209–4,035	0,010
	p27 (Neg/ poz)	0,310	0,125–0,771	0,012
2.	Audzēja nekroze (Ir/ nav)	3,155	1,628–6,117	0,001
	Vimentīns (Neg/ poz)	2,827	1,380–5,789	0,011
	p27 (Neg/ poz)	0,310	0,125–0,765	0,004
3.	Audzēja nekroze (Ir/ nav)	2,598	1,362–4,956	0,004
	CD44 (Neg/ poz)	1,790	1,008–3,178	0,047

2.8. tabulas turpinājums

Modeļa Nr.	Parametrs	Draudu attiecība*	Draudu attiecības* TI	p vērtība
4.	Vimentīns (Neg/ poz)	2,231	1,074–4,634	0,031
	CD44 (Neg/ poz)	1,894	1,059–3,387	0,031
	p27 (Neg/ poz)	0,316	0,127–0,791	0,014

* Hazard ratio

Saīsinājumi tabulā: Nr., numurs; TI, ticamības intervāls; Neg, negatīva ekspresija; Poz, pozitīva ekspresija.

Izmantojot ROC līknes analīzi un sekojošu *log-rank* testu, tendence uz atšķirīgu mediāno izdzīvotības laiku iezīmējās starp ADDA pacientu grupām, kuru audzēju mikrovaskularizācijas blīvums bija < 55 vai ≥ 55 vaskulārās struktūras/ APRL. Mediānais izdzīvotības laiks bija 8,0 mēneši (95% TI = 4,4–11,6) pacientiem ar mazāk kā 55 vaskulārām struktūrām/ APRL, bet 14 mēneši (95% TI = 11,4–16,6) pacientiem ar vismaz 55 vaskulārām struktūrām/ APRL. Mazāk par 55 vaskulārām struktūrām/ APRL tika konstatēts 43/ 70 (61,4%; 95% TI = 46,9–72,2) ADDA gadījumos, bet vismaz 55 vaskulārās struktūras/ APRL konstatētas 27/ 70 (38,6%; 95% TI = 27,8–53,1) audzējos.

Statistiski nozīmīga mediānās izdzīvotības laika atšķirība netika atrasta ($p > 0,05$) attiecībā uz sekojošu marķieru pozitīvu/ negatīvu ekspresiju: p53, p21, ciklīns D1, E-kadherīns, CK 20, CDX2, CK 5/6, p63, hromogranīns A, CD56, COX-2, BRCA1.

2.7.2. Aizkuņģa dziedzera endokrīna audzēja prognostiskais imūnhistokīmiskais profils

AEA grupā statistiski nozīmīga mediānās izdzīvotības laika atšķirība netika konstatēta ($p > 0,05$) attiecībā uz sekojošu proteīnu pozitīvu/ negatīvu ekspresiju: p53, p21, ciklīns D1, E-kadherīns, CD44, COX-2 un BRCA1.

2.8. Aizkuņģa dziedzera vēža operācijas materiāla izmeklēšanas diagnostiskais protokols

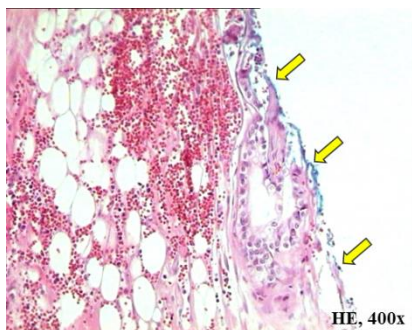
Aizkuņģa dziedzera operācijas materiāla makroskopiskās un mikroskopiskās izmeklēšanas kvalitāte tika izvērtēta ADDA modelī. Audzēja izmērs tika novērtēts 66,7% (95% TI = 53,0–78,0) gadījumu, ja izmeklēšana notika brīvā veidā (bez protokola pielietojuma), bet 100% (95% TI = 87,5–100) gadījumu, ja tiek izmantots diagnostikas protokols. Audzēja pT parametrs

netika precizēts 7,8% (95% TI = 3,1–18,5) gadījumu, ja apraksts bija brīvā veidā. Šāda neprecizitāte netika pieļauta nevienā gadījumā (0,0%; 95% TI = 0,0–12,5), ja izvērtēšana noritēja saskaņā ar protokolu. Limfas mezgli visa pētījuma laikā netika izvērtēti vienā ADDA gadījumā, kas arī saistāms ar brīvu izmeklējuma veidu. Mazāk kā 12 limfas mezgli izvērtēti 52,0% (95% TI = 38,5–65,2) gadījumu pirms protokola pielietošanas *versus* 7,4% (95% TI = 2,1–23,4) audzēju, izmantojot diagnostisko protokolu. Mediānais izmeklēto LM mezglu skaits, ieviešot protokolu, pieauga no 10 (IQR = 10) uz 32 (IQR = 17) LM. Informācija par RL stāvokli netika sniegta 9,8% (95% TI = 4,3–21,0) gadījumu, ja izmeklēšana notikusi brīvā apraksta veidā. Izmantojot diagnostisko protokolu, pRx atrade tika novērsta. Visos gadījumos, pielietojot protokolu, peripankreatiskā rezekcijas līnija tika iezīmēta ar alciānzilo krāsu, lai izvērtējums būtu precīzāks (2.32. un 2.33. attēli).



2.32. attēls. Pankreatoduodenektomijas operācijas materiāls ar iekrāsotu peripankreatisko rezekcijas līniju

1 – vēzis, 2 – aizkuņģa dziedzera audi, 3 – žults pūslis, 4 – divpadsmitpirkstu zarna



2.33. attēls. Aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas invāzija taukaudos un iekrāsotajā (alcianzilais) rezekcijas līnijā (bultas). Hematoksilīns – eozīns (HE), palielinājums 400x.

Izveidotais diagnostiskais protokols ietver pacienta identifikācijas datus, galvenos klīniskos un ķirurģiskos datus, katra izņemtā orgāna vai to daļas (kopā 11) makroskopisku izvērtējumu, rezekcijas līniju (kopā 6 RL) novērtējumu. Protokols aptver arī patoloģiskā procesa aprakstu un limfas mezglu izvērtējumu. Dati par audzēja histoloģisko tipu, pTNMGR parametriem, vaskulāro un neirālo invāziju, nekrozi, intraepiteliālo neoplāziju, iekaisumu, desmoplāziju un imūnhistoķīmisko vizualizāciju ir jānorāda un jāprecizē atbilstoši protokolā ietvertajām definīcijām.

3. DISKUSIJA

Aizkuņģa dziedzera karcinoma incidences ziņā neierindojas starp biežākajiem ļaundabīgiem audzējiem, tomēr tā ir ceturtais biežākais onkoloģiskās mirstības cēlonis (39; 124). Izzinot aizkuņģa dziedzera audzējiem raksturīgos prognostiskos faktorus, paveras iespēja pētīt šos parametrus kā iespējamu personalizētas terapijas mērķi, pārvēršot tos par prediktīviem audzēja faktoriem. Tādi parametri kā pacienta vecums vai audzēja lokalizācija nav ietekmējami, bet audzēja mitotiskā aktivitāte, šūnu epiteliāli mezenhimālā transformācija vai audzēja cilmes šūnu raksturs ir izmaināmi faktori.

Konvenciālās ķīmijterapijas (gemcitabīns, 5-fluorouracils, cisplatīns) efektivitāte aizkuņģa dziedzera vēža ārstēšanā ir maza, jo audzēja šūnas ir rezistentas uz šo terapiju (6; 54; 91; 136). Pretstatā konvencionālai ārstēšanai, pozitīvi, lai gan pretrunīgi rezultāti gūti, vēršot terapiju uz noteiktu šūnas mehānismu bloķēšanu vai aktivāciju (19; 50; 64; 91; 133; 136; 141). Līdz ar to, lai uzlabotu un pilnveidotu terapijas iespējas, nepieciešams izziņāt audzējiem specifiskos bioloģiskos mehānismus (91). Šāda tipa pētījumos mēdz izmantot dažādas metodes, piemēram, *in situ* hibridizāciju vai polimerāzes ķēdes reakciju. Lai noteiktu konkrēta proteīna klātbūtni audu griezumā, identificējot pētāmās molekulas cellulāro lokalizāciju, klasiska audzēju pētniecības metode ir imūnhistoķīmiskā vizualizācija (115), kas pielietota arī šajā pētījumā.

Veiktā pētījuma ietvaros visi prognostiskie faktori tika iedalīti divās lielās grupās: klīniskie un morfoloģiskie raksturlielumi un IHĶ marķieri. Lai izvērtētu katra parametra prognostisko nozīmi, svarīgi ir zināt pacientu vispārīgos izdzīvotības rezultātus.

3.1. Kopējā izdzīvotība

Šī pētījuma ietvaros Latvijas ADDA pacientu mediānais izdzīvotības laiks pēc potenciāli radikālas operācijas bija 11,0 mēneši analogi citiem pētījumiem, kuros analizēti Lielbritānijas, Zviedrijas, Kanādas vai Ķīnas pacienti (4; 24; 71). Lielākoties arī trīs-, divu- un viena gada izdzīvotības rezultāti dažādos pētījumos nav statistiski ticami atšķirīgi (4; 83; 101). Esošā pētījuma mērķpopulācijā pirmā mēneša laikā nomira 5,4% (95% TI = 2,1–13,1) pacienti. Šis parametrs, ko sauc arī par perioperatīvo nāves gadījumu skaitu, bija statistiski līdzīgs Lim *et al.* grupā ASV (7,6%). Šī pētnieku komanda

prognostiskos parametrus izvērtēja, gan iekļaujot, gan izslēdzot perioperatīvi mirušos pacientus, un ieguva analogus rezultātus (83).

Salīdzinot ar ADDA pacientiem, statistiski ticami labvēlīgāki izdzīvotības rezultāti ir AEA grupā. AEA pacientu 5-, 3-, 2- un 1 gada izdzīvotība ir 42,1–56%; 53,0%; 61,7% un 72,3%, kas ir 2, 3 vai pat 5 reizes augstāka nekā pētītajā ADDA grupā. Pat 10 gadu izdzīvotība sasniedz 24% (57).

3.2. Pacientu un ķirurģisko datu apraksts

Dzimums. Šis pētījums analogi citiem apstiprina, ka ADDA vienādi bieži attīstās vīriešiem un sievietēm. Arī izdzīvotības rezultāti starp dzimumiem neatšķiras (4; 71; 83; 49; 95; 140). Vienīgi *Andrén-Sandberg et al.* norāda, ka starp jaunākiem pacientiem ADDA biežāk ir vīriešiem (5). Šāda sakarība tika atrasta arī veiktajā pētījumā pacientu grupās ≤ 65 vai > 65 gadiem ($p = 0,043$). Interesanti uzsvērt, ka vidējais mūža ilgums Latvijā bija 73 gadi (sievietēm – 78, vīriešiem – 68 gadi) 2012. gadā, bet 70 gadi (sievietēm – 76, vīriešiem – 65 gadi) 2004. gadā, kad tika uzsākta datu ievākšana esošajam pētījumam (27). Veiktajā pētījumā visiem mirušajiem pacientiem aizkuņģa dziedzera vēzis bija norādīts kā nāves iemesls, bet lietderīgi būtu arī apsvērt novecošanās procesus un citas slimības, kas var ietekmēt pacientu vispārējo stāvokli lielākā vecumā.

Pacienta vecums. ADDA pacientu mediānais vecums šai pētījumā atbilst citu autoru datiem (24; 49). Veiktajā pētījumā ADDA un AEA pacientu mediānie vecumi neatšķiras.

Ķirurģiskie dati. ADDA pacientu grupā netika atrasta statistiski nozīmīga dzīvildzes atšķirība atkarībā no veiktās operācijas veida (83). Konkrētas operācijas izvēles biežumā bija novērojamas nelielas atšķirības no citu autoru pieredzes. Piemēram, šajā pētījumā pankreatoduodenektomija tika veikta 79,5% gadījumu, bet citos pētījumos tā ir veikta vai nu retāk (64,6%) vai gluži pretēji, biežāk, t.i., 91,1% gadījumu (24; 140). Arī totāla pankreatektomija *Yoon et al.* pētījumā tika veikta biežāk: 15,9% versus 7,7%, kā tas konstatēts veiktajā pētījumā (140).

3.3. Morfoloģiskie parametri

Audzēja izmērs. Mediānais ADDA izmērs atbilst citu pētnieku minētajiem datiem (49; 83). *Kawesha et al.* un pašreizējais pētījums norāda, ka nav asociācijas starp izdzīvotību un audzēja izmēru (71). Tomēr liela daļa pētījumu pierāda, ka pacientiem ar lielākiem audzējiem (nosakot robežizmēru 2 cm vai 3 cm) ir īsāks izdzīvotības laiks (24; 67; 83; 49; 95; 99).

Audzēja izmērs (lielāks par robežvērtību 2 cm) bija nozīmīgs attiecībā uz rezekcijas līniju stāvokli. Šajā pētījumā statistiski biežāk pozitīvas RL bija saistītas ar ADDA, kuru izmērs bija lielāks par 2 cm, salīdzinot ar mazākiem audzējiem ($p = 0,002$).

AEA mediānais izmērs bija mazāks nekā ADDA, kā arī audzēja lielākais diametrs retāk pārsniedza 2 cm. Statistiski ticamā izmēru atšķirība varētu būt izskaidrojama ar hormonu sekrēciju aizkuņģa dziedzera endokrīnajos audzējos, izraisot agrīnus simptomus. Turklāt ADDA aug ātrāk nekā AEA, uz ko norāda būtiski augstāka proliferācijas aktivitāte: respektīvi, vidējais Ki-67 ekspresējošu šūnu daudzums $\pm$ SD bija 23,2% ADDA šūnu pretstatā 3,4% AEA šūnu.

pT parametrs. ADDA gadījumi visbiežāk tiek atklāti un ārstēti ķirurģiski kā pT3, kas nozīmē, ka vēzis ir invadējis ekstrapankreatiskos audus (33). pT3 vēži konstatēti 82% un 94% pacientu *Lim et al.* un *Handra-Luca et al.* pētījumos, bet esošajā pētījumā – pat 98,7% (95% TI = 92,9–99,8) gadījumu (49; 83). pT3 ADDA invāzija visbiežāk skar peripankreatiskos taukaudus (75; 115). Veiktajā pētījumā audzēja invāzija taukaudos tika konstatēta visos pT3 gadījumos. ADDA grupā statistiski ticami retāk nekā AEA gadījumos sastopams pT2 un biežāk – pT3. Viens no iemesliem pT parametra pieaugšanai ir lielāka vēža šūnu anaplāzija un spēja invadēt apkārtējos audus un asinsvadus ($p = 0,005$).

pN parametrs. Gan pašreizējā, gan citos pētījumos pN1 konstatēts vairāk kā pusē ADDA gadījumos (49; 95). Turpretim AEA pacientiem pN1 atrade ir statistiski ticami retāka (20,0%) nekā ADDA gadījumos (67,5%). Šāda atšķirība konstatēta gan veiktajā pētījumā, gan citu autoru darbos (10; 20; 51; 57; 73; 107; 113; 129).

Tika atrasta asociācija starp izmeklēto limfas mezglu daudzumu un pN1 biežumu ($z = -2,460$; $p = 0,014$), kas norāda uz aizkuņģa dziedzera audzēja morfoloģiskas izmeklēšanas precizitātes nozīmīgu lomu, jo LM stāvokļa prognostiskā vērtība ir augsta abu audzēju gadījumā (t.i., ADDA un AEA). Vairākos pētījumos vidējais izdzīvotības laiks pN1 gadījumos ir apmēram

divkārt īsāks salīdzinoši ar pN0 gadījumiem, piemēram, ADDA gadījumā 8,9 *versus* 17,9 mēneši, AEA gadījumos piecu gadu izdzīvotība – 55,1% *versus* 91,1% (4; 49; 51; 71; 95; 106; 107; 118). Šo apsvērumu dēļ tika izveidots diagnostiskais protokols, kas ir viens no esošā pētījuma pamatiem. Protokola rezultātā iegūti statistiski ticami precīzāki dati.

pM parametrs. Gan ADDA, gan AEA grupā prognostiski nozīmīgs faktors ir audzēja invāzija asinsvados un attālo metastāžu attīstība (10; 31; 35; 67; 118; 142). Šajā pētījumā ADDA pacientu mediānais izdzīvotības laiks bija 12,0 mēneši un 3,0 mēneši, salīdzinot grupas bez un ar audzēja invāziju lielajos asinsvados ($p = 0,013$). Pacientu izdzīvotība krasi samazinās M1 gadījumos, un divu gadu izdzīvotība ir 0% (67), kas arī apstiprinājās veiktajā pētījumā.

Audzēja stadija. Kompleksa pTNM parametru izvērtēšana ļauj noteikt audzēja stadiju. Publicētos ADDA pētījumos dominē IIB stadija, respektīvi, pacientam ir attīstījušās metastāzes limfas mezglos. Veiktajā pētījumā IIB stadija konstatēta statistiski ticami biežāk (65,3%) kā *Bilimoria et al.* pētījumā (36,4%), kurā iekļauti 18743 aizkuņģa dziedzera vēža pacienti. Biezuma ziņā seko IIA stadija ar audzēja invāziju apkārtējos audos, bet bez metastāzēm, kas arī apstiprinājās gan *Bilimoria et al.*, gan šajā pētījumā (12).

Rindi et al. un arī šis pētījums liecina, ka AEA grupā nav raksturīga kādas stadijas dominance biezuma ziņā (113).

Rezekcijas līnijas. Lai izvērtētu operācijas radikalitāti, audzēja recidīva risku un pacienta prognozi, svarīgi ir uzmanīgi izmeklēt ķirurģisko RL stāvokli. Veiktajā pētījumā pielietota RL iezīmēšana ar alciānzilo krāsu, īpaši izvērtējot peripankreatiskās RL stāvokli (kura arī ADDA grupā atklājās kā visbiežāk pozitīvā RL) un AEA enukleācijas materiālu. Salīdzinoši ar citiem ADDA pētījumiem, pašreizējā grupā pR1 diagnosticēts statistiski ticami biežāk: 27–35% *versus* 57,5% gadījumu, bet netika pierādīta šīs atrades prognostiskā loma (49; 95; 127). Lai gan dažiem pētījumiem arī nav izdevies pierādīt RL stāvokļa nozīmi pacientu izdzīvotības laikā, tomēr ir plaša mēroga pētījumi, kuri tos atspēko (71; 95; 127). Iespējams, ka parametrs zaudē konstatējamu prognostisko nozīmi, kļūstot pārmērīgi biežs.

Kā iepriekš minēts, visbiežāk audzējs skar peripankreatisko RL. Pētījuma laikā konstatēts, ka pozitīvo RL iemesls bieži ir audzēju kompleksu atrašanās ap nerviem vai nervos, ko pārliecinoši apstiprināja perineirālas ADDA izplatības korelācija ar pozitīvu RL ($p < 0,001$). Perineirāla izplatība ir viena no tipiskākajām ADDA pazīmēm. Daži pētījumi atklāj asociāciju (vai tendenci), ka pacientiem ar perineirāli augošu audzēju ir īsāks izdzīvotības

laiks. Iespējams, šo saistību ar mediāno izdzīvotības laiku vairāk ietekmē saistītais RL stāvoklis (4; 49; 77; 95; 99; 127). Konstatēta arī asociācija starp pR1 un audzēja izmēru, kas pārsniedz 2 cm ($\chi^2 = 9,421$; $p < 0,002$).

Attiecībā uz AEA gan šajā, gan citos pētījumos pR0 biežums variē no 68–87,1% gadījumu (51; 109). Pašreizējā pētījumā pR0 biežums (72,7%) pārsniedz pR1 biežumu (27,3%), lai gan atšķirība nesasniedz statistisku ticamību.

Audzēja diferenciācijas pakāpe. Viens no parametriem, kurš ir saistīts gan ar morfoloģiskiem, gan ar IHĶ raksturlielumiem, ir audzēja diferenciācijas pakāpe. Pētāmā grupa pēc G parametra sadalījuma atbilst publicētajiem datiem. ADDA lielākoties ir vidēji diferencētas (līdz 51,3 % pēc literatūras datiem; 46,2% šajā pētījumā), seko zemu diferencēti audzēji: līdz 44,1 % pēc literatūras datiem; 35,9% šajā pētījumā (32; 49; 83).

Zemu diferencētām ADDA ir nozīmīgi īsāks izdzīvotības laiks (mediānais izdzīvotības laiks variē starp 5–13,0 mēnešiem), salīdzinot ar pacientiem, kuriem ir labi vai vidēji diferencēta ADDA un kuriem līdz ar to vērojams mediānais izdzīvotības laiks starp 19–21,89 mēnešiem (49; 95; 99). Esošajā pētījumā arī tika novērota tendence mediānajam izdzīvotības laikam atšķirties (*log-rank*; $p = 0,050$) starp pacientiem ar dažādām audzēja diferenciācijas pakāpēm.

Fakts, ka zemu diferencēti audzēji biežāk invadē asinsvadus ($p = 0,006$) un aug perineirāli ($p = 0,018$), apstiprina šīs atrades nelabvēlīgo raksturu. Līdzīgi rezultāti tika atklāti AEA grupā, t.i., jo zemāka audzēja diferenciācija, jo biežāka audzēja invāzija asinsvados ($p = 0,021$).

AEA sadalījums atbilstoši diferenciācijas pakāpēm ir sekojošs. Saskaņā ar vairāku autoru datiem, labi diferencētas endokrīnas karcinomas dominē un veido 47,2–66% no visiem AEA, bet biežuma ziņā seko labi diferencēti endokrīni audzēji (10; 34; 113; 118).

Nekroze. Audzēja nekroze konstatēta 26,9% ADDA gadījumu. Nekrozes esamība nozīmīgi korelē ar mediāno izdzīvotības laiku (*log-rank*, $p = 0,001$), t.i., mediānais izdzīvotības laiks pacientiem bez audzēja nekrozes bija 13,0 mēneši, bet pacientiem ar audzēja nekrozi – 4,0 mēneši. Tādējādi identificēta nekrozes nozīmīga prognostiska vērtība. Tomēr, lai nodrošinātu adekvātu diagnostisko precizitāti, novērtējot nekrozes plašumu, ir nepieciešams gan makroskopiskais, gan mikroskopiskais nekrozes mērījums. Audzēja audi arī pilnībā jāpakļauj mikroskopiskai analīzei.

3.4. Aizkuņģa dziedzera duktālu adenokarcinomu un endokrīno audzēju imūnhistokīmiskais profils

Šajā pētījumā tika analizēts plašs IHĶ marķieru spektrs, lai salīdzinātu audzēja imūnprofilu ar labdabīgiem aizkuņģa dziedzera audiem un noteiktu, kuri ADDA un AEA molekulārie mehānismi lokālā mērķpopulācijā tiek skarti visbiežāk. Tālāk aprakstīti svarīgākie no šiem biomarķieriem.

Ki-67. Palielināta proliferācijas frakcija ir raksturīga audzēju pazīme. Tā ir svarīga AEA novērtēšanai atbilstoši jaunākajām klasifikācijām (29) un aprakstīta kā negatīvs prognostisks faktors ADDA gadījumā (62; 70; 139).

ADDA gadījumos proliferatīvi aktīvu šūnu relatīvais skaits var sasniegt pat 97% (28; 56). Šajā pētījumā augstākā proliferācijas frakcija ADDA grupā bija 65,0% un pozitīvo šūnu relatīvā skaita mediānā vērtība bija salīdzinoši zema, t.i., 18,0% (IQR = 21,0) pretstatā 29,7% citu autoru darbos (86). Pašreizējā pētījumā atrasta asociācija starp augstāku Ki-67 ekspresiju un lielāku metastāžu skaitu limfas mezglos ($p = 0,023$), kā arī perineirālu invāziju ($p = 0,004$). *Hu et al.* arī konstatējis asociāciju starp Ki-67 ekspresiju un palielinātu pN1 atrades biežumu (56).

AEA grupā Ki-67 pozitīvo šūnu mediānais relatīvais skaits bija 2% (IQR = 3,0) atbilstoši citu autoru datiem (60; 108; 118). Palielināta Ki-67 ekspresija, t.i., vismaz virs 2%, parasti vērtējama kā nelabvēlīgs prognostisks AEA faktors, tomēr tas netika pierādīts daudzfaktoru analizē, ko veica *Chang et al.* (16; 31; 74). Palielināta Ki-67 ekspresija AEA audos korelē ar biežāku metastātisku izplatību (66; 104; 139), kas arī tika demonstrēts šajā pētījumā kā pieaugoša attālo metastāžu attīstība ($p = 0,055$) kopā ar vidēji stipru asociāciju ar palielinātu audzēja izmēru ($p = 0,022$). Reizē ar palielinātu šūnu spēju dalīties AEA šūnas iegūst arī jaunas īpašības: mezenhimālu diferenciāciju – vimentīna ekspresiju ($p = 0,045$) un CK 19 ekspresiju ($p = 0,033$). Abi marķieri netika novēroti aizkuņģa dziedzera SBN un saistīti ar nelabvēlīgu norisi (skat. turpmāk), kā arī lielāku audzēja izmēru.

p53. Normālās šūnās p53 proteīnu var atrast nelielā daudzumā, jo tā pussabrukšanas periods ir īss (29), tādēļ normālos aizkuņģa dziedzera izvados p53 ekspresija pārsvarā ir negatīva. Dažās šūnās var novērot vāju reaktivitāti (84). TP53 gēna mutācijas var izraisīt aberanta p53 proteīna sintēzi, kuram ir garāks pussabrukšanas periods. Aberanta p53 klātbūtne var tikt pierādīta ar anti-p53 antivielām kā intensīva, difūza pozitīva ekspresija.

Pētāmajā grupā p53 proteīna ekspresija tika novērota 67,6% no ADDA gadījumiem saskaņā ar ziņojumu par 60% ekspresijas biežumu *Liu et al.* grupā (87). Dažos pētījumos konstatēta retāka p53 ekspresija: 41% un 50% (71; 89). p53 pozitīva ekspresija tiek uzskatīta par ļaundabīgu izmaiņu pazīmi, un aizkuņģa dziedzera audos tā izpaužas lielākoties augstas pakāpes *PanINs* (*PanIN-3* bojājumos). Šim novērojumam var būt augsta praktiska vērtība kā brīdinošai imūnhistoķīmiskai pazīmei, citoloģiski vērtējot diagnostiski neskaidrus aizkuņģa dziedzera aspirātus.

Pētījumā noteikts, ka ADDA gadījumiem ar samazinātu p53 ekspresiju raksturīga biežāka invāzija lielajos asinsvados ($p = 0,043$). *Kawesha et al.* konstatēja, ka 90% audzēju, kuri ir lielāki par 5 cm, trūkst p53 ekspresijas (71). Iespējams, ka aberantu p53 ekspresiju rada agrīni *TP53* gēna defekti, kas korelē ar agrīnām invazīvām audzēja stadijām, bet pēc audzēju mutagēno procesu progresijas, tam kļūstot agresīvākam, p53 ekspresija zūd papildus apklusinošu mutāciju dēļ. Tas varētu arī būt iemesls, kāpēc nav tikusi atrasta korelācija starp p53 ekspresiju un izdzīvotību.

AEA grupā ir novēroti pretrunīgi rezultāti starp šo un *Yachida et al.* pētījumu, kurā p53 ekspresija aprakstīta tikai malignos AEA, bet šajā pētījumā p53 ekspresija tika konstatēta visos labi diferencētos endokrīnos audzējos ar neskaidru potenciālu, iztrūkstot invāzijai apkārtējos audos (137). Iespējams, ka labi diferencētam endokrīnam audzējam ar neskaidru potenciālu ir ļaundabīga daba, bet ne invazīva augšana, līdzīgi *PanIN-3* bojājumiem ADDA patoģenēzē.

p21. p21 proteīns ir šūnas cikla inhibitors, kas iesaistīts šūnas cikla kontrolē (šūnas cikla progresija, apoptoze un transkripcija) gan normālās, gan ļaundabīgās šūnās. To var inducēt gan p53-atkarīgi, gan neatkarīgi mehānismi (15; 23).

Šajā pētījumā konstatēta asociācija starp samazinātu p21 ekspresiju un lielāku ADDA izmēru, kas pārsniedz 2 cm ($p = 0,047$). Tas var tikt interpretēts kā apstiprinājums *Cazzalini et al.* un *el-Deiry et al.* teorijai, apgalvojot, ka šūnu proliferācija palielinās, ja p21 līmenis ir samazināts (15; 36). Tomēr konstatēta arī pozitīva korelācija starp p21 un Ki-67 ADDA grupā ($p = 0,016$). Tādējādi, p21 pozitīvi audzēji proliferē aktīvāk, bet p21 negatīvi gadījumi ir lielāki, hipotētiski liecinot par citas, no p21 atkarīgas funkcijas iesaisti – palielinātu apoptozi. Apoptozes trūkums p21 negatīvos gadījumos ar laiku varētu izpausties ar lielāku šūnu masu, neskatoties uz samazinātu proliferāciju. Rezistence pret apoptozi arī varētu pasargāt audzēja šūnas no ķīmijterapijas. Diemžēl arī pozitīva p21 ekspresija korelēja ar cilmes šūnu marķieri CD44

($p = 0,024$), kurš ir zināms kā negatīvs prognostisks faktors saistībā ar rezistenci pret terapiju. p21 proteīna ekspresija korelēja arī ar epiteliāli mezenhimālu transformāciju (EMT) – vimentīna ekspresiju ($p = 0,010$), kas šajā pētījumā identificēts kā negatīvs prognostisks faktors, ietekmējot mediāno izdzīvotības laiku ($p = 0,002$).

p27. p27 ir ciklīna-ciklīna atkarīgās kināzes inhibitors un audzēju supresors. Tas inhibē šūnas cikla progresiju, pateicoties spējai apturēt šūnas cikla G_1 vairāku mehānismu darbības rezultātā (76; 122). Audzēja šūnās p27 imūnhistoķīmiska ekspresija ir samazināta traucētas proteīna sintēzes vai palielinātas degradācijas dēļ, kas funkcionāli izraisa p27 inaktivāciju (21; 76).

Šajā pētījumā p27 pozitīvi ADDA gadījumi bija statistiski ticami biežāki (91,9%) nekā citos pētījumos (41–49%), neskatoties uz vienādām robežvērtībām (40; 99). Veiktajā pētījumā vidējais relatīvais pozitīvo šūnu skaits ADDA audos (28,2%) bija ticami zemāks nekā aizkuņģa dziedzera IBM (42,3%), norādot, ka p27 inhibīcija ir viens no ADDA karcinogēnēzes ceļiem. p27 varētu būt viens no svarīgākajiem prognostiskajiem marķieriem, jo vairākos ADDA un AEA pētījumos, ieskaitot šo, (*log-rank*, $p = 0,003$) konstatēts, ka pacientiem ar saglabātu augstu p27 ekspresiju ir ievērojami garāks mediānais izdzīvotības laiks nekā pacientiem ar samazinātu p27 ekspresiju (16; 40; 68; 72; 90).

Ciklīns D1. Transkripciju regulējošais proteīns ciklīns D1 veido kompleksu ar ciklīna atkarīgo kināzi. Šis komplekss regulē šūnas ciklu no G_1 līdz S fāzei (29). Ļaundabīgās šūnās ciklīna D1 stabilitāte ir izmainīta. Līdz ar to ciklīna D1 līmenis var pieaugt bojātas degradācijas dēļ, veicinot šūnas cikla progresiju (1).

Kopumā ciklīna D1 pozitīvā frakcija ADDA gadījumos bija līdzīga šajā (64,9%) un citos pētījumos (11; 71). Iegūtajos datos netika atrasta ciklīna D1 tieša prognostiska vērtība attiecībā uz izdzīvotību, kas arī atbilst citu autoru rezultātiem (71). *Culhaci et al.* un *Lebe et al.* konstatēja, ka ciklīna D1 ekspresija ADDA audos korelē gan ar audzēja lielumu, gan ar perineirālu invāziju (28; 80). Šajā pētījumā gūtie rezultāti ir daļēji pretēji hipotētiski sagaidāmajam, t.i., samazināta ciklīna D1 ekspresija konstatēta audzējiem ar invāziju lielajos asinsvados ($p = 0,047$). To varētu izskaidrot ar faktu, ka audzēji, kuriem piemīt paaugstināta invazivitāte un šūnu migrācija, biežāk tiek pakļauti EMT. Tajā pašā laikā citoskeleta EMT izmaiņas un šūnu dalīšanās nav savienojamas. Šīm šūnām raksturīga p21 aktivācija, samazināts ciklīna D1 līmenis un inducēta rezistence pret apoptozi (70). Līdz ar to samazināta ciklīna

D1 ekspresija nevar tikt apsvērtā kā labvēlīga pazīme audzējos. Kaut gan ciklīnam D1 nav konstatēta prognostiska vērtība, vairākos pētījumos tas traktēts kā prediktīvs faktors (1). Ciklīna D1 nozīme endokrīnā onkoģenēzē ir uzsvērtā ar ciklīna D1 mijiedarbību regulatoros mehānismos ar beta-katenīnu, svarīgu E-kadherīna ceļa komponentu (58). Ekstracelulāri regulētās kināzes un p38/ mitogēni aktivētā proteīna kināzes MAPK ceļi arī ir iesaistīti gan ciklīna D1 regulācijā (45), gan E-kadherīna izzudumā un EMT (44).

Bcl-2. Bcl-2 ir antiapoptotisks proteīns. Palielinātu Bcl-2 proteīna ekspresiju parasti novēro pēc translokācijas *BCL2* gēnā. Pārmērīga Bcl-2 proteīna ekspresija var bloķēt ķīmijterapijas inducētu šūnas nāvi (29).

Dati par Bcl-2 ekspresiju aizkuņģa dziedzera audzējos ir samērā pretrunīgi. Agrāk aprakstīta relatīvi bieža Bcl-2 ekspresija ADDA (35,6–55,0%) un AEA (53,3–53,6%) audos, bet šajā pētījumā ekspresija tika novērota tikai 1/ 75 (1,3%) ADDA gadījumā, un netika konstatēta AEA grupā (32; 111; 125; 137). *Westphal et Kalthoff* min, ka aizkuņģa dziedzera vēzim raksturīga saglabāta normāla vai pat samazināta Bcl-2 ekspresija, un pašreizējā pētījuma dati sakrīt ar šo rezultātu. Izskaidrojums pretrunām ir sekojošs. Aizkuņģa dziedzera karcinomās pārlieku liela cita anti-apoptotiska Bcl-2 ģimenes proteīna ekspresija – Bcl-x_L – ir biežāk novērojama un krustotas imūnhistoķīmiskas reaktivitātes ceļā var radīt viltus pozitīvu Bcl-2 ekspresiju, no kā šai pētījumā izdevies izvairīties (133).

E-kadherīns. E-kadherīns ir epiteliāli transmembranozs glikoproteīns, kas nodrošina epiteliālā slāņa integritāti un polaritāti (29). Kopā ar adhēzijas molekulu pazušanu ADDA audos sāk izzust glandulārās struktūras, izraisot atsevišķu šūnu invāziju, kas nosaka zemāku diferenciācijas pakāpi. Tas arī palielina iespēju šūnu migrācijai un limfogēnu un hematogēnu metastāžu attīstībai, kas ievērojami maina pacienta prognozi (82; 53; 95; 123).

Šajā pētījumā pozitīva E-kadherīna ekspresija bija statistiski ticami biežāka ADDA nekā AEA audos, un aizkuņģa dziedzera IBM nekā aizkuņģa dziedzera SBN, bet relatīvais pozitīvo šūnu skaits neatšķīrās. ADDA grupā netika konstatētas korelācijas, kas raksturotu aprakstītos mehānismus, bet šāda spēcīga korelācija pastāvēja, analizējot E-kadherīna ekspresiju AEA gadījumos. Samazināta E-kadherīna ekspresija asociējās ar biežāku audzēja invāziju asinsvados ($p = 0,003$); perineirālu augšanu ($p = 0,003$); augstāku pT ($p = 0,011$); zemāku diferenciācijas pakāpi ($p = 0,007$) un angioģenēzi, ko ataino MVB ($p = 0,005$). Tomēr, lai nodrošinātu šūnu migrāciju, nepieciešams

ne tikai adhēzijas zudums, bet arī epiteliāli mezenhimāla transformācija (63; 132).

CD44. CD44 ir transmembranoza molekula, kas piedalās adhēzijā starp šūnām, kā arī starp šūnām un ekstracellulāro matricu (29; 114). CD44 var tikt ekspresēts gan normālās un atrofiskās, iekaisuma skartās aizkuņģa dziedzera izvadū šūnās, gan malignās epiteliālās šūnās (61). CD44 ir arī viens no vēža cilmes šūnu marķieriem (55). CD44 pozitīvas šūnas ir pašatjaunojošas un spēj veicināt klonogenitāti, šūnu augšanu un migrāciju, kā arī metastātisku izplatību, augstāku rezistenci pret staru un ķīmijterapiju (54; 81; 88; 128; 144), kas norāda uz lielāku ķirurģiskās ārstēšanas nozīmi. *Zhang et al.* atklāja, ka eksistē korelācija starp vēža cilmes šūnām un EMT (143).

Šajā pētījumā CD44 ekspresija konstatēta 45,2% ADDA. Dažādi autori min, ka CD44 pozitīvie audzēji veido vairāk kā pusi no ADDA gadījumiem (42; 61; 128). CD44 pozitīvām ADDA šūnām piemīt fundamentālas izmaiņas. CD44 ekspresija ir biežāka zemū diferencētās ADDA ($p = 0,023$), ADDA ar spēju metastazēt limfas mezglos ($p = 0,010$) un augstā perineirālī ($p = 0,005$), kas atbilst citu zinātnieku secinājumiem (18; 61). CD44 ekspresijas būtisko lomu atbalsta pierādījumi par CD44 nozīmīgu asociāciju ar mediāno izdzīvotības laiku ADDA pacientiem, ko apstiprināja arī Koksa proporcionālo draudu regresijas analīze. Mediānais izdzīvotības laiks bija garāks gadījumos ar iztrūkstošu CD44 ekspresiju nekā CD44 pozitīvos gadījumos (*log-rank*, $p = 0,018$): 15 mēneši pretstatā 8 mēnešiem.

Citokeratīns. Tikai nelielas publikācijas ir veltītas citokeratīnu un CDX2 prognostiskajai vērtībai. Analizējot citokeratīnu spektru (CK 7, CK 19, CK 20, CK 5/6, CK 34βE12) un CDX2 ekspresiju, prognostiska vērtība atklāta CK 20 ADDA gadījumos un CK 19 AEA grupā. CK 20 un CK 19 ekspresija saistās ar īsāku izdzīvotības laiku (31; 48; 96; 119; 142).

CK 7 un CK 19. CK 7 un CK 19 ir tipiski aizkuņģa dziedzera izvadū epitēlija marķieri (29), kuri tiek ekspresēti normālā epitēlijā ar vidējo pozitīvo šūnu skaitu 98,0% un 95,7% šajā pētījumā. Tajā pašā laikā, CK 7 bija negatīvs normālo salīņu šūnās atbilstoši publicētajiem datiem (29). Līdz ar to, CK 7 un CK 19 būtu izmantojami kā histogēnēzes marķieri metastātiska audzēja diferenciāldiagnostikā (29). Abi marķieri saglabā ekspresiju malignā izvadū epitēlijā, bet CK 19 klātbūtne AEA gadījumos saistās ar palielinātu maligno potenciālu (84). *Schüssler et al.* min, ka CK 7 un CK 19 ekspresija vājinās ADDA apvidos ar skvamozu diferenciāciju (120). Negatīva korelācija starp

CK 7 un abiem endokrīnajiem marķieriem (hromogranīns A un CD56) norāda, ka daļa no CK7 negatīvajām šūnām ir endokrīnas šūnas.

Atbilstoši citu pētnieku datiem, aizkuņģa dziedzera saliņās bez neoplāzijas CK 19 netika novērots, bet AEA audos šis proteīns var tikt konstatēts. Tādas ekspresijas biežums bija 4/ 14 (28,6%) šajā pētījumā, un pat vairāk nekā 60% no AEA gadījumiem pēc citu autoru datiem (13; 48; 87;120; 142). CK 19 ir vienīgais citokeratīns, kam piemīt prognostiska vērtība aizkuņģa dziedzera endokrīnos audzējos. Piecu gadu izdzīvotība pacientiem ar CK 19 negatīvu un pozitīvu ekspresiju ir 100% un 68,4%, p vērtība $< 0,001$ (142). Šobrīd CK 19 tiek uzskatīts par daudzsološu, bet joprojām pretrunīgu prognostisku indikatoru AEA grupā (65; 112); šajā pētījumā šie rezultāti arī apstiprinājās, jo CK 19 tika asociēts ar agresīvām AEA īpašībām: augstu pT ($p = 0,018$), zemu diferenciācijas pakāpi ($p = 0,002$), invazivitāti, kas izpaužas kā invāzija mazajos asinsvados ($p = 0,020$) kopā ar limfātisku un perineirālu invāziju, proliferācijas aktivitāti, nosakot Ki-67 ($p = 0,033$), epiteliāli mezenhimālu transformāciju ($p = 0,041$) un angiogēnēzi, nosakot MVB ($p = 0,014$). CK 19 ekspresijai ir tendence uz asociāciju ar audzēja izmēru, izmantojot robežvērtību 2 cm ($p = 0,054$), un ar skvamozu diferenciāciju, nosakot p63 ekspresiju ($p = 0,059$).

CK 20. Klasiski CK 20 ir pozitīvs intestinālā epitēlijā, bet mazāk intensīva, fokāla CK 20 ekspresija iespējama arī ADDA audos (29).

Šajā pētījumā CK 20 netika atrasts ne normālos aizkuņģa dziedzera izvados, ne saliņās, saskaņā arī ar *Liu et al.*(87). CK 20 ekspresijas biežums ADDA audos variē. Līdzīgi rezultāti kā šajā pētījumā (22,7% ADDA gadījumu) atklāti arī citos darbos – no 15% līdz 30% ADDA gadījumu (7; 43; 87). Esošajā pētījumā CK 20 korelēja arī ar CDX2 ($p = 0,003$), kurš arī tiek normāli ekspresēts intestinālā epitēlijā.

CDX2 ir intestinālam epitēlijam raksturīgs transkripcijas faktors (29). Fokāla CDX2 ekspresija konstatēta mazāk nekā 10% aizkuņģa dziedzera IBM (84). Šajā pētījumā CDX2 proteīns tika atrasts gan ADDA, gan aizkuņģa dziedzera IBM. Trūkstot nozīmīgai atšķirībai pozitīvo gadījumu skaitā un vidējā pozitīvo šūnu skaitā, šī pētījuma rezultāti atbilst *Bayrak et al.* rezultātiem, ka 16% no ADDA ekspresē CDX2 (7). Tādējādi, imūnfenotips atklāj intestinālu diferenciāciju aizkuņģa dziedzera audzējos. *Matros et al.* izteica hipotēzi, ka aizkuņģa dziedzera vēzim ir vairāki apakštipi, jo audzēji, kuros CK 20 ekspresija netika novērota, ir saistīti ar CK 20 negatīviem *PanIN* bojājumiem, bet tie ADDA gadījumi, kam piemita CK 20 ekspresija invazīvajā

komponentā, bija saistīti ar CK 20 ekspresiju arī *PanIN*, norādot, ka šīs izmaiņas rodas agrīni – pirms invazīvā procesa (96).

Praktiski, ņemot vērā, ka ADDA audos iespējama abu intestinālo marķieru imūnreaktivitāte, šī atrade ir svarīga metastātiska audzēja izvērtējumā. Šis pētījums apstiprināja, ka CK 20 un CDX2 var būt pozitīvs ADDA gadījumos, atgādinot kolorektālo vēzi. Pēc literatūras datiem, kolorektālais vēzis dažkārt var būt CK 7 pozitīvs, neskatoties uz parasti (78%) negatīvo ainu (7).

CK 5/6, CK 34βE12 un p63 pozitīva ekspresija ir atrodama šūnās ar skvamozu diferenciāciju (29). Visi trīs marķieri tika konstatēti ADDA audos, bet aizkuņģa dziedzera IBM novērota tikai CK 34βE12 ekspresija. Aizkuņģa dziedzera endokrīnos audos un atbilstošos audzējos CK 34βE12 ekspresija iztrūka. Rūpīgi pārbaudot *Pubmed* datu bāzi, netika atrasti agrāki pētījumi, kuros būtu analizēta skvamoza diferenciācija AEA audos pēc p63 proteīna ekspresijas. Šajā pētījumā p63 ekspresija tika novērota 4/ 14 (28,6%) gadījumu, bet nevienā no gadījumiem netika sasniegta noteiktā robežvērtība (10%).

Lai gan daudzas īpašības šajā pētījumā norāda uz audzēja plašāku izplatību skvamozas diferenciācijas gadījumā, tomēr CK 5/6, CK 34βE12 un p63 ekspresija nav saistīta ar pacienta mediāno izdzīvotības laiku.

Hromogranīns A un CD56. Neuroendokrīno marķieru ietvaros, kas iekļauj hromogranīnu A, sinaptofizīnu, neironu specifisko enolāzi un CD 56, hromogranīnam A piemīt visaugstākā specifitāte (29). CD56 ir neirālo šūnu adhēzijas molekula, kas tiek ekspresēts neirālās struktūrās un neuroendokrīnās šūnās. Diemžēl, CD56 tiek ekspresēts arī ne-neuroendokrīnās šūnās un audzējos (29). Maligns izvadū epitēlijs ir hromogranīna A negatīvs, bet 30% no ADDA gadījumiem ir atrastas šūnas ar neuroendokrīnu marķieru ekspresiju. Tās hipotētiski var būt benignas neuroendokrīnas šūnas, kuras ir cieši saistītas ar malignām epiteliālām šūnām (29).

Saistībā ar abiem šai darbā pētītajiem neuroendokrīniem marķieriem (hromogranīns A un CD56), pozitīvo gadījumu un pozitīvo šūnu relatīvais skaits ADDA grupā ir bez statistiski nozīmīgas atšķirības. Rezultāti norāda, ka abi marķieri var tikt izmantoti neuroendokrīnas diferenciācijas izvērtēšanai audzējos. Tā ir praktiski svarīga atrade, jo, ja neuroendokrīnās šūnas veido 30–50% no maligno šūnu populācijas, tāds audzējs ir klasificējams kā jaukta duktāli-endokrīna karcinoma (75). Tā kā rezultāti par endokrīno šūnu klātbūtni invazīvajos apvidos ir pretrunīgi, neuroendokrīna diferenciācija būtu jāizvērtē audzēja vidusdaļas audu materiālā (116). Neuroendokrīnas diferenciācijas

prognostiskā vērtība ADDA grupā ir pretrunīga. *Tezel et al.* un *Pour et al.* aprakstīja pozitīvu efektu uz pacientu izdzīvotības laiku, ja ADDA audos ir augstāks endokrīno šūnu skaits, bet *Linder et al.* darbā un šajā pētījumā šāda asociācija netika atrasta (85; 110;131).

AEA gadījumos neiroendokrīnie marķieri ir primārie diagnostikas līdzekļi. Tā kā abu marķieru hromogranīna A un CD56 ekspresija ir redzama AEA gadījumos un arī visos gadījumos ar aizkuņģa dziedzera SBN ar vienādu mediāno pozitīvo šūnu relatīvo skaitu, abi marķieri var tikt vienādi izmantoti aizkuņģa dziedzera endokrīno audzēju diagnostikā. Līdzīgi rezultāti ir redzami *Yachida et al.* pētījumā (29; 137).

Vimentīns. Vimentīns ir galvenais intermediārais filaments mezenhimālās šūnās. Tā galvenā loma ir kontrolēt šūnu motilitāti, migrācijas virzienu un šūnu signālus (37). Malignās aizkuņģa dziedzera izvadu epiteliālās šūnas EMT laikā iegūst vimentīna ekspresiju un zaudē E-kadherīna ekspresiju; tādējādi audzējs iegūst invazivitāti, spēju metastazēt un veidot vēža cilmes šūnas, kā arī rezistenci pret ķīmijterapiju (79).

Šajā pētījumā EMT biežums ADDA grupā (16,2%) bija zemāks, nekā novērots *Handra-Luca et al.* pētījumā: 45% gadījumu (49). EMT netika konstatēta aizkuņģa dziedzera SBN. AEA audos EMT konstatēts 35,7% gadījumu vidēji 37,7% neoplastisko šūnu.

Veiktajā pētījumā konstatēta korelācija starp vimentīna ekspresiju ADDA audos un attālu metastāžu attīstību ($p = 0,011$) ar ļoti izteiktu parametra ietekmi ($AUC = 0,915$; 95% TI = 0,832–0,999; $p = 0,046$). ADDA gadījumos vimentīna ekspresijai ir tendence korelēt ar audzēja izmēru, kas arī korelē ar biežāku metastāžu attīstību. AEA audos savukārt konstatēta pozitīva korelācija starp vimentīna ekspresiju un CK 19 ($p = 0,041$), kurš arī saistīts ar palielinātu AEA invazivitāti. Tādējādi var teikt, ka agresīvam AEA raksturīga malignā triāde – palielināta Ki-67, CK 19 un vimentīna ekspresija.

Vimentīns ir nozīmīgs prognostiskais marķieris, kas tika pierādīts šajā un vairākos citos pētījumos (49; 63), t.i., ADDA pacientiem bez vimentīna ekspresijas audzējā mediānais izdzīvotības laiks bija 14 mēneši, bet ar pozitīvu ekspresiju – 4 mēneši šajā pētījumā. Atšķirība bija statistiski ticama.

EMT iespēja aizkuņģa dziedzera adenokarcinomās un endokrīnos audzējos jāņem vērā arī, veicot imūnhistoķīmisku diagnostisko izmeklēšanu, lai noteiktu metastātiska vēža histogēnēzi.

Mikrovaskularizācijas blīvums (CD34). MVB analīzē atklāts, ka ADDA stroma ir statistiski nozīmīgi mazāk vaskularizēta nekā normāla

aizkuņģa dziedzera parenhīma, t.i., mediānais vaskulāru struktūru skaits bija 44,5 (IQR = 30) *versus* 81,0 (IQR = 29). Turpretim vaskularizācijas blīvumam nav statistiski nozīmīgas atšķirības starp AEA un aizkuņģa dziedzera SBN, respektīvi: 75,5 (IQR = 43) *versus* 81,0 (IQR = 45) asinsvadi. Vairāki autori raksta, ka MVB trūkst prognostiskas nozīmes, tomēr atsevišķi pētījumi norāda vaskularizācijas nozīmi gan ADDA, gan AEA pacientu izdzīvotībā (25; 30; 38; 59; 129; 138; 145). Šajā pētījumā MVB tika atrasta robežvērtība (55 vaskulāras struktūras/ APRL, 400x palielinājumā, laukums 0,65 mm²), pēc kura pacientu mediānajam izdzīvotības laikam bija tendence atšķirties. Iespējams, ka MVB varētu būt noderīgs prognostiskais faktors, stingri ievērojot noteikumu, ka tā izvērtēšana tiek veikta standartizētos apstākļos un CD34 pozitīvas vārpstveida fibroblastu tipa šūnas tiek izslēgtas no MVB datiem. Imūnhistoķīmiskos angioģenēzes pētījumos ziņots par nozīmīgu asociāciju starp audzēja hipoksiju samazinātas asinsplūsmas dēļ un samazinātu progresijas brīvu dzīvildzi (47).

COX-2. Ciklooksigenāze 2 ir enzīms, kas nosaka prostaglandīnu sintēzes ātrumu arahidonskābes ceļā (29). Starp gastrointestinālajiem audzējiem COX-2 ekspresija ir novērota kuņģa, kolorektālās un aizkuņģa dziedzera karcinomās (29). Vairāki pētījumi apstiprina, ka audzējiem ar palielinātu COX-2 ekspresiju ir slikts klīniskais iznākums, kamēr pacientiem, kuri saņem ilgstošu nesteroido pretiekaisuma līdzekļu terapiju, vēža izraisītais nāves risks samazinās (26).

Tā kā COX-2 ietekmē šūnu proliferāciju un angioģenēzi, vairāki autori min hipotēzi, ka ADDA pacientiem ar COX-2 ekspresiju ir īsāks izdzīvotības laiks. No otras puses, zinot, ka COX-2 inhibitori inhibē proliferāciju un inducē apoptozi aizkuņģa dziedzera šūnu kultūrās, ir iespēja iekļaut šādus medikamentus aizkuņģa dziedzera vēža terapijā (94; 97; 126). Tā kā šajā pētījumā ADDA audos pozitīva COX-2 ekspresija tika novērota vidēji tikai 23,8% no audzēja šūnām un AEA gadījumos pat retāk (6,2%), COX-2 inhibitori varētu būt noderīgi tikai kā daļa no kompleksas terapijas. Arī *Bergmann et al.* uzsvēra, ka COX-2 varētu būt noderīgs kā papildus mērķis ķīmijterapijā AEA ārstēšanai (9).

Šajā pētījumā ADDA un AEA gadījumos ar palielinātu COX-2 ekspresiju konstatēta biežāka limfogēna invāzija un izplatība. Pretēju situāciju novēroja *Juuti et al.* Viņi atklāja, ka COX-2 netiek ekspresēts ADDA ar attālām metastāzēm (67). Pretstatā tam, šajā pētījumā visiem pacientiem ar attālām ADDA metastāzēm konstatēta COX-2 ekspresiju audzēja šūnās. Kaut arī esošais pētījums nepierāda tiešu prognostisku vērtību ADDA un AEA

gadījumos, tomēr tas parāda nozīmīgu COX-2 negatīvo ietekmi audzēja raksturā. *Lozano-Leon et al.* piekrīt, ka COX-2 ekspresijai ir ietekme uz karcinoģenēzi apoptozes inhibīcijas un pieaugošas vēža šūnu invazitātes dēļ (89).

4. SECINĀJUMI

1. Izmeklēto pacientu mediānais izdzīvotības laiks pēc aizkuņģa dziedzera duktālas adenokarcinomas potenciāli radikālas ķirurģiskas terapijas ir 11,0 mēneši. Izdzīvotības rādītāji, ieskaitot perioperatīvo nāves gadījumu skaitu, atbilst pasaules datiem. Demogrāfiskais fons un ķirurģiskā taktika atbilst globālai atradei un pieredzei. Tomēr dzimuma sadalījumu var ietekmēt populācijas vecuma un dzimuma struktūra.
2. Aizkuņģa dziedzera endokrīnu audzēju pacientiem ir statistiski un bioloģiski nozīmīgi labvēlīgāka prognoze, visa izsekošanas perioda beigās miruši bija 14,3% pacienti.
3. Aizkuņģa dziedzera duktālu adenokarcinomu gadījumā mediānais izdzīvotības laiks nozīmīgi korelē ar audzēja diferenciācijas pakāpi, invāziju lielajos asinsvados un audzēja nekrozi. Pastāv tendence mediānajam izdzīvotības laikam būt atkarīgam no limfas mezglu stāvokļa, audzēja stadijas, rezekcijas līniju stāvokļa un perineirālas vēža invāzijas.
4. Attiecībā uz molekulāro profilu, mediānais izdzīvotības laiks bija nozīmīgi īsāks ADDA pacientiem ar vimentīna ekspresiju, CD44 klātbūtni vai p27 ekspresijas zudumu. Tendence uz īsāku mediāno izdzīvotības laiku saistījās arī ar zemu angioģenēzi.
5. Aizkuņģa dziedzera duktālu adenokarcinomu klīniskais un morfoloģiskais raksturojums lokālā populācijā ietver lielu skaitu nelabvēlīgu faktoru, iekļaujot izteiktu lokālo izplatību pat gadījumos, kuri pakļaujas ķirurģiskai terapijai, biežu ekstrapankreatisko orgānu un audu iesaisti, biežu metastāžu klātbūtni, zemu diferenciācijas pakāpi un augstu audzēja stadiju. Perineirāla audzēja invāzija saistās ar augstu pT un biežu pR1.
6. Saistībā ar ADDA, molekulāro parametru konstelācija kā vidēji aktīva proliferācija, p53 un CD44 ekspresija, zema angioģenēze un bieža EMT ierobežo sistēmiskas terapijas iespējas, liecinot, ka ķirurģiska iejaukšanās šobrīd ir vissvarīgākais ārstēšanas veids.
7. Aizkuņģa dziedzera duktālām adenokarcinomām šūnas cikla regulators p21, p27, ciklīns D1, kā arī citokeratīns 19, epiteliāli mezenhimālā transformācija ar vimentīna ekspresiju, COX-2 un CD44 ir svarīgi molekulārie mehānismi. Tie ir saistīti ar kardinālām karcinoģenēzes īpašībām, ieskaitot šūnu proliferāciju, invāzīvu augšanu un metastāžu attīstību, kas izpaužas ar audzēja izmēru, diferenciācijas pakāpi, limfas mezglu stāvokli un attālu metastāžu klātbūtni.

8. Aizkuņģa dziedzera endokrīnos audzējos svarīgi molekulāri mērķi ir E-kadherīns un CK 19, kuri nozīmīgi saistās ar audzēja proliferāciju, invazitāti, EMT un angiogēnēzi, kā arī ar svarīgiem klīniskiem parametriem, ieskaitot audzēja lokālo izplatību un lielumu, pakāpi un rezekcijas līniju stāvokli.
9. Aizkuņģa dziedzera adenokarcinomu vidū pastāv apakšgrupas ar intestinālu un skvamožu diferenciāciju. Šādam imūnfenotipam ir diagnostiska nozīme, kā arī specifiska asociācija ar audzēja gaitu.
10. Angiogēnēze ADDA audos saistās ar izdzīvotības laiku, kā arī ar endokrīnu diferenciāciju un CD44. AEA audos mikrovaskulārais blīvums ir saistīts ar invāziju mazajos asinsvados, mitožu skaitu, kā arī p53, ciklīna D1, E-kadherīna, CK 19 un p63 ekspresijas līmeņiem.

5. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Aizkuņģa dziedzera operācijas materiāla morfoloģisko izmeklēšanu ieteicams veikt, izmantojot izstrādāto diagnostisko protokolu. Galvenās prasības ietver atbilstošu pTNM parametru identifikāciju, aizkuņģa dziedzera secīgu griezumu izvērtēšana, ievērojot 5 mm intervālu, rūpīga limfas mezglu identifikācija un pilnīga visu rezekcijas līniju izmeklēšana kopā ar peripankreatiskās rezekcijas līnijas iekrāsošanu.
2. Plānojot ķirurģiskās ārstēšanas iespējamību, ārstam jābūt informētam par pozitīvo rezekcijas līniju biežo atradi lokālā populācijā, kā arī pR1 sakarību ar audzēja izmēru virs 2 cm un perineirālu invāziju. Lai nodrošinātu adekvātu pN1 atradi, jāizņem pietiekams limfas mezglu skaits.
3. Ieteicams būt uzmanīgam ar ADDA imūnfenotipu, izmeklējot metastātisku karcinomu audus. ADDA var attīstīties skvamoza un intestināla diferenciācija. ADDA imūnfenotips ir raksturīgs, bet ne specifisks.
4. Ja ir klīniskas vai morfoloģiskas diagnostiskas grūtības aizkuņģa dziedzera endokrīno audzēju diferenciālajā diagnostikā, ieteicama imūnhistoķīmiska neiroendokrīno marķieru izmeklēšana. Neiroendokrīnos audzējos sagaidāma difūza marķiera ekspresija, pretēji fokālai ekspresijai ADDA audos.
5. Lai noteiktu precīzāku prognozi saistībā ar personalizētas medicīnas prasībām, ieteicams izmeklēt aizkuņģa dziedzera audos sekojošus prognostiski svarīgus morfoloģiskus parametrus: ADDA *versus* AEA, ADDA gadījumos – audzēja diferenciācijas pakāpi un stadiju, īpaši pN, invāziju lielajos asinsvados, audzēja nekrozi, pR un perineirālu invāziju, jo šie faktori vēl arvien saglabā prognostisku lomu.
6. Lai personalizētas medicīnas ērā precīzāk novērtētu aizkuņģa dziedzera audzēja prognozi, ieteicams noteikt sekojošus imūnhistoķīmiskus parametrus: vimentīns, CD44, p27, MVB ADDA gadījumos, kā arī Ki-67, E-kadherīns un CK19 AEA grupā.

6. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Alao J.P. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention // *Mol Cancer*, 2007; 6: 24; doi: 10.1186/1476-4598-6-24.
2. Al-Sukhni W., Rothenmund H., Borgida A.E., et al. Germline BRCA1 mutations predispose to pancreatic adenocarcinoma // *Hum Genet*, 2008; 124 (3): 271–278.
3. Altman D., Machin D., Bryant T., Gardner S. Statistics with confidence: confidence interval and statistical guidelines. – 2nd ed. – Bristol: BMJ Books, 2000.
4. An W., Ben Q.W., Chen H.T., et al. Low expression of IGFBP7 is associated with poor outcome of pancreatic ductal adenocarcinoma // *Ann Surg Oncol*, 2012; 19 (12): 3971–3978.
5. Andrén-Sandberg A., Hoem D., Derveniz Ch. Epidemiology and risk factors for exocrine pancreatic cancer // *Ann Gastroenterol*, 2000; 13 (3): 168–187.
6. Arumugam T., Ramachandran V., Fournier K.F., et al. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer // *Cancer Res*, 2009; 69 (14): 5820–5828.
7. Bayrak R., Haltas H., Yenidunya S. The value of CDX2 and cytokeratins 7 and 20 expression in differentiating colorectal adenocarcinomas from extraintestinal gastrointestinal adenocarcinomas: cytokeratin 7-/20+ phenotype is more specific than CDX2 antibody // *Diagn Pathol*, 2012; 7: 9; doi: 10.1186/1746-1596-7-9.
8. Beger C., Ramadani M., Meyer S., et al. Down-regulation of BRCA1 in chronic pancreatitis and sporadic pancreatic adenocarcinoma // *Clin Cancer Res*, 2004; 10 (11): 3780–3787.
9. Bergmann F., Breinig M., Höpfner M., et al. Expression pattern and functional relevance of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2: novel chemotherapeutic targets in pancreatic endocrine tumors? // *Am J Gastroenterol*, 2009; 104 (1): 171–181.
10. Bettini R., Boninsegna L., Mantovani W., et al. Prognostic factors at diagnosis and value of WHO classification in a mono-institutional series of 180 non-functioning pancreatic endocrine tumours // *Ann Oncol*, 2008; 19 (5): 903–908.
11. Biankin A.V., Morey A.L., Lee C.S., et al. DPC4/Smad4 expression and outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma // *J Clin Oncol*, 2002; 20 (23): 4531–4542.
12. Bilimoria K.Y., Bentrem D.J., Ko C.Y., et al. Validation of the 6th edition AJCC Pancreatic Cancer Staging System: report from the National Cancer Database // *Cancer*, 2007; 110 (4): 738–744.
13. Cai Y.C., Banner B., Glickman J., Odze R.D. Cytokeratin 7 and 20 and thyroid transcription factor 1 can help distinguish pulmonary from gastrointestinal carcinoid and pancreatic endocrine tumors // *Hum Pathol*, 2001; 32 (10): 1087–1093.
14. Canzonieri V., Colarossi C., Del Col L., et al. Exocrine and endocrine modulation in common gastric carcinoma // *Am J Clin Pathol*, 2012; 137 (5): 712–721.
15. Cazzalini O., Scovassi A.I., Savio M., et al. Multiple roles of the cell cycle inhibitor p21(CDKN1A) in the DNA damage response // *Mutat Res*, 2010; 704 (1-3): 12–20.

16. Chang H.J., Batts K.P., Lloyd R.V., et al. Prognostic significance of p27, Ki-67, and topoisomerase IIa expression in clinically nonfunctioning pancreatic endocrine tumors // *Endocr Pathol*, 2000; 11 (3): 229–241.
17. Chang M.C., Xiao S., Nosé V. Clinicopathologic and immunohistochemical correlation in sporadic pancreatic endocrine tumors: possible roles of utrophin and cyclin D1 in malignant progression // *Hum Pathol*, 2007; 38 (5): 732–740.
18. Chaudhry A., Gobl A., Eriksson B., et al. Different splice variants of CD44 are expressed in gastrinomas but not in other subtypes of endocrine pancreatic tumors // *Cancer Res*, 1994; 54 (4): 981–986.
19. Chen Z., Sangwan V., Banerjee S., et al. Triptolide sensitizes pancreatic cancer cells to TRAIL-induced activation of the death receptor pathway // *Cancer Lett*, 2014; 348 (1-2): 156–166.
20. Chetty R., Serra S., Asa S.L. Loss of membrane localization and aberrant nuclear E-cadherin expression correlates with invasion in pancreatic endocrine tumors // *Am J Surg Pathol*, 2008; 32 (3): 413–419.
21. Chu I.M., Hengst L., Slingerland J.M. The Cdk inhibitor p27 in human cancer: prognostic potential and relevance to anticancer therapy // *Nat Rev Cancer*, 2008; 8 (4): 253–267.
22. Chu P.G., Weiss L.M. Expression of cytokeratin 5/6 in epithelial neoplasms: an immunohistochemical study of 509 cases // *Mod Pathol*, 2002; 15 (1): 6–10.
23. Ciccarelli C., Marampon F., Scoglio A., et al. p21WAF1 expression induced by MEK/ERK pathway activation or inhibition correlates with growth arrest, myogenic differentiation and onco-phenotype reversal in rhabdomyosarcoma cells // *Mol Cancer*, 2005; 4: 41; doi: 10.1186/1476-4598-4-41.
24. Cleary S.P., Gryfe R., Guindi M., et al. Prognostic factors in resected pancreatic adenocarcinoma: analysis of actual 5-year survivors // *J Am Coll Surg*, 2004; 198 (5): 722–731.
25. Couvelard A., O'Toole D., Turley H., et al. Microvascular density and hypoxia-inducible factor pathway in pancreatic endocrine tumours: negative correlation of microvascular density and VEGF expression with tumour progression // *Br J Cancer*, 2005; 92 (1): 94–101.
26. Crosby C.G., DuBois R.N. The cyclooxygenase-2 pathway as a target for treatment or prevention of cancer // *Expert Opin Emerg Drugs*, 2003; 8 (1): 1–7.
27. CSDB, 2012. IMG014. Mirušo vidėjais vecums (gadi) // http://data.csb.gov.lv/pxweb/lv/Sociala/Sociala_ikgad_iedz_mirst/IM0014.px/table/tableViewLayout1/?rxid=09cbdccf-2334-4466-bdf7-0051bad1decd (28.05.2014).
28. Culhaci N., Sagol O., Karademir S., et al. Expression of transforming growth factor-beta-1 and p27Kip1 in pancreatic adenocarcinomas: relation with cell-cycle-associated proteins and clinicopathologic characteristics // *BMC Cancer*, 2005; 5: 98; doi: 10.1186/1471-2407-5-98.
29. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications. – 4th ed. – Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014.
30. d'Assignies G., Couvelard A., Bahrami S., et al. Pancreatic endocrine tumors: tumor blood flow assessed with perfusion CT reflects angiogenesis and correlates with prognostic factors // *Radiology*, 2009; 250 (2): 407–416.

31. Deshpande V., Fernandez-del Castillo C., Muzikansky A., et al. Cytokeratin 19 is a powerful predictor of survival in pancreatic endocrine tumors // *Am J Surg Pathol*, 2004; 28 (9): 1145–1153.
32. Dong M., Zhou J.P., Zhang H., et al. Clinicopathological significance of Bcl-2 and Bax protein expression in human pancreatic cancer // *World J Gastroenterol*, 2005; 11 (18): 2744–2747.
33. Edge S.B., Byrd D.R., Compton C.C., et al. The AJCC cancer staging handbook. – 7th ed. – New York: Springer, 2010. – Pp. 285–296.
34. Ekeblad S., Lejonklou M.H., Stålberg P., Skogseid B. Prognostic relevance of survivin in pancreatic endocrine tumors // *World J Surg*, 2012; 36 (6): 1411–1418.
35. Ekeblad S., Skogseid B., Dunder K., et al. Prognostic factors and survival in 324 patients with pancreatic endocrine tumor treated at a single institution // *Clin Cancer Res*, 2008; 14 (23): 7798–7803.
36. el-Deiry W.S., Tokino T., Velculescu V.E., et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression // *Cell*, 1993; 75 (4): 817–825.
37. Eriksson J.E., Dechat T., Grin B., et al. Introducing intermediate filaments: from discovery to disease // *J Clin Invest*, 2009; 119 (7): 1763–1771.
38. Esposito I., Menicagli M., Funel N., et al. Inflammatory cells contribute to the generation of an angiogenic phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma // *J Clin Pathol*, 2004; 57 (6): 630–636.
39. Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J., et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012 // *Eur J Cancer*, 2013; 49 (6): 1374–1403.
40. Fukumoto A., Ikeda N., Sho M., et al. Prognostic significance of localized p27Kip1 and potential role of Jab1/CSN5 in pancreatic cancer // *Oncol Rep*, 2004; 11 (2): 277–284.
41. Gachechiladze M., Uberall I., Kolek V., et al. Correlation between BRCA1 expression and clinicopathological factors including brain metastases in patients with non-small-cell lung cancer // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2013; 157 (3): 227–232.
42. Gansauge F., Gansauge S., Zobywalski A., et al. Differential expression of CD44 splice variants in human pancreatic adenocarcinoma and in normal pancreas // *Cancer Res*, 1995; 55 (23): 5499–5503.
43. Goldstein N.S., Bassi D. Cytokeratins 7, 17, and 20 reactivity in pancreatic and ampulla of Vater adenocarcinomas. Percentage of positivity and distribution is affected by the cut-point threshold // *Am J Clin Pathol*, 2001; 115 (5): 695–702.
44. Gui T., Sun Y., Shimokado A., Muragaki Y. The roles of mitogen-activated protein kinase pathways in TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition // *J Signal Transduct*, 2012; 2012: 289243; doi: 10.1155/2012/289243.
45. Guo S.S., Wu X., Shimoide A.T., et al. Frequent overexpression of cyclin D1 in sporadic pancreatic endocrine tumours // *J Endocrinol*, 2003; 179 (1): 73–79.
46. Guzman G., Chejfec G. Tumors of the digestive system // *Cancer grading manual* / Ed. by Damjanov I., Fan F. New York: Springer, 2007. – Pp. 35–46.
47. Haldorsen I.S., Stefansson I., Grüner R., et al. Increased microvascular proliferation is negatively correlated to tumour blood flow and is associated with unfavourable outcome in endometrial carcinomas // *Br J Cancer*, 2014; 110 (1): 107–114.

48. Han X., Zhao J., Ji Y., et al. Expression of CK19 and KIT in resectable pancreatic neuroendocrine tumors // *Tumour Biol*, 2013; 34 (5): 2881–2889.
49. Handra-Luca A., Hong S.M., Walter K., et al. Tumour epithelial vimentin expression and outcome of pancreatic ductal adenocarcinomas // *Br J Cancer*, 2011; 104 (8): 1296–1302.
50. Hashim Y.M., Spitzer D., Vangveravong S., et al. Targeted pancreatic cancer therapy with the small molecule drug conjugate SW IV-134 // *Mol Oncol*, 2014; 8 (5): 956–967.
51. Haynes A.B., Deshpande V., Ingkakul T., et al. Implications of incidentally discovered, nonfunctioning pancreatic endocrine tumors: short-term and long-term patient outcomes // *Arch Surg*, 2011; 146 (5): 534–538.
52. Heitz Ph.U., Komminoth P., Perren A., et al. Pancreatic endocrine tumours: introduction // *World Health Organisation classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs* / Ed. by DeLellis R.A., Lloyd R.V., Heitz P.U., Eng C. Lyon: IARC Press, 2004. – Pp. 177–182.
53. Hong S.M., Li A., Olino K., et al. Loss of E-cadherin expression and outcome among patients with resectable pancreatic adenocarcinomas // *Mod Pathol*, 2011; 24 (9): 1237–1247.
54. Hong S.P., Wen J., Bang S., et al. CD44-positive cells are responsible for gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells // *Int J Cancer*, 2009; 125 (10): 2323–2331.
55. Hou Y.C., Chao Y.J., Tung H.L., et al. Coexpression of CD44-positive/CD133-positive cancer stem cells and CD204-positive tumor-associated macrophages is a predictor of survival in pancreatic ductal adenocarcinoma // *Cancer*, 2014; doi: 10.1002/cncr.28774. [Epub ahead of print] (viewed 27.07.2014).
56. Hu H.Y., Liu H., Zhang J.W., et al. Clinical significance of Smac and Ki-67 expression in pancreatic cancer // *Hepatogastroenterology*, 2012; 59 (120): 2640–2643.
57. Hurtuk M.G., Godambe A.S., Shoup M., et al. Support for a postresection prognostic score for pancreatic endocrine tumors // *Am J Surg*, 2011; 201 (3): 406–410.
58. Iguchi H., Urashima Y., Inagaki Y., et al. SOX6 suppresses cyclin D1 promoter activity by interacting with beta-catenin and histone deacetylase 1, and its down-regulation induces pancreatic beta-cell proliferation // *J Biol Chem*, 2007; 282 (26): 19052–19061.
59. Ikeda N., Adachi M., Taki T., et al. Prognostic significance of angiogenesis in human pancreatic cancer // *Br J Cancer*, 1999; 79 (9-10): 1553–1563.
60. Imam H., Eriksson B., Oberg K. Expression of CD44 variant isoforms and association to the benign form of endocrine pancreatic tumours // *Ann Oncol*, 2000; 11 (3): 295–300.
61. Immervoll H., Hoem D., Steffensen O.J., et al. Visualization of CD44 and CD133 in normal pancreas and pancreatic ductal adenocarcinomas: non-overlapping membrane expression in cell populations positive for both markers // *J Histochem Cytochem*, 2011; 59 (4): 441–455.
62. Jamieson N.B., Carter C.R., McKay C.J., Oien K.A. Tissue biomarkers for prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma: a systematic review and meta-analysis // *Clin Cancer Res*, 2011; 17 (10): 3316–3331.

63. Javle M.M., Gibbs J.F., Iwata K.K., et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) and activated extracellular signal-regulated kinase (p-Erk) in surgically resected pancreatic cancer // *Ann Surg Oncol*, 2007; 14 (12): 3527–3533.
64. Jimeno A., Feldmann G., Suárez-Gauthier A., et al. A direct pancreatic cancer xenograft model as a platform for cancer stem cell therapeutic development // *Mol Cancer Ther*, 2009; 8 (2): 310–314.
65. Jonkers Y.M., Claessen S.M., Veltman J.A., et al. Molecular parameters associated with insulinoma progression: chromosomal instability versus p53 and CK19 status // *Cytogenet Genome Res*, 2006; 115 (3-4): 289–297.
66. Jorda M., Ghorab Z., Fernandez G., et al. Low nuclear proliferative activity is associated with nonmetastatic islet cell tumors // *Arch Pathol Lab Med*, 2003; 127 (2): 196–199.
67. Juuti A., Louhimo J., Nordling S., et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with poor prognosis in pancreatic cancer // *J Clin Pathol*, 2006; 59 (4): 382–386.
68. Juuti A., Nordling S., Louhimo J., et al. Loss of p27 expression is associated with poor prognosis in stage I-II pancreatic cancer // *Oncology*, 2003; 65 (4): 371–377.
69. Kanthan R., Fried I., Rueckl T., et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma // *World J Surg Oncol*, 2010; 8: 10; doi: 10.1186/1477-7819-8-10.
70. Karamitopoulou E., Zlobec I., Tornillo L., et al. Differential cell cycle and proliferation marker expression in ductal pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) // *Pathology*, 2010; 42 (3): 229–234.
71. Kawesha A., Ghaneh P., Andrén-Sandberg A., et al. K-ras oncogene subtype mutations are associated with survival but not expression of p53, p16(INK4A), p21(WAF-1), cyclin D1, erbB-2 and erbB-3 in resected pancreatic ductal adenocarcinoma // *Int J Cancer*, 2000; 89 (6): 469–474.
72. Kim H.S., Lee H.S., Nam K.H., et al. p27 loss is associated with poor prognosis in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors // *Cancer Res Treat*, 2014; doi: 10.4143/crt.2013.102. [Epub ahead of print] (viewed 26.07.2014).
73. Kim M.J., Choi D.W., Choi S.H., et al. Surgical strategies for non-functioning pancreatic neuroendocrine tumours // *Br J Surg*, 2012; 99 (11): 1562–1568.
74. Kishi Y., Shimada K., Nara S., et al. Basing treatment strategy for non-functional pancreatic neuroendocrine tumors on tumor size // *Ann Surg Oncol*, 2014; 21 (9): 2882–2888.
75. Klöppel G., Hruban R.H., Longnecker D.S., et al. Ductal adenocarcinoma of the pancreas // *World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system* / Ed. by Hamilton S.R., Aaltonen L.A. – Lyon: IARC Press, 2000. – Pp. 221–230.
76. Koff A. How to decrease p27Kip1 levels during tumor development // *Cancer Cell*, 2006; 9 (2): 75–76.
77. Konstantinidis I.T., Warshaw A.L., Allen J.N., et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: is there a survival difference for R1 resections versus locally advanced unresectable tumors? What is a "true" R0 resection? // *Ann Surg*, 2013; 257 (4): 731–736.
78. Koyuncuer A. Immunohistochemical expression of p63, p53 in urinary bladder carcinoma // *Indian J Pathol Microbiol*, 2013; 56 (1): 10–15.

79. Krantz S.B., Shields M.A., Dangi-Garimella S., et al. Contribution of epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells to pancreatic cancer progression // *J Surg Res*, 2012; 173 (1): 105–112.
80. Lebe B., Sağol O., Ulukuş C., et al. The importance of cyclin D1 and Ki67 expression on the biological behavior of pancreatic adenocarcinomas // *Pathol Res Pract*, 2004; 200 (5): 389–396.
81. Li C., Lee C.J., Simeone D.M. Identification of human pancreatic cancer stem cells // *Methods Mol Biol*, 2009; 568: 161–173.
82. Li Y.J., Meng Y.X., Ji X.R. Relationship between expressions of E-cadherin and alpha-catenin and biological behaviors of human pancreatic cancer // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2003; 2 (3): 471–477.
83. Lim J.E., Chien M.W., Earle C.C. Prognostic factors following curative resection for pancreatic adenocarcinoma: a population-based, linked database analysis of 396 patients // *Ann Surg*, 2003; 237 (1): 74–85.
84. Lin F., Prichard J. Handbook of practical immunohistochemistry. Frequently asked questions. New York: Springer, 2011. – Pp. 367–388.
85. Linder S., Myrvold K., Falkmer U.G., et al. Neuroendocrine cells in pancreatic duct adenocarcinoma: an immunohistochemical study // *J Exp Clin Cancer Res*, 2006; 25 (2): 213–221.
86. Linder S., Parrado C., Falkmer U.G., et al. Prognostic significance of Ki-67 antigen and p53 protein expression in pancreatic duct carcinoma: a study of the monoclonal antibodies MIB-1 and DO-7 in formalin-fixed paraffin-embedded tumour material // *Br J Cancer*, 1997; 76 (1): 54–59.
87. Liu H., Shi J., Anandan V., et al. Reevaluation and identification of the best immunohistochemical panel (pVHL, Maspain, S100P, IMP-3) for ductal adenocarcinoma of the pancreas // *Arch Pathol Lab Med*, 2012; 136 (6): 601–609.
88. Lloyd R.V., Hardin H., Montemayor-Garcia C., et al. Stem cells and cancer stem-like cells in endocrine tissues // *Endocr Pathol*, 2013; 24 (1): 1–10.
89. Lozano-Leon A., Perez-Quintela B.V., Iglesias-García J., et al. Ductal adenocarcinoma of the pancreas: Expression of growth factor receptors, oncogenes and suppressor genes, and their relationship to pathological features, staging and survival // *Oncol Lett*, 2011; 2 (1): 161–166.
90. Lu C.D., Morita S., Ishibashi T., et al. Loss of p27Kip1 expression independently predicts poor prognosis for patients with resectable pancreatic adenocarcinoma // *Cancer*, 1999; 85 (6): 1250–1260.
91. Maginn E.N., de Sousa C.H., Wasan H.S., Stronach E.A. Opportunities for translation: Targeting DNA repair pathways in pancreatic cancer // *Biochim Biophys Acta*, 2014; 1846 (1): 45–54.
92. Markiewicz A., Ahrends T., Wełnicka-Jaśkiewicz M., et al. Expression of epithelial to mesenchymal transition-related markers in lymph node metastases as a surrogate for primary tumor metastatic potential in breast cancer // *J Transl Med*, 2012; 10: 226; doi: 10.1186/1479-5876-10-226.
93. Markowska J., Bar J., Mądry R., et al. The expression of BRCA1, P53, KAI1, and Nm23 in ovaries of BRCA1 mutation carriers after prophylactic adnexectomy // *Arch Gynecol Obstet*, 2013; 288 (4): 839–844.
94. Masferrer J.L., Leahy K.M., Koki A.T., et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors // *Cancer Res*, 2000; 60 (5): 1306–1311.

95. Masugi Y., Yamazaki K., Hibi T., et al. Solitary cell infiltration is a novel indicator of poor prognosis and epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer // *Hum Pathol*, 2010; 41 (8): 1061–1068.
96. Matros E., Bailey G., Clancy T., et al. Cytokeratin 20 expression identifies a subtype of pancreatic adenocarcinoma with decreased overall survival // *Cancer*, 2006; 106 (3): 693–702.
97. Matsubayashi H., Infante J.R., Winter J., et al. Tumor COX-2 expression and prognosis of patients with resectable pancreatic cancer // *Cancer Biol Ther*, 2007; 6 (10): 1569–1575.
98. McCall C.M., Shi C., Cornish T.C., et al. Grading of well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors is improved by the inclusion of both Ki67 proliferative index and mitotic rate // *Am J Surg Pathol*, 2013; 37 (11): 1671–1677.
99. Mielko J., Polkowski W.P., Skomra D.G., et al. Prognostic value of p27 kip1 expression in adenocarcinoma of the pancreatic head region // *HPB (Oxford)*, 2006; 8 (3): 216–222.
100. Mohammed A., Janakiram N.B., Brewer M., et al. Antidiabetic drug metformin prevents progression of pancreatic cancer by targeting in part cancer stem cells and mTOR signaling // *Transl Oncol*, 2013; 6 (6): 649–659.
101. Niederhuber J.E., Brennan M.F., Menck H.R. The National Cancer Data Base report on pancreatic cancer // *Cancer*, 1995; 76 (9): 1671–1677.
102. Öberg K. Neuroendocrine tumours in 2012: Insights into signalling pathways could individualize therapy // *Nat Rev Endocrinol*, 2013; 9 (2): 70–72.
103. Öberg K., Knigge U., Kwekkeboom D., et al. Neuroendocrine gastro-entero-pancreatic tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Ann Oncol*, 2012; 23 (Suppl 7): vii124–130.
104. Ohike N., Morohoshi T. Pathological assessment of pancreatic endocrine tumors for metastatic potential and clinical prognosis // *Endocr Pathol*, 2005; 16 (1): 33–40.
105. Oncel S., Cosgul T., Calli A., et al. Evaluation of p53, p63, p21, p27, ki-67 in paranasal sinus squamous cell carcinoma and inverted papilloma // *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2011; 63 (2): 172–177.
106. Oshima M., Okano K., Muraki S., et al. Immunohistochemically detected expression of 3 major genes (CDKN2A/p16, TP53, and SMAD4/DPC4) strongly predicts survival in patients with resectable pancreatic cancer // *Ann Surg*, 2013; 258 (2): 336–346.
107. Partelli S., Gaujoux S., Boninsegna L., et al. Pattern and clinical predictors of lymph node involvement in nonfunctioning pancreatic neuroendocrine tumors (NF-PanNETs) // *JAMA Surg*, 2013; 148 (10): 932–939.
108. Piani C., Franchi G.M., Cappelletti C., et al. Cytological Ki-67 in pancreatic endocrine tumours: an opportunity for pre-operative grading // *Endocr Relat Cancer*, 2008; 15 (1): 175–181.
109. Pomianowska E., Gladhaug I.P., Grzyb K., et al. Survival following resection of pancreatic endocrine tumors: importance of R-status and the WHO and TNM classification systems // *Scand J Gastroenterol*, 2010; 45 (7-8): 971–979.
110. Pour P.M., Permert J., Mogaki M., et al. Endocrine aspects of exocrine cancer of the pancreas. Their patterns and suggested biologic significance // *Am J Clin Pathol*, 1993; 100 (3): 223–230.

111. Proca D.M., Frankel W.L. Pancreatic endocrine tumors-c-erb B2 (Her-2/neu), bcl-2, and p-53 immunohistochemical testing and their value in assessing prognosis // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2008; 16 (1): 44–47.
112. Reid M.D., Balci S., Saka B., Adsay N.V. Neuroendocrine tumors of the pancreas: current concepts and controversies // *Endocr Pathol*, 2014; 25 (1): 65–79.
113. Rindi G., Falconi M., Klersy C., et al. TNM staging of neoplasms of the endocrine pancreas: results from a large international cohort study // *J Natl Cancer Inst*, 2012; 104 (10): 764–777.
114. Ringel J., Jesnowski R., Schmidt C., et al. CD44 in normal human pancreas and pancreatic carcinoma cell lines // *Teratog Carcinog Mutagen*, 2001; 21 (1): 97–106.
115. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. – 9th ed. – Edinburgh: Mosby, 2004. – Pp. 37–1114.
116. Sakaki M., Sano T., Hirokawa M., et al. Immunohistochemical study of endocrine cells in ductal adenocarcinoma of the pancreas // *Virchows Arch*, 2002; 441 (3): 249–255.
117. Sanaat Z., Halimi M., Ghojehzadeh M., et al. Immunohistochemical analysis of p53, Ki-67, CD44, HER-2/neu expression patterns in gastric cancer, and their association with one year survival in North-West of Iran // *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2013; 7 (3): 15–20.
118. Scarpa A., Mantovani W., Capelli P., et al. Pancreatic endocrine tumors: improved TNM staging and histopathological grading permit a clinically efficient prognostic stratification of patients // *Mod Pathol*, 2010; 23 (6): 824–833.
119. Schmitt A.M., Anlauf M., Rousson V., et al. WHO 2004 criteria and CK19 are reliable prognostic markers in pancreatic endocrine tumors // *Am J Surg Pathol*, 2007; 31 (11): 1677–1682.
120. Schüssler M.H., Skoudy A., Ramaekers F., Real F.X. Intermediate filaments as differentiation markers of normal pancreas and pancreas cancer // *Am J Pathol*, 1992; 140 (3): 559–568.
121. Sethi S., Sarkar F.H., Ahmed Q., et al. Molecular markers of epithelial-to-mesenchymal transition are associated with tumor aggressiveness in breast carcinoma // *Transl Oncol*, 2011; 4 (4): 222–226.
122. Sherr C.J., Roberts J.M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression // *Genes Dev*, 1999; 13 (12): 1501–1512.
123. Shimamura T., Sakamoto M., Ino Y., et al. Dysadherin overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma reflects tumor aggressiveness: relationship to E-cadherin expression // *J Clin Oncol*, 2003; 21 (4): 659–667.
124. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics, 2012 // *CA Cancer J Clin*, 2012; 62 (1): 10–29.
125. Sinicrope F.A., Evans D.B., Leach S.D., et al. bcl-2 and p53 expression in resectable pancreatic adenocarcinomas: association with clinical outcome // *Clin Cancer Res*, 1996; 2 (12): 2015–2022.
126. Stratton M.S., Alberts D.S. Current application of selective COX-2 inhibitors in cancer prevention and treatment // *Oncology (Williston Park)*, 2002; 16 (5 Suppl 4): 37–51.
127. Sugiura T., Uesaka K., Mihara K., et al. Margin status, recurrence pattern, and prognosis after resection of pancreatic cancer // *Surgery*, 2013; 154 (5): 1078–1086.

128. Tajima H, Ohta T, Kitagawa H., et al. Neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine for pancreatic cancer increases in situ expression of the apoptosis marker M30 and stem cell marker CD44 // *Oncol Lett*, 2012; 3 (6): 1186–1190.
129. Takahashi Y., Akishima-Fukasawa Y., Kobayashi N., et al. Prognostic value of tumor architecture, tumor-associated vascular characteristics, and expression of angiogenic molecules in pancreatic endocrine tumors // *Clin Cancer Res*, 2007; 13 (1): 187–196.
130. Takikita M., Altekruse S., Lynch C.F., et al. Associations between selected biomarkers and prognosis in a population-based pancreatic cancer tissue microarray // *Cancer Res*, 2009; 69 (7): 2950–2955.
131. Tezel E., Nagasaka T., Nomoto S., et al. Neuroendocrine-like differentiation in patients with pancreatic carcinoma // *Cancer*, 2000; 89 (11): 2230–2236.
132. Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y., Nieto M.A. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease // *Cell*, 2009; 139 (5): 871–890.
133. Westphal S., Kalthoff H. Apoptosis: targets in pancreatic cancer // *Mol Cancer*, 2003; 2: 6; doi: 10.1186/1476-4598-2-6.
134. Westra W.H., Hruban R.H., Phelps T.H., Isacson Ch. Surgical pathology dissection: An illustrated guide. – 2nd ed. – New York: Springer, 2003. – Pp. 88–93.
135. Wiksten J.P., Lundin J., Nordling S., et al. Comparison of the prognostic value of a panel of tissue tumor markers and established clinicopathological factors in patients with gastric cancer // *Anticancer Res*, 2008; 28 (4C): 2279–2287.
136. Wilson P.M., Danenberg P.V., Johnston P.G., et al. Standing the test of time: targeting thymidylate biosynthesis in cancer therapy // *Nat Rev Clin Oncol*, 2014; 11 (5): 282–298.
137. Yachida S., Vakianni E., White C.M., et al. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors // *Am J Surg Pathol*, 2012; 36 (2): 173–184.
138. Yamahatsu K., Matsuda Y., Ishiwata T., et al. Nestin as a novel therapeutic target for pancreatic cancer via tumor angiogenesis // *Int J Oncol*, 2012; 40 (5): 1345–1357.
139. Yamamoto S., Tomita Y., Nakamori S., et al. Valosin-containing protein (p97) and Ki-67 expression is a useful marker in detecting malignant behavior of pancreatic endocrine neoplasms // *Oncology*, 2004; 66 (6): 468–475.
140. Yoon K.W., Heo J.S., Choi D.W., Choi S.H. Factors affecting long-term survival after surgical resection of pancreatic ductal adenocarcinoma // *J Korean Surg Soc*, 2011; 81 (6): 394–401.
141. Zhang J.S., Herreros-Vilaneuva M., Koenig A., et al. Differential activity of GSK-3 isoforms regulates NF- κ B and TRAIL- or TNF α induced apoptosis in pancreatic cancer cells // *Cell Death Dis*, 2014; 5: e1142; doi: 10.1038/cddis.2014.102.
142. Zhang L., Smyrk T.C., Oliveira A.M., et al. KIT is an independent prognostic marker for pancreatic endocrine tumors: a finding derived from analysis of islet cell differentiation markers // *Am J Surg Pathol*, 2009; 33 (10): 1562–1569.
143. Zhang Y., Wei J., Wang H., et al. Epithelial mesenchymal transition correlates with CD24+CD44+ and CD133+ cells in pancreatic cancer // *Oncol Rep*, 2012; 27 (5): 1599–1605.

144. Zhu Y., Karakhanova S., Huang X., et al. Influence of interferon- α on the expression of the cancer stem cell markers in pancreatic carcinoma cells // *Exp Cell Res*, 2014; 324 (2): 146–156.
145. Zorgetto V.A., Silveira G.G., Oliveira-Costa J.P., et al. The relationship between lymphatic vascular density and vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) expression with clinical-pathological features and survival in pancreatic adenocarcinomas // *Diagn Pathol*, 2013; 8: 170; doi: 10.1186/1746-1596-8-170.

7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Publikācijas

1. **Simtniece Z.**, Vanags A., Strumfa I., Pavars M., Gardovskis J. *Prognostic Factors in Potentially Radically Operated Pancreatic Carcinoma* // *Acta Chirurgica Latviensis*, 2011; 11 (2): 34–38.
2. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Abolins A., Vanags A., Gardovskis J. *Prognostic Factors after Curative Resection of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: a Retrospective Study* // *Journal of Cancer Therapeutics & Research*, 2012; <http://www.hoajonline.com/jctr/2049-7962/1/27> (10 lpp).
3. Strumfa I., Vilmanis J., Vanags A., Vasko E., Sulte D., **Simtniece Z.**, Abolins A., Gardovskis J. *Primary and metastatic tumours of liver: expanding scope of morphological and immunohistochemical details in biopsy: Liver biopsy – indications, procedures, results* / Ed. By Nobumi Tagaya, ISBN 978-953-51-0853-5 – <http://www.intechopen.com/books/liver-biopsy-indications-procedures-results/primary-and-metastatic-tumours-of-the-liver-expanding-scope-of-morphological-and-immunohistochemical>, 2012.
4. Vanags A., Vasko E., Strumfa I., **Simtniece Z.**, Abolins A., Gardovskis J., Strumfs B. *Hereditary Cancer Syndromes - The Comprehensive Spectrum* / iConcept Press Ltd. <https://www.iconceptpress.com/books/0075-1-1/hereditary-cancer-syndromes--the-comprehensive-spectrum/>, 2013.
5. **Simtniece Z.**, Vanags A., Strumfa I., Gardovskis J. *The General Overview and Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer* // *Acta Chirurgica Latviensis*, 2013; 13 (1): 65–71.
6. **Simtniece Z.**, Kirsakmens G., Strumfa I., Vanags A., Pavars M., Gardovskis J. *Delayed Pancreatic Metastasis of Renal Clear Cell Carcinoma* // *Acta Chirurgica Latviensis*, 2013; 13 (1): 79–80.

Tēzes starptautiska mēroga konferencēs un kongresos

1. **Simtniece Z.** *Proliferation Fraction in the Spectrum of Prognostic Factors Characterising Potentially Radically Operated Pancreatic Carcinomas. 6th Baltic Sea Conference in Medical Sciences: Abstract book. April 29 – May 1, 2011. Rīga, RSU, 2011; 91.*
2. **Simtniece Z.** *Cytokeratin Profile and CDX2 in Potentially Radically Operated Pancreatic Cancer. 19th International Students' Scientific Conference for Students and Young Doctors: Abstract Book. Medical University of Gdansk. May 12 – 14.2011, 2011; 114.*
3. Vanags A., Pavars M., Strumfa I., **Simtniece Z.**, Abolins A., Gardovskis J. *The surgical and immunohistochemical characteristics of pancreatic ductal adenocarcinoma. World J Surg, 2011; 35:S1–S242.*
4. **Simtniece Z.**, Vanags A., Abolins A., Ertis R., Gardovskis J., Strumfa I. *Survival analysis after potentially radical surgical treatment of pancreatic carcinoma. The 7th Congress of the Baltic Association of Surgeons: Abstracts. Latvia, Riga. September 27th – 29th 2012. 2012; 10.*
5. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Abolins A., Vanags A., Gardovskis J. *Diagnostic protocol for the examination of surgical specimens from pancreatic carcinoma. The 7th Congress of the Baltic Association of Surgeons: Abstracts. Latvia, Riga. September 27th – 29th 2012. 2012; 71.*
6. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Abolins A., Gardovskis J. *Vimentin and CD44 expression in pancreatic ductal carcinoma. 8th NCRI Cancer Conference: Poster Abstracts 4 – 7 November 2012 BT Conventional Centre, Liverpool, UK. 2012; 245.*
7. Vanags A., Vasko E., **Simtniece Z.**, Abolins A., Pavars M., Trofimovics G., Gardovskis J., Strumfa I. *Large solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas in elderly male". International Surgical week ISW 2013 Abstract Volume. Helsinki, Finland. 2013; 281.*
8. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Vanags A., Abolins A., Gardovskis J. *Cytokeratin profile (7, 19, 20) and CDX2 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma and benign pancreatic ducts. International Surgical Week ISW 2013 Abstract Volume. Helsinki, Finland. 2013; 285.*
9. **Simtniece Z.**, Vanags A., Abolins A., Vasko E., Pavars M., Trofimovics G., Gardovskis J., Strumfa I. *Primary pancreatic angiomyolipoma in complex clinical background. International Surgical Week ISW 2013 Abstract Volume. Helsinki, Finland. 2013; 291.*
10. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Pavārs M., Vanags A., Pavars M., Gardovskis J. *Pancreatic Intraepithelial Neoplasia, Grade III Lesion in Autoimmune Pancreatitis. Baltic Morphology VII Scientific Conference. Riga, Latvia. 2013; 93.*
11. **Simtniece Z.**, Ķiršakmens G., Štrumfa I., Vanags A., Gardovskis J. *Late-onset Pancreatic Metastases of Renal Clear Cell Carcinoma: a Case Report. Baltic Morphology VII Scientific Conference. Riga, Latvia. 2013; 94.*
12. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Abolins A., Vanags A., Pavars M., Vasko E., Gardovskis J. *Cell cycle regulatory proteins in pancreatic cancer. European Journal of Cancer, November 2013. 2013; 49 (4): S34.*

13. Pavars M., **Simtniece Z.**, Strumfa I., Vasko E., Vanags A., Gardovskis J. *Antiapoptotic and cell cycle regulatory proteins in association with Ki-67 in pancreatic cancer. HPB, Abstracts of the 11th World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association 22 – 27 March 2014.* Seoula, Koreja. 2014; 16 (2): 650.
14. Pavars M., **Simtniece Z.**, Strumfa I., Vasko E., Vanags A., Gardovskis J. *A case of autoimmune pancreatitis with PanIN-III lesion. HPB, Abstracts of the 11th World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association 22 – 27 March 2014.* Seoula, Koreja. 2014; 16 (2): 651.
15. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Vanags A., Gardovskis J. *Frequency and significance of epithelial-mesenchymal transition and CD44 in pancreatic endocrine tumour. Virchows Arch (2014). The European Journal of Pathology. Springer,* 2014; 465 (1): S313.
16. **Simtniece Z.**, Strumfa I., Vanags A., Gardovskis J. *Microvascular density in pancreatic ductal adenocarcinoma and pancreatic endocrine tumours. Virchows Arch (2014). The European Journal of Pathology. Springer,* 2014; 465 (1): S313.

Tēzes Latvijas (vietēja) mēroga konferencēs un kongresos

1. Vanags A., Štrumfa I., **Simtniece Z.**, Āboliņš A., Pavārs M., Gardovskis J. Ciklooksigenāzes-2 ekspresija un korelācija ar aizkuņģa dziedzera vēža šūnu proliferāciju. Rīgas Stradiņa universitāte. 2011. gada zinātniskā konference: Tēzes (Rīgā, 2011. gada 14. un 15. aprīlī). Rīga: RSU, 2011; 299.
2. Vanags A., Štrumfa I., **Simtniece Z.**, Āboliņš A., Pavārs M., Gardovskis J. Epiteliāli mezenhimāla transformācija aizkuņģa dziedzera vēža šūnās. Rīgas Stradiņa universitāte. 2011. gada zinātniskā konference: Tēzes (Rīgā, 2011. gada 14. un 15. aprīlī). Rīga: RSU, 2011; 300.
3. Vanags A., Štrumfa I., **Simtniece Z.**, Āboliņš A., Pavārs M., Gardovskis J. CD44 ekspresija aizkuņģa dziedzera ductālā adenokarcinomā. Rīgas Stradiņa universitāte. 2011. gada zinātniskā konference: Tēzes (Rīgā, 2011. gada 14. un 15. aprīlī). Rīga: RSU, 2011; 301.
4. Vanags A., **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Pavārs M., Gardovskis J. Potenciāli radikāli operēto aizkuņģa dziedzera audzēju prognostiskie parametri. Rīgas Stradiņa universitāte. 2011. gada zinātniskā konference: Tēzes (Rīgā, 2011. gada 14. un 15. aprīlī). Rīga: RSU, 2011; 303.
5. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Āboliņš A., Vanags A., Pavārs M., Gardovskis J. Aizkuņģa dziedzera vēža pacientu dzīvildze pēc potenciāli radikālas operācijas. Rīgas Stradiņa universitāte 2012. gada zinātniskā konference: Tēzes (Rīgā, 2012. gada 29. un 30. martā). Rīga: RSU, 2012; 257.
6. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Āboliņš A., Vanags A., Pavārs M., Gardovskis J. Bcl-2 ekspresija un proliferācijas frakcija aizkuņģa dziedzera adenokarcinomā. Rīgas Stradiņa universitāte 2012. gada zinātniskā konference: Tēzes (Rīgā, 2012. gada 29. un 30. martā). Rīga: RSU, 2012; 258.
7. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Āboliņš A., Vanags A., Pavārs M., Gardovskis J. Citokeratīnu profils un CDX2 ekspresija aizkuņģa dziedzera ductālā adenokarcinomā un aizkuņģa dziedzera izvados. Rīgas Stradiņa universitāte 2013.gada zinātniskā konference; Tēzes (Rīgā, 2013.gada 21. un 22. martā). Rīga: RSU, 2013; 264.
8. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Āboliņš A., Vanags A., Pavārs M., Gardovskis J. Aizkuņģa dziedzera audzēja morfoloģiskās izmeklēšanas protokola izveide. Rīgas Stradiņa universitāte 2013.gada zinātniskā konference; Tēzes (Rīgā, 2013.gada 21. un 22. martā). Rīga: RSU, 2013; 265.
9. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Āboliņš A., Vanags A., Gardovskis J. Endokrīnu marķieru ekspresija aizkuņģa dziedzera vēža šūnās. Rīgas Stradiņa universitātes 2014.gada zinātniskā konference; Tēzes (Rīgā, 2014.gada 10. un 11. aprīlī). Rīga: RSU, 2014; 292.
10. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Vanags A., Gardovskis J. Asinsvadu blīvums aizkuņģa dziedzera ductālās adenokarcinomās un endokrīnos audzējos. Rīgas Stradiņa universitātes 2014.gada zinātniskā konference; Tēzes (Rīgā, 2014.gada 10. un 11. aprīlī). Rīga: RSU, 2014; 299.
11. **Simtniece Z.**, Štrumfa I., Vanags A., Gardovskis J. Šūnu adhēzijas zudums aizkuņģa dziedzera ductālā adenokarcinomā. Rīgas Stradiņa universitātes 2014.gada zinātniskā konference; Tēzes (Rīgā, 2014.gada 10. un 11. aprīlī). Rīga: RSU, 2014; 300.