

Βιοδείκτες Προγνωστικοί και Προβλεπτικοί παράγοντες στα NETs

Περιεχόμενα

Βιοδείκτες στα NETs	1
Γενικοί βιοδείκτες ορού.....	2
Χρωμογρανίνη Α (CgA).....	2
Χρωμογρανίνη Β (CgB).....	5
Παγκρεαστατίνη (Pancreastatin).....	5
Παγκρεατικό Πολυπεπίδιο (ΠΠ, Pancreatic Polypeptide)	6
Neuron-Specific Enolase (NSE)	6
Χοριακή Γοναδοτροπίνη (Human Chorionic Gonadotropin, HCG).....	6
Άλλοι γενικοί βιοδείκτες.....	6
Ειδικοί βιοδείκτες	6
Νεότεροι βιοδείκτες στα NETs	7
Τα MicroRNAs στα NETs	7
Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (Circulating Tumor Cells, CTCs, liquid biopsy) 7	
Προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες στα GEP-NENs.....	8
Παράγοντες κινδύνου	13
<i>Ηλικία και φύλο.....</i>	13
<i>Φυλή και εθνότητα.....</i>	13
<i>Γενετικό και οικογενειακό ιστορικό.....</i>	14
<i>Επαγγελματικοί κίνδυνοι.....</i>	14
Βιβλιογραφία	15

Βιοδείκτες στα NETs

Ο γαστρεντερικός σωλήνας συμπεριλαμβανομένου του παγκρέατος είναι το μεγαλύτερο ενδοκρινές όργανο του σώματος με τουλάχιστον 17 διαφορετικούς τύπους νευροενδοκρινικών κυττάρων να έχουν μέχρι σήμερα προσδιοριστεί, και κάθε ένα από αυτά έχει συγκεκριμένα ορμονικά προϊόντα και ρυθμιστικές λειτουργίες ¹ (Εικ. 30, Πίνακας 2). Σήμερα αναγνωρίζουμε πάνω από 30 γονίδια που εκφράζουν έντερο-πεπτιδικές ορμόνες με περισσότερο από 100 βιοενεργά πεπτίδια, με τα κύτταρα αυτά να εκφράζονται μέσω όλων των γνωστών ρυθμιστικών

μηχανισμών (ενδοκρινείς, παρακρινείς, νευροενδοκρινικούς και αυτοκρινικούς) ¹. Το κυτταρόπλασμα των νευροενδοκρινών κυττάρων καταλαμβάνεται από ένα μεγάλο αριθμό εκκριτικών κοκκίων με διάφορες πυκνότητες ηλεκτρονίων, και άλλοτε άλλο μέγεθος και σχήμα. Τα κοκκία αυτά είναι ο χώρος αποθήκευσης των εκκριτικών προϊόντων των κυττάρων αυτών (σεροτονίνη, χρωμογρανίνη Α, κλπ.). Κατόπιν συγκεκριμένης διέγερσης, οι κόκκοι μετατοπίζονται στην κυτταρική μεμβράνη και το περιεχόμενό τους, απελευθερώνεται με εξωκύτωση ¹ (βλέπε βιολογία ΝΕ συστήματος).

Πεπτιδικές προ-ορμόνες συντίθεται στο ακατέργαστο ενδοπλασματικό δίκτυο (rER), μαζί με χρωμογρανίνη Α (CgA) και άλλες κοκκιώδεις πρωτεΐνες. Οι χρωμογρανίνες χρησιμεύουν ως υπόστρωμα για πρωτεολυτικά ένζυμα και τα προϊόντα που παράγονται στη συνέχεια μεταφέρονται στο σωμάτιο Golgi και συσκευάζονται σε εκκριτικούς κόκκους (μεγάλα κοκκία με πυκνό κέντρο). Οι αμίνες μπορεί να αποθηκεύονται στα μικρά συναπτικά κυστίδια ²⁻⁴. Τα προϊόντα αυτά με την κατάλληλη διέγερση απελευθερούνται στον ορό, και η παρουσία τους ορό μπορεί να αξιοποιηθεί διαγνωστικά ως καρκινικοί δείκτες για νευροενδοκρινικούς όγκους. Οι δείκτες αυτοί ταξινομούνται σε γενικούς και ειδικούς δείκτες που καθορίζονται, ανάλογα με τον τύπο κυττάρων που εμπλέκονται ^{1,5}.

Γενικοί βιοδείκτες ορού.

Στα NETs, οι γενικοί βιοδείκτες είναι οι:

1. Χρωμογρανίνες (CgA, CgB, pancreastatin) με υψηλή ειδικότητα (specificity)
 2. neuron specific enolase (NSE), παγκρεατικό πολυπεπτίδιο (PP), neurokinin, neurotensin με μέση ειδικότητα
 3. HCG-α, HCG-β με χαμηλή ειδικότητα
- και αποτελούν γενικούς δείκτες για τη διάγνωση και παρακολούθηση των ασθενών με NETs.

Οι γρανίνες είναι μια ολόκληρη οικογένεια από γλυκοπρωτεΐνες, από τις οποίες οι σπουδαιότερες είναι οι CgA και CgB με μέγεθος 27–100 kD :

1. Chromogranin A (CgA)
2. Chromogranin B (CgB)
3. Secretogranin II (CgC)
4. Secretogranin III (1B1075)
5. Secretogranin IV (HISL-19)
6. Secretogranin V (7B2)
7. Secretogranin VI (NESP55)

Όλες οι γρανίνες είναι κύρια συστατικά του διαλυτού πυρήνα των εκκριτικών κοκκίων των ΝΕ κυττάρων εκκρίνονται από αυτά τα κύτταρα με φυσιολογικό τρόπο όπως έχουμε ήδη πει μαζί με ορμόνες και άλλα πεπτίδια.

Χρωμογρανίνη Α (CgA)

Η ακριβής λειτουργία της CgA παραμένει άγνωστη, αλλά πιστεύεται ότι εμπλέκεται στην συσκευασία και επεξεργασία προ-νευροπεπτιδίων και προ-πεπτιδικών ορμονών, μπορεί δε να παίζει κάποιο ρόλο στην οργάνωση του εκκριτικού κοκκίου. Η CgA έχει ποικίλες φυσιολογικές αλληλεπιδράσεις που δεν θα ήταν σκόπιμο να αναφέρουμε εδώ (υπάρχουν χιλιάδες δημοσιεύσεις για τις γρανίνες και ειδικά για την CgA) ⁶.

Τα NETs συνήθως παρουσιάζονται με αυξημένα επίπεδα ορού CgA και μερικές φορές στην CgB. Τα υψηλότερα επίπεδα CgA έχουν βρεθεί σε ασθενείς με μεταστατικά si-NENs και επίσης σε κάποια pNETs. Η εκκριτική δραστηριότητα και το μέγεθος του όγκου αντικατοπτρίζουν τα

κυκλοφορούντα επίπεδα CgA. Η ευαισθησία και η ειδικότητα ποικίλλουν μεταξύ 60-100% και 70-100%, αντίστοιχα, για διαφορετικούς τύπους NETs, με τις υψηλότερες τιμές να τις έχουν τα si-NENs⁶⁻⁸. Η CgA έχει αποδειχθεί ότι είναι ένα ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για τα si-NENs, επειδή συσχετίζεται όχι μόνο με το μέγεθος του όγκου, αλλά και με τη βιολογική δραστηριότητα αυτού (Εικ. 82).

Τα περισσότερα λειτουργικά και μη λειτουργικά NETs παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούσης CgA. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η CgA είναι πιο συχνά αυξημένη σε καλά διαφοροποιημένους όγκους (G1, G2), σε σύγκριση με φτωχά διαφοροποιημένους όγκους, υποδεικνύοντας μια απώλεια έκφρασης της CgA σε κακά διαφοροποιημένα νευροενδοκρινικά καρκινώματα⁹ (Εικ. 83).

Η αποτελεσματική θεραπεία συνδέεται συχνά με μείωση στις τιμές της CgA και η εν συνεχεία αύξηση των τιμών της CgA συσχετίζεται με την υποτροπή της νόσου¹⁰⁻¹². Ωστόσο, σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με SSAs, δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ των κυκλοφορούντων επιπέδων CgA και της μάζα όγκου^{6,13}. Ο λόγος για αυτό είναι ότι τα ανάλογα της σωματοστατίνης (SSAs) είναι σε θέση να μπλοκάρουν την παραγωγή και την απελευθέρωση του CgA, παράλληλα με την αντιπολλαπλασιαστική τους δράση. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι πρώιμη απάντηση στις τιμές της CgA μπορεί να υποδεικνύουν μια ανάλογη αντικαρκινική δράση και στην θεραπεία με στοχευμένους παράγοντες όπως το everolimus (mTOR αναστολέας)^{14,15}.

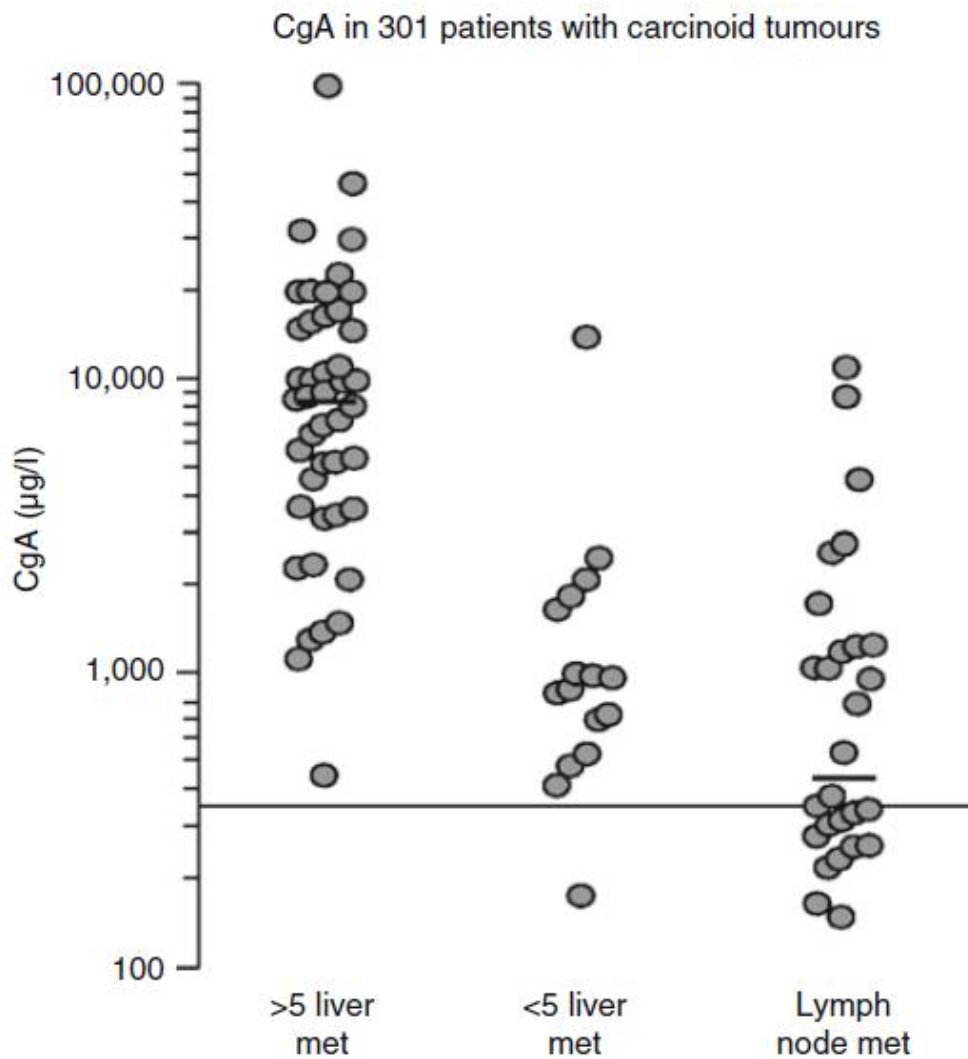
Αυξημένα επίπεδα CgA μπορεί επίσης να έχουμε σε φυσιολογικά άτομα και σε ασθενείς με άλλους όγκους (non-NETs), παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα είναι συνήθως μικρότερα από ότι σε ασθενείς με NETs. Τα επίπεδα έκκρισης της CgA διαφέρουν σε καθημερινή βάση και στα υγιή άτομα καθώς και σε άτομα με NETs. Η μέση ημερήσια διακύμανση των τιμών της CgA είναι περίπου 25%. Η πρόσληψη τροφής μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της CgA, ως εκ τούτου η CgA πρέπει να υπολογίζεται με νήσεις τους ασθενείς για να εξασφαλίσουμε την τυποποίηση των αποτελεσμάτων^{16,17}. Έχει αναφερθεί ότι οι καρδιακές παθήσεις και μακροπρόθεσμη άσκηση, καθώς και η ακραία σωματική καταπόνηση μπορεί να αυξήσουν τις τιμές της CgA.

Αυξημένες τιμές CgA στο ορό μπορεί να έχουμε και σε άλλες κακοήθειες όπως π.χ., του παχέος εντέρου, των πνευμόνων, του μαστού, του ήπατος και του προστάτη^{6,18}. Άλλα νοσήματα με υψηλές τιμές CgA είναι η νεφρική ανεπάρκεια¹⁹, η νόσος του Πάρκινσον, η υπέρταση χωρίς θεραπεία και η εγκυμοσύνη²⁰, η θεραπεία με στεροειδή ή περίσσεια γλυκοκορτικοειδών²¹ και η χρόνια ατροφική γαστρίτιδα (τύπου A) και φυσικά η θεραπεία με αναστολείς της αντλίας πρωτονίων (PPIs)²². Επίσης νοσήματα του ήπατος, οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, και ο υπερπαραθυρεοειδισμός²³.

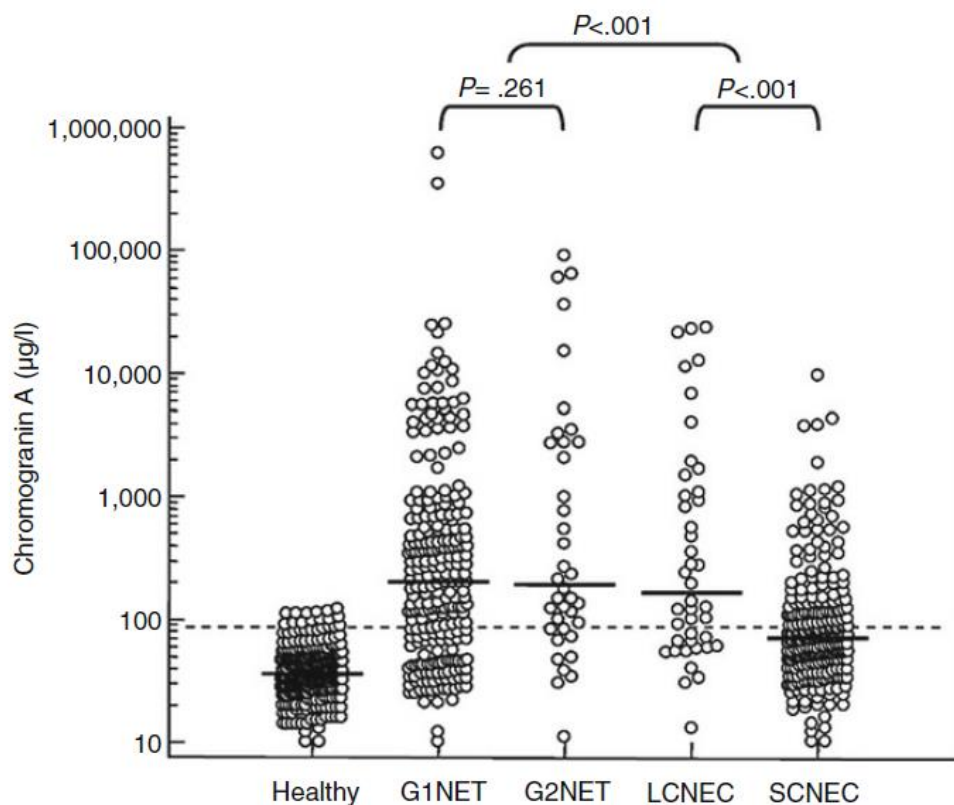
Στην νεφρική ανεπάρκεια, η CgA αυξάνει λόγω μειωμένης κάθαρσης, και στην αυτοάνοση χρόνια ατροφική γαστρίτιδα, τα αυξημένα κυκλοφορούντα επίπεδα CgA προκαλούνται από την χρόνια υπεργαστριναιμία που προκαλεί και διέγερση των ECL κυττάρων που πολλαπλασιάζονται και εκκρίνουν CgA. Έτσι είναι φανερό ότι μια σημαντική αιτία για αυξημένα επίπεδα CgA σε ασθενείς που **δεν** έχουν NETs είναι η διαδεδομένη χρήση των PPIs και άλλων ανάλογων φαρμάκων. Η εξομάλυνση των επιπέδων της CgA παρουσιάζεται από απόσυρση των PPIs σε 1-2 εβδομάδες²⁴.

Γενικά, οι μετρήσεις του πλάσματος ή ορού της CgA είναι ένα πολύτιμο εργαλείο τόσο για την διάγνωση όσο και για την παρακολούθηση των ασθενών με NETs^{6,25}. Όμως σύμφωνα με μερικούς μελετητές η CgA είναι δεν είναι ούτε αξιόπιστος ούτε ισχυρός βιοδείκτης. Ως ένας μονοαναλύτης περιορίζεται από κακές μετρήσεις και έχει περιορισμένη αξία πρόβλεψης. Η σημασία της CgA στα NETs μειώνεται καθώς εξελίσσονται άλλες αναλυτικές προσεγγίσεις, όπως

ιδιαίτερα οι μεταγραφικές πολυαναλύσεις ή άλλες στρατηγικές που θα δούμε πιο κάτω που εξελίσσονται για να την εκτοπίσουν²⁶⁻³³.



Εικόνα 82: Τα επίπεδα της Chromogranin CgA σε 301 ασθενείς με si-NENs σε σχέση με το φορτίο της νόσου. Από³⁴.



Εικόνα 83: Τα επίπεδα της Chromogranin A σε ασθενείς με NETs με διαφορετικά grades (G1/G2 vs. G3 NECs) όπου είναι σαφές ότι οι G1/G2 όγκοι έχουν υψηλότερα επίπεδα από τα G3 NECs (LCNEC, SCNEC). Από ⁶.

Χρωμογρανίνη Β (CgB)

Η Χρωμογρανίνη Β (CgB) είναι το δεύτερο πιο άφθονο μέλος της οικογένειας της χρωμογρανίνης. Στα NETs που δεν ανιχνεύεται η CgA, μπορεί να αυξηθεί η CgB ²⁶. Τέτοιοι ασθενείς είναι αυτοί με MEN-1 και με NETs του 12/λου ή του ορθού. Επίσης είναι ένας μείζων δείκτης του μυελού των επινεφριδίων και ίσως ο πιο ευαίσθητος δείκτης του φαιοχρωμοκυτώματος ⁶.

Παγκρεαστατίνη (Pancreastatin)

Η παγκρεαστατίνη είναι άλλο ένα μέλος των γρανινών. Η CgA τεμαχίζεται από μια ενδοπρωτεάση, που είναι μια προ-ορμονική κονβερτάση 1 (PC1), σε μικρά πεπτίδια όπως pancreastatin (PST) που είναι ένα πεπτίδιο 49 αμινοξέων, το οποίο αναστέλλει την έκκριση της ινσουλίνης, την απελευθέρωση της σωματοστατίνης, την έκκριση της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος και την έκκριση γαστρικού οξέος ^{35,36}.

Η PST (που είναι ένα τμήμα της CgA όπως είπαμε) έχει βρεθεί να αυξάνεται σημαντικά σε ασθενείς με μεταστατικά NETs στο ήπαρ, και οι συγκεντρώσεις της είναι ανάλογες προς τον αριθμό των ηπατικών μεταστάσεων ^{37,38}. Η PST δεν είναι αυξημένη σε ασθενείς με γαστρική αχλωρυδρία ή υποχλωρυδρία, και μπορεί να είναι ένας πολύ πρώιμος βιοδείκτης μεταστάσεων στο ήπαρ ακόμα και όταν η CgA είναι φυσιολογική ³⁹.

Πρόσφατα έχει προταθεί ότι οι αναλύσεις της έκφρασης του γονιδίου της CgA μπορεί να εξεταστεί με QRT PCR. Η μέθοδος, έχει γίνει σε καρκινικούς ιστούς με μεγαλύτερη ευαισθησία από ό,τι σε ανάλογες αναλύσεις στο αίμα, ωστόσο, εξακολουθούν να μην υπάρχουν πολλά δεδομένα ⁴⁰.

Παγκρεατικό Πολυπεπτίδιο (ΠΠ, Pancreatic Polypeptide)

Το ΠΠ (PP), ένα πεπτίδιο 36-αμινοξέων, είναι ένας άλλος γενικός βιοδείκτης που εκκρίνεται από τα PP κύτταρα, τα οποία βρίσκονται στο βλεννογόνο του εντέρου και του παγκρέατος ειδικά στην αγκιστροειδή απόφυση του, που είναι ιδιαίτερα πλούσια σε PP κύτταρα ⁴². Άλλα μέλη της ίδιας οικογένειας είναι το πεπτίδιο τυροσίνη-τυροσίνη (PYY) και το νευροπεπτίδιο Υ (NPY).

Η απελευθέρωση του PP προκαλείται από τα γεύματα, ιδιαίτερα τα πρωτεϊνούχα ³⁷. Έχει βρεθεί να είναι αυξημένο σε GEP-NENs, με ευαισθησία περίπου 50-80% ⁷. Ωστόσο, υπάρχουν πολλές κλινικές καταστάσεις όπου σημειώνονται ψευδώς αυξημένα επίπεδα, όπως η διάρροια, η κατάχρηση καθαρικών, η μεγάλη ηλικία, φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου και η χρόνια νεφρική νόσος ^{7, 43}. Ένας συνδυασμός CgA και PP είναι πολύ χρήσιμος σε ασθενείς με μη-λειτουργικά pNETs, με ευαισθησία 95% περίπου. Ένα ειδικό διεγερτικό γεύμα (test) είναι ιδιαίτερος χρήσιμο σε ασθενείς με MEN-1 και εντοπίζει σχετικά πρώιμα pNETs ⁶.

Neuron-Specific Enolase (NSE)

Η NSE είναι το νευρωνικό ισομερές του γλυκολυτικού ενζύμου 2-phospho-d-glycerate hydroxylase ή ενολάση. Το ισομερές αυτό είναι παρών στο κυτταρόπλασμα των νευρώνων και νευροενδοκρινών κυττάρων και μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης των NETs. Η NSE είναι υψηλή σε ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, αλλά έχει επίσης βρεθεί να είναι αυξημένη στο 30-50% των ασθενών με si-NETs, σε μυελοειδές καρκίνωμα θυρεοειδούς, σε pNETs και φαιοχρωμοκυττώματα ^{39, 44}.

Σε ασθενείς με φτωχά διαφοροποιημένα NETs, η NSE μπορεί να είναι αυξημένη παρά την φυσιολογική CgA. Η NSE συσχετίζεται επίσης με το μέγεθος του όγκου, αν και η ειδικότητα της είναι χαμηλότερη από εκείνη της CgA ⁴⁴. Ο συνδυασμός CgA και NSE έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από ό,τι κάθε παράμετρος ξεχωριστά ⁶⁻⁸. Πρόσφατα βρέθηκε ότι η έγκαιρη απόκριση στα επίπεδα της NSE συσχετίζεται με θεραπευτική απόκριση στο everolimus ¹⁵.

Χοριακή Γοναδοτροπίνη (Human Chorionic Gonadotropin, HCG)

Η HCG, μια γλυκοπρωτεϊνική ορμόνη που αποτελείται από άλφα και βήτα υπομονάδες, μπορεί να παραχθεί έκτοπα σε νεοπλάσματα συμπεριλαμβανομένων των NETs. Ειδικότερα, οι HCG άλφα και βήτα υπομονάδες έχουν βρεθεί να αυξηθεί σε ασθενείς με pNETs ^{45, 46}.

Άλλοι γενικοί βιοδείκτες

Άλλοι βιοδείκτες που θα μπορούσαν να αναδειχθούν καλύτερα στο μέλλον είναι η Pro-gastrin-releasing peptide (Pro-GRP) για τον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και για τα G3 NETs ^{44, 47} και τα cytokeratin fragments (CKfr) ^{44, 48, 49} αλλά οι μελέτες είναι ακόμα πολύ λίγες.

Ειδικό βιοδείκτες

Εκτός από τους γενικούς δείκτες, υπάρχουν οι ειδικοί βιοδείκτες για διάφορα λειτουργικά NETs (Εικ. 84). Για τον κάθε δείκτη από αυτούς θα αναφερθούμε ειδικά στα οικεία κεφάλαια των ειδικών NETs, όπου χρειάζεται κάποια αναφορά.

Site-specific markers

Site	Biomarkers	Specificity
Thymus	ACTH	I
Lung	ACTH, ADH, serotonin, 5-HIAA	I
	Histamine, GRP, GHRH, VIP, PTHrp	L
Stomach	Histamine, gastrin	I
	Ghrelin	L
Pancreas	Gastrin, insulin, proinsulin, glucagon, somatostatin	H
	C-peptide, neurotensin, VIP, PTHrp, calcitonin	L
Duodenum	Somatostatin, gastrin	H
Pleum	Serotonin, 5-HIAA	H
	NKA, neuropeptide K, SP	I
Colorectum	Peptide YY, somatostatin	I

H high, *I* intermediate, *L* low

Εικόνα 84: Ειδικοί βιοδείκτες για διάφορα NETs. Από ⁶.

Νεότεροι βιοδείκτες στα NETs

Τα MicroRNAs στα NETs

Τα microRNAs (miRNAs) είναι μια κατηγορία φυσικά απαντόμενων μικρών μορίων RNA που δεν έχουν ρόλο κωδικοποίησης (non-coding). Τα ώριμα microRNAs αποτελούνται από 19–25 νουκλεοτίδια και προέρχονται από πρόδρομα μόρια 17-100 νουκλεοτιδίων. Μέχρι και το 50% των ανθρώπινων microRNAs, είναι εντοπισμένα σε εύθραυστες χρωμοσωμιακές περιοχές, οι οποίες ενδέχεται να παρουσιάζουν ενίσχυση διαγραφών DNA ή μετατοπίσεις, κατά την ανάπτυξη του όγκου, και συχνά η έκφραση τους απορυθμίζεται στον καρκίνο. Ως εκ τούτου, τα microRNAs έχουν σημαντικούς ρόλους στην απορρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στον καρκίνο.

Σήμερα, μελέτες για διάφορες μορφές καρκίνου συμπαγών οργάνων (π.χ., ωθηκών, πνεύμονα, μαστού και του παχέος εντέρου) αναφέρουν, ότι τα microRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση διάφορων κυτταρικών διεργασιών, όπως η απόπτωση, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, σε επιθηλιακές προς μεσεγχυματικές μεταβάσεις και μεταστάσεις. Στο αίμα τα microRNAs φαίνεται να είναι πολύ σταθερά, επειδή τα περισσότερα από αυτά περιλαμβάνονται σε αποπτωτικά σωματίδια, μικρο-φουσαλίδες ή εξωζώνες και ανθίστανται σε γνωστούς microRNA παράγοντες υποβάθμισης ⁵⁰⁻⁵².

Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη περιεγράφηκε πολύ καλά το προφίλ των microRNAs στα καλά διαφοροποιημένα si-NETs ⁵³, με μερικά να έχουν απορρύθμιση, άλλα προς τα πάνω και άλλα προς τα κάτω.

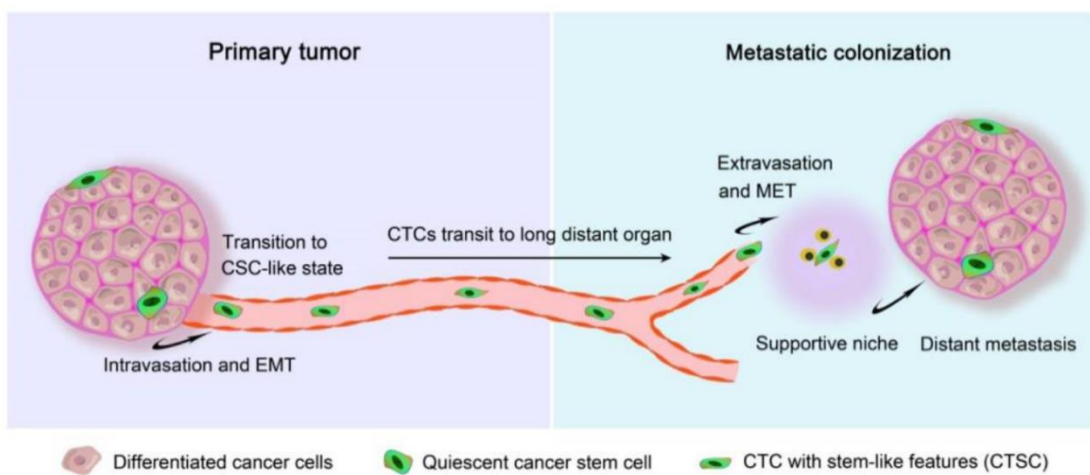
Μελλοντικές μελέτες θα φωτίσουν περαιτέρω την πιθανή αξία των microRNAs ως διαγνωστικά και θεραπευτικά εργαλεία και ήδη φαίνεται ότι ο ρόλος των microRNAs θα αναδειχθεί στο μέλλον ως πολύ κεντρικός στην διάγνωση και την εκτίμηση της πρόγνωσης των NETs ^{32, 50-52, 54-57}.

Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (Circulating Tumor Cells, CTCs, liquid biopsy)

Οι πρόσφατες τεχνολογικές εξελίξεις επέτρεψαν την αρίθμηση και τον χαρακτηρισμό κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων με διαφορετικές μεθόδους. Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον ως βιοδείκτες των μεταστάσεων του καρκίνου, αλλά μόνο πρόσφατα έχουν αναπτυχθεί αξιόπιστες μέθοδοι ανίχνευσης αυτών ^{58, 59} όπως π.χ., η CellSearch® platform. Τα CTCs μπορεί να θεωρηθούν ως μια υγρή βιοψία (liquid biopsy) από το

αίμα, και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε παθολογοανατομικές και μοριακές αναλύσεις ⁶⁰ (Εικ. 85). Ιδανικά τα CTCs μπορεί να αντικαταστήσουν τις βιοψίες μεταστατικών βλαβών με σκοπό την πρόβλεψη και την παρακολούθηση των θεραπευτικών ανταποκρίσεων και υποτροπής του όγκου. Επίσης τα CTCs μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως οδηγός θεραπευτικών πρωτοκόλλων και να χρησιμεύσουν ως στόχοι φαρμάκων.

Πολλές μελέτες έχουν αναδείξει, ότι σε διάφορους καρκίνους όπως στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού, του παχέος εντέρου και του προστάτη, η μέθοδος μπορεί να γίνει ένας ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης της επιβίωσης ^{61, 62}. Ανάλογες μελέτες έγιναν και σε NETs και έδειξαν ότι 14% των GEP-NETs (midgut) και το 21% των pNETs έχουν CTCs στο αίμα και η απουσία CTCs σχετίζεται έντονα με σταθερή νόσο ⁶³. Υπήρχε σε μια μελέτη μια μέτρια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων CTC και 5-hydroxyindolacetic acid στα ούρα και μεταξύ των επιπέδων CTC και του φορτίου των ηπατικών μεταστάσεων. Η ανίχνευση και οι μετρήσεις των CTCs φαίνεται ότι πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω ^{55, 59, 64}.



Εικόνα 85: Οι μεταστάσεις μέσω των CTCs. Η μεταστατική διεργασία χωρίζεται σε 2 φάσεις με πολλά βήματα. 1. Η φάση της προ-αποίκησης (pre-colonization) που συνιστάται σε διαπύδηση των καρκινικών κυττάρων από τον όγκο, στην κυκλοφορία. 2. Η φάση της αποίκησης, από τα CTCs που κυκλοφορούν στο αίμα. Τα καρκινικά κύτταρα εντός του πρωτοπαθούς όγκου υποβάλλονται σε μια διαδικασία μετάβασης από επιθηλιακά σε μεσεγχυματικά (EMT) και έτσι αποκτούν διηθητική ικανότητα, και εν συνεχεία περνούν στα αγγεία του όγκου με την μορφή των CTCs, αποκτώντας έτσι την δυνατότητα να επιβιώσουν εντός της κυκλοφορίας και να ξεφύγουν της έμφυτης ανοσολογικής άμυνας και των άλλων αμυντικών μηχανισμών του ανθρώπινου σώματος. Έτσι τα CTCs αποκτούν νέο σπίτι, όπου και διατηρούν τις ικανότητες τους να επιβιώσουν διατηρώντας την ικανότητα τους για νέα ογκογένεση. Τα κύτταρα αυτά μπαίνουν σε μια λανθάνουσα φάση που μπορεί να κρατήσει από μήνες μέχρι χρόνια προσαρμοζόμενα στο νέο μικρο-περιβάλλον. Όταν αυτή η λανθάνουσα κατάσταση τελειώσει, τα κύτταρα αυτά αναπτύσσονται ξανά καταλαμβάνοντας τους τοπικούς ιστούς, και ξαναμπαίνουν σε μια φάση προ-αποίκησης και εν συνεχεία αποίκησης ⁵⁹.

Προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες στα GEP-NENs

Η πρόγνωση των NETs συσχετίζεται με την θέση τους, την λειτουργική τους κατάσταση, την διαφοροποίησή τους και το στάδιο της νόσου (είναι πολύ καλύτερη στα αρχικά στάδια).

Ενώ πολλές θεραπευτικές εξελίξεις υπάρχουν στα GEP-NENs ⁶⁵, η συνολική 5-ετής επιβίωση για όλα τα στάδια είναι μόνο περίπου 61% ⁶⁶, και πολλοί ασθενείς με μεταστατική νόσο τελικά

υποκύπτουν στην νόσο. Σε προχωρημένο στάδιο, η πρόγνωση είναι κακή. Ωστόσο, η συνολική επιβίωση στα καλά διαφοροποιημένα και εντοπισμένα NETs είναι πολύ καλύτερη. Τα καλύτερα ποσοστά επιβίωσης παρατηρούνται σε ασθενείς με NETs του ορθού και της σκωληκοειδούς απόφυσης. Τα ποσοστά 5-ετους επιβίωσης αυτών των όγκων είναι εξαιρετικά (> 90%)⁶⁷. Σε αντίθεση με άλλους όγκους συμπαγών οργάνων, στα NETs, η κύρια τοποθεσία προέλευσης φαίνεται να επηρεάζει την πρόγνωση, με τα GEP-NENs του παχέος εντέρου, του στομάχου και του ήπατος να έχουν την χειρότερη συνολική επιβίωση όταν δώσουν μεταστάσεις⁶⁸.

Οι νευροενδοκρινείς όγκοι είναι εξαιρετικά ετερογενείς κακοήθειες. Ακόμη και μεταστατικά NETs από την ίδια πρωτοπαθή τοποθεσία έχουν ανομοιογενή κλινική εικόνα, επιθετικότητα και πρόγνωση. Για παράδειγμα, ασθενείς με G1 midgut NETs έχουν διάμεση επιβίωση 16,6 ετών, σε σύγκριση με 1,1 έτη για τα G3 midgut NETs⁶⁹. Σε μια άλλη μελέτη, ασθενείς με NETs που έχουν θετικό FDG PET είχαν μια διάμεση επιβίωση 1,2 έτη, σε σύγκριση με τα 10 έτη για εκείνους που έχουν αρνητική FDG PET, υποδεικνύοντας ότι η θετικότητα στο FDG PET αναδεικνύει ασθενείς με επιθετική κλινική συμπεριφορά και ένα υψηλό ποσοστό πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας⁷⁰.

Αυτή η ετερογένεια είναι μια σημαντική κλινική πρόκληση, μια και οι ασθενείς μπορεί να μένουν με την λανθασμένη αντίληψη ότι τα NETs είναι καλοήθεις όγκοι, όταν έχουν επιθετική νόσο, ή να έχουν αδικαιολόγητα απαισιόδοξη προοπτική, όταν έχουν έναν G1 όγκο και η επιβίωση τους προβλέπεται να είναι εξαιρετική. Εκτός από τις προγνωστικές επιπτώσεις, αυτή η ετερογένεια καθιστά δύσκολη τη βελτιστοποίηση της θεραπείας στα NETs, όπως καθιστά δύσκολη την διεξαγωγή αξιόπιστων κλινικών μελετών.

Οι πρόσφατες μελέτες επικεντρώνονται έτσι στον διαχωρισμό των NETs σε υποομάδες π.χ., si-NENs, pNENs κλπ. έτσι ώστε να μπορέσουμε να εξαγάγουμε πιο αξιόπιστα αποτελέσματα από τις κλινικές μελέτες. Αυτή η κλινική ανάγκη, έχει οδηγήσει σε αναζήτηση αξιόπιστων, οικονομικά προσιτών και επαναλήψιμων βιοδεικτών, που θα μας βοηθήσουν στην πρόγνωση και την πρόβλεψη ανταπόκρισης στη θεραπεία. Εάν εντοπιστούν αυτοί οι βιοδείκτες θα επιτρέψουν την χορήγηση της σωστής θεραπείας, στον σωστό ασθενή, στο κατάλληλο χρόνο, αποφεύγοντας περιττές παρενέργειες από τη θεραπεία αλλά και τη χορήγηση αποτελεσματικής κλινικής θεραπείας, πριν συμβεί κάποια σημαντική κλινική επιδείνωση.

Όμως οι υπάρχοντες βιοδείκτες υπάρχουν είναι ελάχιστοι και μη ικανοποιητικοί για να προβλέψουμε την πρόγνωση τους και να κατευθύνουν τις θεραπευτικές μας επιλογές. Υπάρχουν πολλοί βιοδείκτες βασισμένοι στον ίδιο τον όγκο όπως π.χ., ο Ki-67, ο μιτωτικός δείκτης (mitotic count), οι γενετικές/επιγενετικές αλλαγές και τα microRNAs, αλλά μόνο ο Ki-67 και ο μιτωτικός δείκτης έχουν ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία για χρήση τους στην ρουτίνα της καθημερινής κλινικής πράξης μέχρι το πολύ πρόσφατο παρελθόν. Άλλοι τέτοιοι παράγοντες είναι η απώλεια έκφρασης διαφόρων γονιδίων όπως τα PTEN, ATRX, και DAXX που έχουν σχετισθεί με χειρότερη πρόγνωση στα καλά διαφοροποιημένα pNENs^{71, 72}. Άλλοι αμφιλεγόμενοι ακόμα παράγοντες είναι η cytokeratin 19, η έκφραση του KIT, η έκφραση προγεστερικών υποδοχέων, η έκφραση ινσουλίνης και GLP1, η έκφραση γαστρίνης, η απώλεια του p27 κλπ., που έχουν συσχετισθεί με την πρόγνωση, αλλά όπως είπαμε απαιτούνται ακόμα περαιτέρω μελέτες για την ανάδειξη όλων αυτών ως προγνωστικών δεικτών⁷³.

Οι βιοδείκτες του αίματος, από την άλλη πλευρά, είναι εύκολα επαναλήψιμοι, αλλά επί του παρόντος οι καθιερωμένοι τέτοιοι βιοδείκτες (χρωμογρανίνη A και το 5-HIAA των ούρων) είναι δύσκολο να μετρηθούν με ακρίβεια στην πράξη και είναι λίγο πολύ αναξιόπιστοι για την πρόγνωση

Οι απεικονιστικές εξετάσεις είναι ρουτίνα για αυτούς τους ασθενείς λόγω κυρίως της σταδιοποίησης τους (TNM) αλλά και για παρακολούθηση. Λειτουργικοί βιοδείκτες, όπως το ⁶⁸Ga και FDG PET μπορούν να γίνουν πολύτιμοι βιοδείκτες στο μέλλον όπως διαφαίνεται μέσα από πολλές μελέτες ⁵⁷. Πολλά νομογράμματα έχουν προταθεί που εντάσσουν τους παραπάνω παράγοντες, αλλά τα περισσότερα δεν έχουν επικυρωθεί προοπτικά και είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθούν στην πράξη. Οι μελέτες επικύρωσης αυτών ίσως να μπορέσουν στο μέλλον να βοηθήσουν στην στρωματοποίηση της επιβίωσης των ασθενών με GEP-NENs.

Τα GEP-NENs αντιπροσωπεύουν μια διαφορετική ομάδα από τις άλλες νεοπλασίες και παρουσιάζουν μια μοναδική παθοβιολογία και νεοπλασματικό μοριακό προφίλ που είναι σημαντικά διαφορετικό από τους άλλους επιθηλιακούς καρκίνους (Εικ. 30, 33). Το μορφολογικό και μοριακό προφίλ των όγκων αυτών αναδεικνύει χαρακτηριστικά των NETs που μπορεί να χρησιμοποιηθούν κλινικά, όπως η έκφραση υποδοχέων σωματοστατίνης, και επιβεβαιώνει ότι οι όγκοι αυτοί είναι έξω από το συνηθισμένο πρότυπο των επιθηλιακών όγκων.

Η αλληλουχία DNA (DNA sequencing), σπάνια εντοπίζει ενεργοποιούς μεταλλάξεις που να επιβεβαιώνουν ότι τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι σχετικά της νόσου. Όμως προσεγγίσεις γονιδιωματικής με επίκεντρο τα γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο και την σηματοδότηση μονοπατιών είναι απίθανο μας δώσουν ιδιαίτερες πληροφορίες για τους όγκους αυτούς ⁵⁴ μια και οι παραδοσιακές προσεγγίσεις αλληλουχίας DNA (DNA sequencing) που διερευνούν την μοριακή βάση της νόσου των NENs έχουν, μέχρι στιγμής, αποδώσει σχετικά πολύ λίγες πληροφορίες (με εξαίρεση τα pNENs). Το μοναδικά ανόμοιο μοριακό προφίλ των NETs, σημαίνει ότι οι όγκοι είναι απίθανο να προσεγγιστούν εύκολα ή ομοιόμορφα με θεραπείες όπως οι άλλοι κλασικοί όγκοι. Η επικράτηση των μεταλλάξεων menin στα pNENs και αυτών του P27KIP1 μεταλλάξεις στα si-NENs αντιπροσωπεύουν τα αρχικά βήματα για τον προσδιορισμό ενός κοινού μοριακού προφίλ στα GEP-NENs ⁵⁴. Το μεταγραφικό προφίλ και οι πολυαναλυτικές αναλύσεις μπορεί να μας δώσουν στο μέλλον εργαλεία για την πρόγνωση και την θεραπεία των. Έτσι τα πολυαναλυτικά διαγνωστικά εργαλεία φαίνεται να διευκολύνουν με περισσότερη ακρίβεια τις μοριακές παθολογικές οριοθετήσεις των NENs, την εκτίμηση της πρόγνωσης και τον προσδιορισμό στρατηγικών για την εξατομικευμένη θεραπεία των ασθενών με NETs.

Όμως τα διαθέσιμα στην βιβλιογραφία στοιχεία δείχνουν σαφώς ότι η δημιουργία ενός προφίλ microRNAs δυνητικά μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα προγνωστικό βιοδείκτη για NETs. Ωστόσο, ο ρόλος των κυκλοφορούντων miRNAs για τέτοιο σκοπό δεν έχει ακόμα ενοποιηθεί σε συγκεκριμένες εξετάσεις και να μπει στην καθημερινή κλινική πράξη και ακόμα λείπουν οι προοπτικές μελέτες, ειδικά στη αξιολόγηση των διαφόρων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Όπως φυσικά λείπουν από την βιβλιογραφία και αντίστοιχες μελέτες με τα CTCs ως δείκτες αξιολόγησης θεραπευτικών πρωτοκόλλων και πρόγνωσης με μακροχρόνια κλινική παρακολούθηση, παρόλες τις πολλά υποσχόμενες μικρές μελέτες πρώιμης παρακολούθησης ³². Από αυτές φαίνεται ότι τα CTCs είναι ανιχνεύσιμα στο αίμα σε περίπου 50% των ασθενών με λειτουργικά midgut NENs. Έχουν προταθεί ως ένας νέος προγνωστικός παράγοντας σε NENs, δεδομένου ότι συσχετίζεται η παρουσία τους με αυξημένο φορτίο όγκου και grade, αυξημένες τιμές CgA στον ορό, και χειρότερη PFS και OS (HR 6,6 και 8,0, αντίστοιχα, και στα δυο $p < 0,001$) ⁷⁴. Είναι γνωστό ότι τα επίπεδα των CTCs είναι αλλάζουν σύμφωνα με την ανταπόκριση του όγκου και τα αποτελέσματα της θεραπείας ⁷⁵, και ίσως στο μέλλον μπορεί να μας βοηθήσουν στην ταξινόμηση των ασθενών ανάλογα με τις ευνοϊκές ή δυσμενείς απαντήσεις στην θεραπεία ⁷⁵[158]. Απαιτείται περαιτέρω μελέτη για τον ρόλο των και την χρησιμότητα των CTCs για την αξιολόγηση της διάγνωσης και ανταπόκρισης σύμφωνα με υποτύπους όγκου και θεραπείες. Η συνεχιζόμενη μελέτη CALM-NET ([NCT02075606](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02075606)) για τη

μελέτη του συσχετισμού των μετρήσεων των CTCs, της κλινικής ανταπόκρισης και της PFS σε ασθενείς με midgut NENs που έλαβαν θεραπεία με λανρεοτίδη (Εικ. 3) ίσως μας βοηθήσει.

Κατά συνέπεια, ένα σημαντικό ζήτημα είναι να χαρακτηριστεί, τί συνιστά το πρόγραμμα οδήγησης της νεοπλασματικής ανάπτυξης στους όγκους αυτούς. Αυτό μπορεί να συνεπάγεται την εστίαση σε noncoding (microRNAs) ή long-chain RNAs, μια καλύτερη οριοθέτηση της επιγενετικής των όγκων αυτών (και πώς αυτή ρυθμίζεται) ή μια ταυτοποίηση του περιβαλλοντικού αιτίου που οδηγεί στην νεοπλασία μέσα σε ένα σύνολο ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Είναι πιθανό ότι μεταγραφικές και δικτυακές αναλύσεις, σε συνδυασμό με πρωτεομικές αναλύσεις, μπορεί να βοηθήσουν στον καθορισμό περαιτέρω των νευροενδοκρινικών κυτταρικών εργαλείων.

Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ανάγκη να προσδιορίσουμε τις ρυθμιστικές αλλαγές που συμβαίνουν στον πρωτοπαθή όγκο καθώς εξελίσσεται σε μεταστατικό, έτσι ώστε ίσως να μπορούσαμε να τον υποβάλλουμε σε αλλαγές μέσω φαρμακευτικών στόχων στα κυρίαρχα και κομβικά κυτταρικά μονοπάτια.

Ένα περαιτέρω σημαντικό ζήτημα είναι να καθοριστεί ένα ακριβές σύστημα πρόγνωσης και παρακολούθησης της θεραπείας και της αποτελεσματικότητας αυτής. Επειδή οι επαναληπτικές βιοψίες των μεταστάσεων δεν είναι μια βιώσιμη κλινική επιλογή, η ανάπτυξη στρατηγικών που βασίζονται σε εξετάσεις του αίματος από όπου μπορεί να μετρηθεί και να εκτιμηθεί η μοριακή υπογραφή των όγκων είναι κρίσιμης σημασίας. Συνεπώς, διαφαίνεται ότι η ανάπτυξη νέων τεχνικών απεικόνισης, πολυαναλυτικών αλγοριθμικών τεχνικών ανάλυσης βιοδεικτών και η ανάπτυξη ειδικών θεραπευτικών στρατηγικών θα μας βοηθήσει τα μέγιστα στην θεραπεία των NETs

54

Μέσα από ένα πρόσφατο consensus φαίνεται ότι τα κυκλοφορούντα miRNAs ήταν καλύτερα στην διάγνωση και πρόγνωση και ακόμη στην παρακολούθηση της θεραπείας από τους κλασικούς βιοδείκτες των NETs⁵⁵. Έτσι από το consensus θεωρείται ότι ένας συνδυασμός κλασικών και λειτουργικών απεικονιστικών εξετάσεων (PET και MRI) και κυκλοφορούντων mRNAs θα αποτελέσει τη μελλοντική στρατηγική για την σε πραγματικό χρόνο παρακολούθηση της προόδου της νόσου και της θεραπευτικής μας στρατηγικής⁵⁵ (Εικ. 86).

Ο προσδιορισμός των μοριακά διαφόρων υποτύπων NETs, μπορεί να έχει δραματικές επιπτώσεις στην κλινική πράξη, που οδηγούν δυνητικά σε νέα διαγνωστική ταξινόμηση, διαφορετική προγνωστική διαστρωμάτωση και καινοτόμες κλινικές μελέτες. Ενώ η σύγχρονη ιατρική (precision medicine) μας έχει οδηγήσει μέχρι στιγμής σε έκρηξης μοριακής γνώσης κάθε μορφής καρκίνου σε πολλά και διαφορετικά settings, οι κοινές επιγενετικές αλλαγές που βλέπουμε σε ένα ευρύ φάσμα NETs, μπορεί να μας δώσουν την δυνατότητα της επανένωσης σε τόσο διαφορετικές κλινικές οντότητες.

Τα τελευταία χρόνια, χάρη στην εμφάνιση μοριακών τεχνικών που επιτρέπουν την αξιολόγηση επιγενετικών ευρημάτων στο γονιδίωμα του ανθρώπου, όπως η αλληλουχία ανοσοκαθίζησης της χρωματίνης (ChIP-Seq) και η ανάλυση της μεθυλίωσης του DNA, έχει γίνει προφανές ότι οι επιγενετικές ανωμαλίες είναι διαδεδομένες στον καρκίνο .

Η μεθυλίωση του DNA έχει μελετηθεί εκτενώς στα NETs⁷⁶. Η μακροχρόνια παρατήρηση ότι menin είναι ένας επιγενετικός ρυθμιστής, όντας μέρος σε ένα περίπλοκο σύμπλεγμα histone methyltransferase, περαιτέρω υποστηρίζει ότι επιγενετικές παρά γενετικές αλλαγές διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεση των NETs (Εικ. 36).

Χρησιμοποιώντας σφαιρική ανάλυση της μεθυλίωσης και διάφορες άλλες τεχνικές, διαπιστώθηκε ότι η υπομεθυλίωση κυριαρχεί στο γονιδίωμα των NETs, συγκριτικά με τους παρακείμενους υγιείς ιστούς, και όταν είναι παρούσα η υπομεθυλίωση, συσχετίζεται με

κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους όπως το grade ^{77, 78}. Ένα άλλο φαινόμενο μεθυλίωσης DNA είναι το CIMP, που παρατηρήθηκε πρώτα στον κολορθικό καρκίνο και φαίνεται ότι είναι παρών στο > 50% των γαστρινωμάτων και το 100% των VIPωμάτων και των γλουκαγονωμάτων ⁷⁹. Μεταξύ άλλων, 3 γονίδια φαίνεται ότι είναι εξαιρετικά μεθυλιωμένα στα NETs: τα MGMT, RASSF1A, και CDKN2A.

Δεδομένου ότι τα συνήθως μεταλλαγμένα ογκογονίδια παίζουν λίγο αν όχι κανένα ρόλο στην παθογένεση των NETs, οι επιγενετικές αλλαγές είναι πιθανό να είναι κύριοι προσδιοριστικοί παράγοντες του ογκογένεσης στα NETs ^{80, 81} (Εικ. 36). Ωστόσο, το αν οι παρατηρούμενες τροποποιήσεις της συσκευασίας του DNA είναι κυρίαρχες οδηγές δυνάμεις ή αποτελέσματα της ογκογένεσης, και η θέση και ο ρόλος τους στην εξέλιξη των NETs εξακολουθεί να είναι άγνωστο ^{82, 83}.

Αν και έχουν προταθεί ήδη προφίλς για την επιγενετική των NETs, τα αποτελέσματα πρέπει να επικυρωθούν σε μεγαλύτερες μελέτες. Έτσι οι μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να επαληθεύσουν εάν το επιγενετικό αποτύπωμα των NETs θα μας δώσει καλύτερη κλινική ταξινόμηση/προγνωστική διαστρωμάτωση από το στάδιο της νόσου ή το grade του όγκου. Καμία κλινική μελέτη με epidrugs ¹ οδηγούμενη από βιοδείκτες δεν έχει πραγματοποιηθεί σε NETs μέχρι στιγμής, εξηγώντας έτσι ενδεχομένως την παρατηρούμενη έλλειψη σημαντικής αποτελεσματικότητας με αυτούς τους ήδη υπάρχοντες παράγοντες ⁸¹.

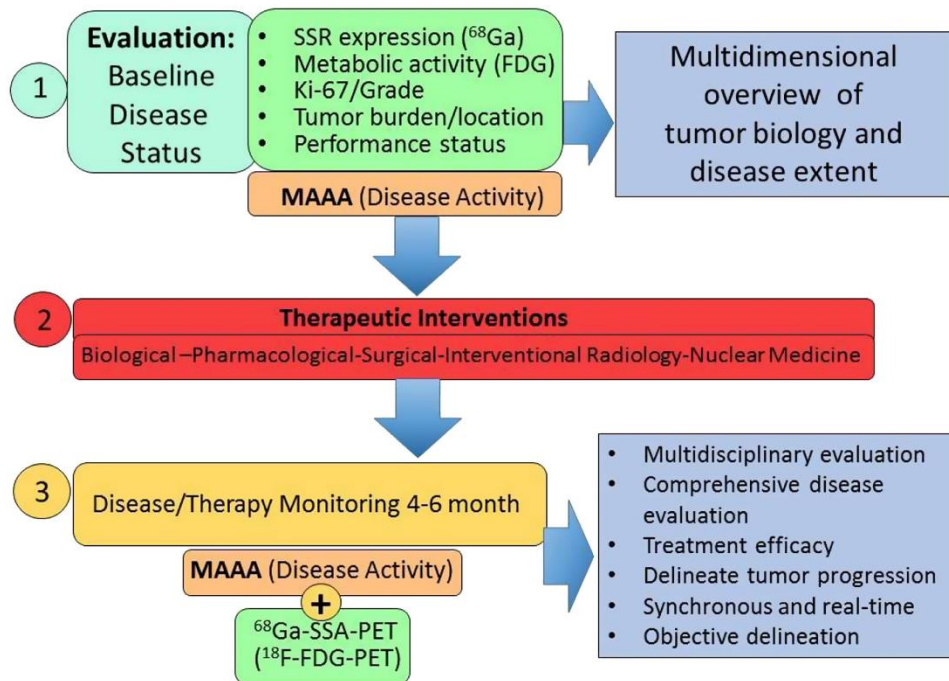
Δεδομένου ότι τα NETs προέρχονται από νευροενδοκρινικά κύτταρα, μελέτες του επιγενετικού τους προφίλ θα πρέπει να διεξάγονται με κατάλληλο ιστικό έλεγχο μια και άλλες επιγενετικές μελέτες διαμόρφωσης έχουν ήδη αρχίσει σε άλλους όγκους ⁸⁴.

Πρόσφατες μελέτες ^{85, 86} δείχνουν ότι τα epidrugs διεγείρουν την έκφραση καλοήθων ρετροϊών που έχουν εισαχθεί στο ανθρώπινο γονιδίωμα, συμπεριλαμβανομένων των καρκινικών κυττάρων. Ως αποτέλεσμα, ένα φαινόμενο «ιογενούς μιμητισμού» και οι ευεργετικές επιδράσεις του στην ανοσογονικότητα των όγκων έχουν περιγραφεί, παρέχοντας έτσι ένα σκεπτικό για πιθανό συνδυασμό σε μελέτες στα NETs, epidrugs και αναστολείς σε checkpoint του ανοσοποιητικού, όπως η χορήγηση του nivolumab ή του ipilimumab σε άλλους όγκους ⁸⁷.

Η εντυπωσιακή πρόοδος στην κατανόηση της παθογένειας των NETs κατά τα τελευταία χρόνια, και η αναγνώριση των κυρίαρχων μονοπατιών της ογκογένεσης των, οδήγησε στην έγκριση νέων στοχευμένων θεραπειών για ασθενείς με NETs.

Εν κατακλείδι, το πεδίο της έρευνας για αξιόπιστους προγνωστικούς δείκτες σε NETs παραμένει ανοιχτό, με τις μελλοντικές προοπτικές για την αναγνώριση ειδικών χαρακτηριστικών ή κλινικών αλγορίθμων να είναι σε καλό δρόμο για μια πιο αξιόπιστη κλινική διαχείριση των ασθενών με NETs.

¹ Azacitidine, Vorinostat, Romidepsin, Belinostat, Panobinostat, φάρμακα που έχουν εγκριθεί για λευχαιμίες και μελάνωμα, κυρίως.



Εικόνα 86: Εδώ δίδεται μια εννοιολογική πρόταση για την αξιολόγηση του θεραπευτικού αποτελέσματος σε NENs, εντάσσοντας την λειτουργική απεικόνιση των όγκων, τις εξετάσεις μοριακής βιολογίας χρησιμοποιώντας κυκλοφορούν mRNA ή miRNAs σε multianalyte αναλύσεις με αλγοριθμικές αναλύσεις (multianalyte assays with algorithm analyses, MAAAs). Η πρόοδος της νόσου, μπορεί να σκιαγραφηθεί χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό λειτουργικών απεικονιστικών μεθόδων, ποσοτικοποίησης της έκφρασης των SSTRs με $^{68}\text{Ga-DOTA-SSA PET/CT}$ και μετρώντας την μεταβολική δραστηριότητα του όγκου χρησιμοποιώντας είτε $^{18}\text{F-DOPA PET/CT}$ (σε καλά διαφοροποιημένους όγκους) ή $^{18}\text{F-FDG}$ (κυρίως σε αδιαφοροποίητους όγκους, ή για την εκτίμηση της επιθετικότητας του όγκου). Η MAAA π.χ., με τα κυκλοφορούντα mRNA, παρέχει μια ακριβή αντανάκλαση της δραστηριότητας του όγκου. Συνολικά, ο συνδυασμός της λειτουργικής απεικόνισης ($^{68}\text{Ga-SSA}$ και $^{18}\text{F-FDG-PET/CT}$) και κυκλοφορούντα mRNA στο μέλλον, θα μπορούσε να βοηθήσει να σκιαγραφηθεί και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας ⁵⁵.

Παράγοντες κινδύνου

Ηλικία και φύλο

Η επίπτωση των NETs αυξάνει με την ηλικία. Αν και η νόσος μπορεί να εμφανιστεί σε όλες τις ηλικίες, οι αιχμές της είναι μεταξύ της 6^{ης} και της 7^{ης} δεκαετίας, ενώ στις παιδικές ηλικίες η νόσος είναι σπάνια. Η διάμεση ηλικία κατά τη στιγμή της παρουσίασης είναι τα 60 έτη ^{67, 88}.

Ενώ τα ποσοστά είναι παρόμοια μεταξύ των δύο φύλων στις ΗΠΑ, φαίνεται ότι αυτά του ορθού είναι ελαφρώς συχνότερα στους άνδρες από ό, τι στις γυναίκες, όπως και τα si-NENs και τα pNETs, αλλά τα G1/G2 NETs της ΣΑ και αυτά του πνεύμονα είναι φαίνεται πιο συχνά στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άνδρες ^{67, 88}.

Φυλή και εθνότητα

Σύμφωνα με την βάση δεδομένων SEER, τα NETs της ΣΑ είναι πιο συχνά στους λευκούς, τα si-NENs και τα pNETs είναι πιο συχνά στους Άφρο-Αμερικανούς και τον ασιατικό πληθυσμό εντός των ΗΠΑ ^{67, 88}. Η συχνότητα των NETs του ορθού είναι περίπου τρεις φορές υψηλότερη στην Ασία και είναι επίσης πιο συχνά για άνδρες και γυναίκες στους μαύρους σε σχέση με τα λευκούς ^{67, 88, 89}.

Γενετικό και οικογενειακό ιστορικό

Παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία των NETs εμφανίζονται σποραδικά, μερικά μπορεί να είναι κληρονομικά και μπορεί να εμφανιστούν στα γενετικά σύνδρομα που αναλύσαμε και πιο πάνω. Τα pNETs της von Hippel-Lindau νόσου δεν είναι τόσο συχνά όσο στο MEN-1^{90, 91}. Τα NETs μπορεί επίσης να σχετίζονται με ορισμένες γονιδιακές αλληλόμορφες απώλειες, όπως π.χ. η απώλεια 22q13.1-q13.31 που θεωρείται ότι σχετίζεται με την ανάπτυξη των ινσουλινωμάτων⁹². Δεδομένα από διάφορες μελέτες έδειξαν ότι οι συγγενείς πρώτου βαθμού των ασθενών με si-NENs συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης επίσης ενός si-NEN^{93, 94}. Τα pNETs μπορεί να αναπτυχθούν στο 35-75% των ασθενών με MEN-1, και οι ασθενείς αυτοί τείνουν να είναι νεότεροι συγκριτικά με τα σποραδικά pNETs⁹⁵.

Επαγγελματικοί κίνδυνοι

Σε διάφορες μελέτες διερευνήθηκε ο ρόλος της επαγγελματικής έκθεσης και διαφόρων NETs. Σε μια τέτοια πολυκεντρική φαίνεται ότι η απασχόληση στον κλάδο τροφίμων και ποτών, στην κατασκευή οχημάτων και στα υποδήματα συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο si-NETs παρόλο που αυτή η σχέση είναι πολύ αδύνατη και θα μπορούσε να αποδοθεί την τύχη⁹⁶.

ΕΣ Φελέκουρας

Καθηγητής Χειρουργικής

Α' Χειρουργική Κλινική ΕΚΠΑ

ΠΓΝΑ Λαϊκό, Αθήνα

www.felekouras.gr

Βιβλιογραφία

1. Rindi G, Villanacci V, Ubiali A. Biological and molecular aspects of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Digestion* 2000; 62 Suppl 1:19-26.
2. Eriksson B, Arnberg H, Öberg K, et al. Chromogranins--new sensitive markers for neuroendocrine tumors. *Acta Oncol* 1989; 28(3):325-9.
3. Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992; 49(3):497-528.
4. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. *N Engl J Med* 2003; 348(12):1134-49.
5. Modlin IM, Öberg K, Chung DC, et al. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol* 2008; 9(1):61-72.
6. Öberg K. Circulating Biomarkers in Neuroendocrine Tumours. In: Yalcin S, Öberg K, eds. *Neuroendocrine Tumours*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015:pp. 77-95.
7. Vinik AI, Silva MP, Woltering EA, et al. Biochemical testing for neuroendocrine tumors. *Pancreas* 2009; 38(8):876-89.
8. O'Toole D, Grossman A, Gross D, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: biochemical markers. *Neuroendocrinology* 2009; 90(2):194-202.
9. Tomassetti P, Migliori M, Simoni P, et al. Diagnostic value of plasma chromogranin A in neuroendocrine tumours. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13(1):55-8.
10. Gustafsson BI, Kidd M, Modlin IM. Neuroendocrine tumors of the diffuse neuroendocrine system. *Curr Opin Oncol* 2008; 20(1):1-12.
11. Turner GB, Johnston BT, McCance DR, et al. Circulating markers of prognosis and response to treatment in patients with midgut carcinoid tumours. *Gut* 2006; 55(11):1586-91.
12. Chou WC, Hung YS, Hsu JT, et al. Chromogranin A is a reliable biomarker for gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors in an Asian population of patients. *Neuroendocrinology* 2012; 95(4):344-50.
13. Rinke A, Müller HH, Schade-Brittinger C, et al. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *J Clin Oncol* 2009; 27(28):4656-63.
14. Yao JC, Lombard-Bohas C, Baudin E, et al. Daily oral everolimus activity in patients with metastatic pancreatic neuroendocrine tumors after failure of cytotoxic chemotherapy: a phase II trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(1):69-76.
15. Yao JC, Pavel M, Phan AT, et al. Chromogranin A and neuron-specific enolase as prognostic markers in patients with advanced pNET treated with everolimus. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(12):3741-9.
16. Lawrence B, Gustafsson BI, Kidd M, et al. The clinical relevance of chromogranin A as a biomarker for gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011; 40(1):111-34, viii.
17. de Herder WW. Biochemistry of neuroendocrine tumours. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007; 21(1):33-41.
18. Mori M, Mimori K, Kamakura T, et al. Chromogranin positive cells in colorectal carcinoma and transitional mucosa. *J Clin Pathol* 1995; 48(8):754-8.
19. Hsiao RJ, Mezger MS, O'Connor DT. Chromogranin A in uremia: progressive retention of immunoreactive fragments. *Kidney Int* 1990; 37(3):955-64.
20. Syversen U, Opsjon SL, Stridsberg M, et al. Chromogranin A and pancreastatin-like immunoreactivity in normal pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(12):4470-5.
21. Rozansky DJ, Wu H, Tang K, et al. Glucocorticoid activation of chromogranin A gene expression. Identification and characterization of a novel glucocorticoid response element. *J Clin Invest* 1994; 94(6):2357-68.

22. Peracchi M, Gebbia C, Basilisco G, et al. Plasma chromogranin A in patients with autoimmune chronic atrophic gastritis, enterochromaffin-like cell lesions and gastric carcinoids. *Eur J Endocrinol* 2005; 152(3):443-8.
23. Massironi S, Fraquelli M, Paggi S, et al. Chromogranin A levels in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2009; 41(1):31-5.
24. Sanduleanu S, De Bruine A, Stridsberg M, et al. Serum chromogranin A as a screening test for gastric enterochromaffin-like cell hyperplasia during acid-suppressive therapy. *Eur J Clin Invest* 2001; 31(9):802-11.
25. Jensen KH, Hilsted L, Jensen C, et al. Chromogranin A is a sensitive marker of progression or regression in ileo-cecal neuroendocrine tumors. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48(1):70-7.
26. Miki M, Ito T, Hijioka M, et al. Utility of chromogranin B compared with chromogranin A as a biomarker in Japanese patients with pancreatic neuroendocrine tumors. *Jpn J Clin Oncol* 2017; 47(6):520-528.
27. Modlin IM, Bodei L, Kidd M. Neuroendocrine tumor biomarkers: From monoanalytes to transcripts and algorithms. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2016; 30(1):59-77.
28. Modlin IM, Drozdov I, Alaimo D, et al. A multianalyte PCR blood test outperforms single analyte ELISAs (chromogranin A, pancreastatin, neurokinin A) for neuroendocrine tumor detection. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21(4):615-28.
29. Modlin IM, Kidd M, Bodei L, et al. The clinical utility of a novel blood-based multi-transcriptome assay for the diagnosis of neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 2015; 110(8):1223-32.
30. Kidd M, Bodei L, Modlin IM. Chromogranin A: any relevance in neuroendocrine tumors? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2016; 23(1):28-37.
31. Gkolfinopoulos S, Tzapakidis K, Papadimitriou K, et al. Chromogranin A as a valid marker in oncology: Clinical application or false hopes? *World J Methodol* 2017; 7(1):9-15.
32. Zatelli MC, Grossrubatscher EM, Guadagno E, et al. Circulating tumor cells and miRNAs as prognostic markers in neuroendocrine neoplasms. *Endocr Relat Cancer* 2017; 24(6):R223-R237.
33. Oberg K, Modlin IM, De Herder W, et al. Consensus on biomarkers for neuroendocrine tumour disease. *Lancet Oncol* 2015; 16(9):e435-e446.
34. Oberg K. Circulating biomarkers in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18 Suppl 1:S17-25.
35. McGrath-Linden SJ, Johnston CF, O'Connor DT, et al. Pancreastatin-like immunoreactivity in human carcinoid disease. *Regul Pept* 1991; 33(1):55-70.
36. O'Dorisio TM, Krutzik SR, Woltering EA, et al. Development of a highly sensitive and specific carboxy-terminal human pancreastatin assay to monitor neuroendocrine tumor behavior. *Pancreas* 2010; 39(5):611-6.
37. Ardill JE. Circulating markers for endocrine tumours of the gastroenteropancreatic tract. *Ann Clin Biochem* 2008; 45(Pt 6):539-59.
38. Khan TM, Garg M, Warner RR, et al. Elevated Serum Pancreastatin Is an Indicator of Hepatic Metastasis in Patients With Small Bowel Neuroendocrine Tumors. *Pancreas* 2016; 45(7):1032-5.
39. Ardill JE, O'Dorisio TM. Circulating biomarkers in neuroendocrine tumors of the enteropancreatic tract: application to diagnosis, monitoring disease, and as prognostic indicators. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39(4):777-90.
40. Kidd M, Modlin IM, Mane SM, et al. Q RT-PCR detection of chromogranin A: a new standard in the identification of neuroendocrine tumor disease. *Ann Surg* 2006; 243(2):273-80.
41. Schimmack S, Lawrence B, Kenney B, et al. Minichromosome Maintenance Expression Defines Slow-Growing Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms. *Transl Oncol* 2016; 9(5):411-418.

42. Kloppel G, Perren A, Heitz PU. The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors: the WHO classification. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1014:13-27.
43. Metz DC, Jensen RT. Gastrointestinal neuroendocrine tumors: pancreatic endocrine tumors. *Gastroenterology* 2008; 135(5):1469-92.
44. Korse CM, Taal BG, Vincent A, et al. Choice of tumour markers in patients with neuroendocrine tumours is dependent on the histological grade. A marker study of Chromogranin A, Neuron specific enolase, Progastrin-releasing peptide and cytokeratin fragments. *Eur J Cancer* 2012; 48(5):662-71.
45. Grossmann M, Trautmann ME, Poertl S, et al. Alpha-subunit and human chorionic gonadotropin-beta immunoreactivity in patients with malignant endocrine gastroenteropancreatic tumours. *Eur J Clin Invest* 1994; 24(2):131-6.
46. Shah T, Srirajaskanthan R, Bhogal M, et al. Alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotrophin-beta as prognostic markers in neuroendocrine tumour patients. *Br J Cancer* 2008; 99(1):72-7.
47. Modlin IM, Gustafsson BI, Moss SF, et al. Chromogranin A--biological function and clinical utility in neuro endocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol* 2010; 17(9):2427-43.
48. Eriksson P, Brattstrom D, Hesselius P, et al. Role of circulating cytokeratin fragments and angiogenic factors in NSCLC patients stage IIIa-IIIb receiving curatively intended treatment. *Neoplasma* 2006; 53(4):285-90.
49. Brattstrom D, Wagenius G, Sandstrom P, et al. Newly developed assay measuring cytokeratins 8, 18 and 19 in serum is correlated to survival and tumor volume in patients with esophageal carcinoma. *Dis Esophagus* 2005; 18(5):298-303.
50. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(6):426-37.
51. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci* 2010; 101(10):2087-92.
52. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(30):10513-8.
53. Li SC, Essaghir A, Martijn C, et al. Global microRNA profiling of well-differentiated small intestinal neuroendocrine tumors. *Mod Pathol* 2013; 26(5):685-96.
54. Kidd M, Modlin IM, Bodei L, et al. Decoding the Molecular and Mutational Ambiguities of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasm Pathobiology. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2015; 1(2):131-153.
55. Oberg K, Krenning E, Sundin A, et al. A Delphic consensus assessment: imaging and biomarkers in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor disease management. *Endocr Connect* 2016; 5(5):174-87.
56. Bowden M, Zhou CW, Zhang S, et al. Profiling of metastatic small intestine neuroendocrine tumors reveals characteristic miRNAs detectable in plasma. *Oncotarget* 2017; 8(33):54331-54344.
57. Chan DL, Clarke SJ, Diakos CI, et al. Prognostic and predictive biomarkers in neuroendocrine tumours. *Crit Rev Oncol Hematol* 2017; 113:268-282.
58. Litvinov SV, Velders MP, Bakker HA, et al. Ep-CAM: a human epithelial antigen is a homophilic cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 1994; 125(2):437-46.
59. Ming Y, Li Y, Xing H, et al. Circulating Tumor Cells: From Theory to Nanotechnology-Based Detection. *Front Pharmacol* 2017; 8:35.
60. Cai LL, Ye HM, Zheng LM, et al. Circulating tumor cells (CTCs) as a liquid biopsy material and drug target. *Curr Drug Targets* 2014; 15(10):965-72.
61. Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* 2004; 10(20):6897-904.

62. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(8):781-91.
63. Khan MS, Tsigani T, Rashid M, et al. Circulating tumor cells and EpCAM expression in neuroendocrine tumors. *Clin Cancer Res* 2011; 17(2):337-45.
64. Childs A, Vesely C, Ensell L, et al. Expression of somatostatin receptors 2 and 5 in circulating tumour cells from patients with neuroendocrine tumours. *Br J Cancer* 2016; 115(12):1540-1547.
65. Lawrence B, Gustafsson BI, Chan A, et al. The epidemiology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011; 40(1):1-18, vii.
66. Hallet J, Law CH, Cukier M, et al. Exploring the rising incidence of neuroendocrine tumors: a population-based analysis of epidemiology, metastatic presentation, and outcomes. *Cancer* 2015; 121(4):589-97.
67. Kilickap S, Hayran KM. Epidemiology of Neuroendocrine Tumors. In: Yalcin S, Öberg K, eds. *Neuroendocrine Tumours*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015;pp. 23-33.
68. Yao JC, Hassan M, Phan A, et al. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26(18):3063-72.
69. Ahmed A, Turner G, King B, et al. Midgut neuroendocrine tumours with liver metastases: results of the UKINETS study. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16(3):885-94.
70. Bahri H, Laurence L, Edeline J, et al. High prognostic value of 18F-FDG PET for metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: a long-term evaluation. *J Nucl Med* 2014; 55(11):1786-90.
71. Estrella JS, Broaddus RR, Mathews A, et al. Progesterone receptor and PTEN expression predict survival in patients with low- and intermediate-grade pancreatic neuroendocrine tumors. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138(8):1027-36.
72. Marinoni I, Kurrer AS, Vassella E, et al. Loss of DAXX and ATRX are associated with chromosome instability and reduced survival of patients with pancreatic neuroendocrine tumors. *Gastroenterology* 2014; 146(2):453-60 e5.
73. Kim JY, Hong SM. Recent Updates on Neuroendocrine Tumors From the Gastrointestinal and Pancreatobiliary Tracts. *Arch Pathol Lab Med* 2016; 140(5):437-48.
74. Amair-Pinedo F, Matos I, Sauri T, et al. The Treatment Landscape and New Opportunities of Molecular Targeted Therapies in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *Target Oncol* 2017; 12(6):757-774.
75. Khan MS, Kirkwood AA, Tsigani T, et al. Early Changes in Circulating Tumor Cells Are Associated with Response and Survival Following Treatment of Metastatic Neuroendocrine Neoplasms. *Clin Cancer Res* 2016; 22(1):79-85.
76. Elsassner SJ, Allis CD, Lewis PW. Cancer. New epigenetic drivers of cancers. *Science* 2011; 331(6021):1145-6.
77. Stricker I, Tzivras D, Nambiar S, et al. Site- and grade-specific diversity of LINE1 methylation pattern in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Anticancer Res* 2012; 32(9):3699-706.
78. Choi IS, Estecio MR, Nagano Y, et al. Hypomethylation of LINE-1 and Alu in well-differentiated neuroendocrine tumors (pancreatic endocrine tumors and carcinoid tumors). *Mod Pathol* 2007; 20(7):802-10.
79. Arnold CN, Sosnowski A, Schmitt-Graff A, et al. Analysis of molecular pathways in sporadic neuroendocrine tumors of the gastro-entero-pancreatic system. *Int J Cancer* 2007; 120(10):2157-64.
80. Cives M, Strosberg J. Treatment Strategies for Metastatic Neuroendocrine Tumors of the Gastrointestinal Tract. *Curr Treat Options Oncol* 2017; 18(3):14.
81. Cives M, Simone V, Rizzo FM, et al. NETs: organ-related epigenetic derangements and potential clinical applications. *Oncotarget* 2016; 7(35):57414-57429.

82. Boora GK, Kanwar R, Kulkarni AA, et al. Exome-level comparison of primary well-differentiated neuroendocrine tumors and their cell lines. *Cancer Genet* 2015; 208(7-8):374-81.
83. Vandamme T, Peeters M, Dogan F, et al. Whole-exome characterization of pancreatic neuroendocrine tumor cell lines BON-1 and QGP-1. *J Mol Endocrinol* 2015; 54(2):137-47.
84. Angermueller C, Clark SJ, Lee HJ, et al. Parallel single-cell sequencing links transcriptional and epigenetic heterogeneity. *Nat Methods* 2016; 13(3):229-232.
85. Chiappinelli KB, Strissel PL, Desrichard A, et al. Inhibiting DNA Methylation Causes an Interferon Response in Cancer via dsRNA Including Endogenous Retroviruses. *Cell* 2015; 162(5):974-86.
86. Roulois D, Loo Yau H, Singhania R, et al. DNA-Demethylating Agents Target Colorectal Cancer Cells by Inducing Viral Mimicry by Endogenous Transcripts. *Cell* 2015; 162(5):961-73.
87. Weintraub K. Take two: Combining immunotherapy with epigenetic drugs to tackle cancer. *Nat Med* 2016; 22(1):8-10.
88. Dasari A, Shen C, Halperin D, et al. Trends in the Incidence, Prevalence, and Survival Outcomes in Patients With Neuroendocrine Tumors in the United States. *JAMA Oncol* 2017; 3(10):1335-1342.
89. The Gastrointestinal Pathology Study Group of Korean Society of P, Cho M-Y, Kim JM, et al. Current Trends of the Incidence and Pathological Diagnosis of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors (GEP-NETs) in Korea 2000-2009: Multicenter Study. *Cancer Research and Treatment : Official Journal of Korean Cancer Association* 2012; 44(3):157-165.
90. Thakker RV, Newey PJ, Walls GV, et al. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(9):2990-3011.
91. Maher ER, Neumann HP, Richard S. von Hippel-Lindau disease: a clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet* 2011; 19(6):617-23.
92. Jonkers YM, Ramaekers FC, Speel EJ. Molecular alterations during insulinoma tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775(2):313-32.
93. Babovic-Vuksanovic D, Constantinou CL, Rubin J, et al. Familial occurrence of carcinoid tumors and association with other malignant neoplasms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(8):715-9.
94. Hemminki K, Li X. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors: a nationwide epidemiologic study from Sweden. *Cancer* 2001; 92(8):2204-10.
95. Pieterman CR, Vriens MR, Drienerink KM, et al. Care for patients with multiple endocrine neoplasia type 1: the current evidence base. *Fam Cancer* 2011; 10(1):157-71.
96. Kaerlev L, Teglbjaerg PS, Sabroe S, et al. Occupational risk factors for small bowel carcinoid tumor: a European population-based case-control study. *J Occup Environ Med* 2002; 44(6):516-22.