

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-38-44

УДК: 616.37–006.6:616–079.5

Послеоперационная выживаемость больных раком поджелудочной железы в зависимости от процентного содержания клеток с нейроэндокринной дифференцировкой в опухоли

Кит О.И.¹, Франциянц Е.М.¹, Дерижанова И.С.², Карнаухов Н.С.¹, Кузнецова М.А.¹, Волошин М.В.², Трифанов В.С.¹, Алейнов В.И.¹¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава РФ (Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63)² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29)

The effect of neuroendocrine differentiation on the survival of patients diagnosed with pancreatic ductal adenocarcinoma

O. I. Kit¹, E. M. Franciyanc¹, I. S. Derizhanova², N. S. Karnaukhov¹, M. A. Kuznetsova¹, M. V. Voloshin², V. S. Trifanov¹, V. I. Aleinov¹¹ National medical research centre for oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Rostov-on-Don, st. 14th line, 63, Russia)² Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Rostov-on-Don, Nahichevansky av., 29, Russia)

Для цитирования: Кит О.И., Франциянц Е.М., Дерижанова И.С., Карнаухов Н.С., Кузнецова М.А., Волошин М.В., Трифанов В.С., Алейнов В.И. Послеоперационная выживаемость больных раком поджелудочной железы в зависимости от процентного содержания клеток с нейроэндокринной дифференцировкой в опухоли. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020;184(12): 38–44. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-38-44

For citation: Kit O. I., Franciyanc E. M., Derizhanova I. S., Karnaukhov N. S., Kuznetsova M. A., Voloshin M. V., Trifanov V. S., Aleinov V. I. The effect of neuroendocrine differentiation on the survival of patients diagnosed with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;184(12): 38–44. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-38-44

✉ *Corresponding author:***Карнаухов****Николай Сергеевич**

Nikolay S. Karnaukhov

nick07@bk.ru

Кит Олег Иванович, генеральный директор, член-корр. РАН, профессор, д.м.н.**Франциянц Елена Михайловна**, зам. директора по науке, профессор, доктор биологических наук**Дерижанова Ирина Сергеевна**, зав. кафедрой патологической анатомии, профессор, д.м.н.**Карнаухов Николай Сергеевич**, зав. патологоанатомическим отделением, к.м.н.**Кузнецова Марина Александровна**, врач-патологоанатом**Волошин Марк Витальевич**, врач-ординатор специальности «Патологическая анатомия»**Трифанов Владимир Сергеевич**, ведущий научный сотрудник, к.м.н.**Алейнов Вячеслав Игоревич**, аспирант

Oleg I. Kit, CEO, Corresponding Member RAS, Professor, Doctor of Medical Sciences; SPIN: 1728–0329

Elena M. Franciyanc, Deputy Director for Science, Professor, Doctor of Biological Sciences; SPIN: 9427–9928

Irina S. Derizhanova, Head Department of Pathological Anatomy, Professor, Doctor of Medical Sciences; SPIN: 6648–8047

Nikolay S. Karnaukhov, Head of the Pathology Department, Candidate of Medical Sciences; SPIN: 3100–0820

Marina A. Kuznetsova, pathologist; SPIN: 7647–1737

Mark V. Voloshin, resident of pathology; SPIN: 6122–4084, ResearcherID: C-5601–2018; ORCID: 0000–0002–2302–3542

Vladimir S. Trifanov, Leading Researcher, Candidate of Medical Sciences; SPIN: 3710–8052

Vyacheslav I. Aleinov, post-graduate; SPIN: 4731–0642

Резюме

Цель исследования. Выявить частоту MiNeN среди карцином поджелудочной железы и провести анализ выживаемости пациентов в зависимости от процентного содержания клеток с нейроэндокринной дифференцировкой в опухоли.

Материалы и методы. В текущее исследование был включен 31 пациент с различными вариантами локализации опухоли поджелудочной железы (головка, тело, хвост), получивших хирургическое лечение в ФГБУ РНИОИ Минздрава РФ в 2011–2019 гг. Удаленные опухоли были исследованы иммуногистохимически с антителами к хромогранину А, синаптофизину и Ki-67. MiNeN выявлены в 3х наблюдениях (10,3%). На основании полученных данных в зависимости от доли нейроэндокринной дифференцировки выделены 4 группы.

Результаты. Доказано прямое влияние нейроэндокринной дифференцировки на выживаемость пациентов с гистологически подтвержденной протоковой аденокарциномой поджелудочной железы. Среди выборки из 31 пациента выявлена нейроэндокринная дифференцировка в 24 наблюдениях (77%), из которых обнаружено 3 случая MiNeN (10,3%). Также доказана прямая взаимосвязь между нейроэндокринной дифференцировкой и выживаемостью

пациентов, где увеличение процента содержания положительных клеток в опухоли на хромогранин А или синаптофизин означает лучший прогноз для пациента. В свою очередь, хромогранин А проявил себя как независимый предиктор выживаемости пациентов в большей степени, по сравнению с синаптофизин. Наибольшая разница по уровню выживаемости была между отрицательной экспрессией хромогранина А и наличием более 1% позитивных клеток в опухоли.

Заключение. Мы полагаем, что следует использовать нейроэндокринные маркеры (хромогранин А и синаптофизин) при диагностике протоковых аденокарцином, даже без гистологических признаков нейроэндокринной дифференцировки, что позволит на большем объеме данных определить их значимость как прогностических маркеров.

Ключевые слова: протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, нейроэндокринная дифференцировка, хромогранин А, синаптофизин, MiNeN, выживаемость пациентов после хирургического лечения

Summary

Purpose of the study. Determine the frequency of MiNeN among pancreatic carcinomas and analyze the survival rate of patients depending on the percentage of cells with neuroendocrine differentiation in the tumor.

Materials and methods. The current study included 31 patients with a pancreatic tumor who received surgical treatment at the Rostov Cancer Research Institute. An immunohistochemical study was conducted on biomarkers of chromogranin A, synaptophysin, and ki-67 for these patients. Based on the data obtained, 4 groups for neuroendocrine differentiation were identified.

Results. The direct effect of neuroendocrine differentiation on the survival of patients with histologically confirmed pancreatic ductal adenocarcinoma has been proven. Among the sample of 31 patients, neuroendocrine differentiation was revealed in 24 cases (77%), of which 3 cases of MiNeN (10.3%) were detected. It is also proven relationship between neuroendocrine and patient survival, where an increase percent of positive cells in tumors (chromogranin A or synaptophysin) means a better prognosis. Chromogranin A is a more significant predictor of survival compared to synaptophysin. The largest difference in survival was between negative expression of chromogranin A and the presence of more than 1% positive cells in the tumor.

Conclusion. We supposed that it is necessary to use neuroendocrine markers (chromogranin A and synaptophysin) in the diagnosis of ductal adenocarcinomas, even without histological signs of neuroendocrine differentiation. This will allow for a larger amount of data to determine their significance as prognostic markers.

Keywords: pancreatic ductal adenocarcinoma, neuroendocrine differentiation, Chromogranin A, Synaptophysin, MiNeN

Введение

Рак поджелудочной железы – злокачественная эпителиальная опухоль, которая в структуре онкозаболеваний населения России в 2015 году составила 3,3% [1]. Различают три типа клеток, формирующих паренхиму опухоли: протоковые, ацинарные и нейроэндокринные [2–4]. Встречаются также различные комбинации этих клеточных популяций.

В 2019 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала пятое издание «Классификация опухолей. желудочно-кишечного тракта» [5]. В ней особое место отводится смешанным нейро – нейроэндокринным опухолям поджелудочной железы (MiNeN). Выделяют следующие их подтипы: смешанная протоковая карцинома (мелко- и крупноклеточная), смешанная протоковая аденокарцинома и нейроэндокринная опухоль; смешанные ацинарно-клеточная и нейроэндокринная карциномы; смешанные ацинарно-клеточная карцинома- протоковая карцинома и нейроэндокринная карцинома. Связь между выживаемостью и содержанием синаптофизина выявлена лишь в наблюдениях, когда более 30%

клеток имели признаки нейроэндокринной дифференцировки. В остальных случаях взаимосвязи между содержанием синаптофизина и выживаемостью больных не обнаружено. Наибольшая выживаемость отмечена у пациентов с опухолями, содержащими в нейроэндокринном компоненте более 30% хромогранин А-позитивных клеток. Аналогичные результаты отмечены и у пациентов с опухолями поджелудочной железы, экспрессирующими наибольшее количество синаптофизина. При более низких показателях содержания синаптофизина, отличий в выживаемости оперированных пациентов не отмечается. Смешанные нейроэндокринные – нейроэндокринные карциномы поджелудочной железы являются редкими эпителиальными новообразованиями и составляют менее 2% всех гастроэнтеропанкреатических нейроэндокринных опухолей [6]. Они характеризуются сочетанием протокового (железистого), ацинарного и нейроэндокринного компонентов [7]. Согласно классификации ВОЗ для постановки диагноза MiNeN необходимо, чтобы в опухоли присутствовало не менее 30% каждого из ком-

понентов [5]. Диагноз устанавливается при стандартной окраске гематоксилин-эозином, но для его подтверждения рекомендуется иммуногистохимическое исследование.

Компоненты протоковой и ацинарной аденокарциномы поджелудочной железы (PDAC) экспрессируют целый ряд кератинов, включая общий цитокератин, цитокератин 7, а также гликопротеины карциноэмбрионального антигена (CEA), СА19-9, MUC1 и B72.3 [8]. Низкодифференцированные клетки дают положительную ядерную реакцию на p53 (что свидетельствует о мутации гена p53) [9,10], не окрашиваются на DPC4 (что свидетельствует о мутации гена DPC4) и обладают высокой митотической активностью, соответствующей высоким индексам Ki-67 [11]. В отличие от эпителиальных клеток железистого происхождения, нейроэндокринные клетки экспрессируют нейроэндокринные маркеры (синаптофизин и хромогранин А), как правило, более чем в 10%, в дополнение к эпителиальным маркерам, таким как общий цитокератин. Синаптофизин более чувствителен, чем хромогранин А, но последний более специфичен. [12]. Антитело CD56 нацелено на молекулы адгезии нервных клеток (NCAMs), и, хотя это наименее специфичный нейроэндокринный маркер, он может быть полезен в дифференциальной диагностике. P53 является положительным в нейроэндокринных клетках, а Rb теряется в 90% [13]. Некоторые исследователи считают, что потери Rb являются доказательством нейроэндокринной дифференцировки. Панкреатический дуоденальный гомеодоменный белок 1 (PDX-1) также может быть положительным в 40% случаев низкодифференцированной нейроэндокринной карциномы. Белок VCL2 также положителен в низкодифференцированной нейроэндокринной карциноме (100% в мелкоклеточных подтипах и 50% в крупноклеточных), но отрицателен или фокально положителен

в высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли [13]. Индекс маркера Ki-67 обычно высок (более 50% и выше) в низкодифференцированной нейроэндокринной карциноме, но находится между 0 и 20% в высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли [5].

Возраст пациентов с MiNeN варьирует от 21 до 84 лет (в среднем 68 лет), причем мужчины и женщины страдают одинаково часто [11,14–21]. Опухоли преимущественно возникают в головке поджелудочной железы, размером от 2 до 12 см (в среднем, 5,6 см). [11,15,18]. Смешанные протоково-нейроэндокринные карциномы обычно метастазируют в лимфатические узлы и печень. Резектабельность опухоли является наиболее важным прогностическим фактором. 2-летняя и 5-летняя выживаемость пациентов составляет 25% и 0% соответственно. Тем не менее, немногочисленные прогностические данные позволяют предположить, что пациенты со смешанной протоково-нейроэндокринной карциномой имеют несколько более длительное среднее время выживания, чем пациенты только с нейроэндокринной карциномой (20 месяцев против 12 месяцев) [5]. После операции пациенты со смешанным ацинарно-нейроэндокринным раком демонстрируют такую же 5-летнюю выживаемость (30–50%), что и пациенты только с ацинарно-клеточным раком. Вопрос оптимального лечения MiNeN остается актуальным, но для низкодифференцированного нейроэндокринного компонента карцином предпочтительными являются схемы химиотерапии на основе платины [23].

В мировой литературе встречается немного статей о данной патологии, наиболее известным автором является Stefano La Rosa [24]. Большинство других литературных источников посвящено описанию клинических случаев отдельных локализаций. Истинное же количество MiNeN остается неизвестным.

Материал и методы

Было проведено иммуногистохимическое исследование опухолей поджелудочной железы 36 пациентов, которым была выполнена панкреатодуоденальной или корпорокаудальной резекция в ФГБУ РНИОИ Минздрава РФ в период с 2011 по 2018 год. Данные по выживаемости были взяты в Государственном раковом регистре Ростовской области у 31 пациента. Среди пациентов 16 мужчин и 15 женщин, средний возраст 60 лет (от 50 до 79 лет).

Согласно классификации pTNM рака поджелудочной железы (8-е издание, 2018 год) стадию I имели 12 пациентов, стадию IIА – 7 пациентов, стадию IIВ – 12 пациентов. По уровню экспрессии Ki-67 были выделены две группы: 0–20% Ki-67 – позитивных клеток было у 10 пациентов и более 20% Ki-67 позитивных клеток – у 21 пациента. По уровню дифференцировки (Grade) были выделены две группы: умеренная степень дифференцировки (Grade 2) наблюдалась у 22 пациентов, низкая степень дифференцировки (Grade 3) – у 9 пациентов (Таблица 1).

Операционный материал фиксировали по стандартной методике в 10%-забуференном нейтральном формалине в течение 24 часов, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 3–4 мкм на ротационном микротоме Accu-Cut SRM 200 фирмы Sakura (Япония). Срезы наносили на высокоадгезивные положительно заряженные стекла и высушивали вертикально в термостате при температуре 55–56 °С в течение 10 часов. Депарафинизацию, восстановление антигенной активности и все этапы иммуногистохимической реакции, а также докраску гематоксилином проводили в иммуногистостейнере VENTANA BenchMark ULTRA фирмы Roche. В качестве системы детекции первичных антител была использована «UltraView Universal DAB Detection», произведенная фирмой Ventana Medical Systems для VENTANA BenchMark ULTRA. Антитела, использованные для иммуногистохимических реакций, их производитель, клон, рабочее разведение и условия демаскировки антигенов при 97 °С: Ki-67 (SpringBio, SP6, 1:200, Трис-ЭДТА буфер pH=9 в 36 мин), Synaptophysin (Cell Marque, MRQ-40, 1:300,

Клинико-патологические параметры	Всего пациентов	Среднее время выживания (месяцев, CI 95%)	Log-rank	p-value
Пол				
Мужской	15	10,4 (10,0–17,8)	0,400	0,527
Женский	16	13,9 (7,7–13,1)		
Возраст				
≤60 лет	15	11,5 (8,4–14,6)	0,417	0,518
>60 лет	16	14,0 (10,0–18,0)		
Глубина инвазии (T)				
1	7	- (все живы)	4,008	0,135
2	10	10,5 (6,8–14,3)		
3	14	10,0 (7,1–12,7)		
Метастазы в лимфатических узлах (N)				
0	19	11,7 (9,0–14,6)	0,030	0,863
1	12	12,0 (8,7–15,4)		
Стадия pTNM				
I	12	12,1 (7,3–16,9)	7,446	0,059
IIA	7	7,4 (3,4–11,5)		
IIB	12	10,7 (8,7–15,4)		
Степень дифференцировки (Grade)				
2	22	13,6 (10,4–16,7)	0,281	0,596
3	9	11,4 (7,1–15,7)		

Таблица 1.

Сравнение частот качественных показателей с общей выживаемостью (OS)

Примечание:

в таблице встречаемость представлена в виде частот; сравнение осуществлялось с помощью анализа выживаемости

Table 1.

Comparison of frequencies of quality indicators with overall survival (OS)

Note:

in the table, the occurrence is presented as frequencies; comparison was done using survival analysis

Трис-ЭДТА буфер pH=9 в 64 мин), Chromogranin A (Cell Marque, LK2H10, 1:400, Трис-ЭДТА буфер pH=9 в 36 мин). Экспрессию биомаркеров оценивали по проценту положительных клеток в опухоли.

Метод Каплана-Мейера использовался для построения кривых выживания, а также расчета среднего времени выживания. Разница между группами по выживаемости сравнивалась с использованием логарифмического рангового

критерия. Сравнения групп по клинико-патологическим параметрам были оценены с использованием критерия хи-квадрат Пирсона, скорректированным поправкой Йейтса для непрерывности. Все статистические анализы были выполнены с использованием SPSS16.0 для Windows (SPSS, Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Все значения P были двусторонними, и считалось, что P < 0,05 указывает на статистически значимое различие.

Результаты и обсуждение

Пациентов разделили на 4 группы в зависимости от процентного содержания в опухоли клеток с нейроэндокринной дифференцировкой, с учетом наибольшей экспрессии одного из двух нейроэндокринных маркеров и гистологической классификации: I группа: протоковая аденокарцинома – 7 пациентов; II группа: протоковая аденокарцинома с нейроэндокринной дифференцировкой в 1–9% клеток опухоли – 16 пациентов; III группа: протоковая аденокарцинома с нейроэндокринной дифференцировкой в 10–29% клеток опухоли – 5 пациентов и IV группа: MiNeN (>30%) – 3 пациента (10,3%).

Из 31 пациентов 18 оставались в живых на момент окончания исследования, медиана времени наблюдения составляет 13 месяцев, их данные были цензурированы. Однофакторный анализ выживаемости показал положительную корреляцию между нейроэндокринной дифференцировкой и выживаемостью пациентов, т.е. чем больше% содержания положительных клеток в опухоли на хромогранин А или синаптофизин, тем лучше прогноз (log-rank = 10,879; p = 0,012) (Таблица 2). При этом подавляющее различие в выживаемости было между I группой, с отсутствием нейроэндокринного компонента, и II группой, с 1–9% нейроэндокринной дифференцировки в опухоли (среднее время выживания

6,2 против 13,1 месяцев), в то время, как между II и III группой значимой разницы не было (13,1 против 14,1 месяцев). В IV группе (>30% позитивных клеток) все пациенты остались живы на момент окончания наблюдения, на кривых выживания их данные цензурированы (Рис. 1). Статистически значимых различий по стадии (хи-квадрат = 10,781; p = 0,291), полу (хи-квадрат = 6,880; p = 0,076), возрасту (хи-квадрат = 2,589; p = 0,459) в данных группах не было выявлено.

В связи с тем, что в определении нейроэндокринной дифференцировки использовалось 2 биомаркера, было решено сравнить данные по выживаемости пациентов для каждого из них.

На основании определения уровня экспрессии хромогранина А в опухолевых клетках были выделены 4 группы: отсутствие экспрессии в опухоли – 10 пациентов; 1–9% – 14 пациентов; 10–29% – 4 пациента и более 30% – 3 пациента. Аналогично были проанализированы данные и по синаптофизину. Выделены 3 группы: отсутствие экспрессии в опухоли – 13 пациентов; 1–9% – 11 пациентов и более 10% – 7 пациентов.

В результате была выявлена связь общей выживаемости с процентом позитивных клеток на хромогранин А в опухоли (log-rank = 21,398; p <

Таблица 2.
Сравнение частот качественных показателей при иммуногистохимическом исследовании с общей выживаемостью (OS)

Примечание:
в таблице встречаемость представлена в виде частот; сравнение осуществлялось с помощью анализа выживаемости

Table 2.
Comparison of frequencies of qualitative parameters in immunohistochemical study with overall survival (OS)

Note:
in the table, the occurrence is presented as frequencies; comparison was done using survival analysis

Клинико-патологические параметры	Всего пациентов	Среднее время выживания (месяцев, CI 95%)	Log-rank	p-value
Кi-67				
Низкий (0–20%)	10	11,1 (6,7–15,1)	0,187	0,666
Высокий (>20%)	21	12,1 (9,5–14,8)		
Нейроэндокринная дифференцировка (хромогранин А и/или синаптофизин)				
0%	7	6,2 (3,6–8,8)	10,879	0,012
1–9%	16	13,1 (10,2–16,0)		
10–29%	5	14,1 (10,8–17,4)		
>30%	3	- (все живы)		
Хромогранин А				
0%	10	5,5 (3,5–7,4)	21,398	0,000
1–9%	14	15,1 (13,0–17,1)		
10–29%	4	15,1 (11,9–18,5)		
>30%	3	- (все живы)		
Синаптофизин				
0%	13	10,0 (6,6–13,3)	3,163	0,206
1–9%	11	11,5 (8,6–14,4)		
>10%	7	15,2 (11,9–18,5)		

Рисунок 1.
Выживаемость пациентов с опухолями поджелудочной железы в зависимости от% содержания позитивных клеток на хромогранин А и/или синаптофизин.

Figure 1.
Survival of patients with pancreatic tumors depending on the percentage of positive cells for chromogranin A and / or synaptophysin.

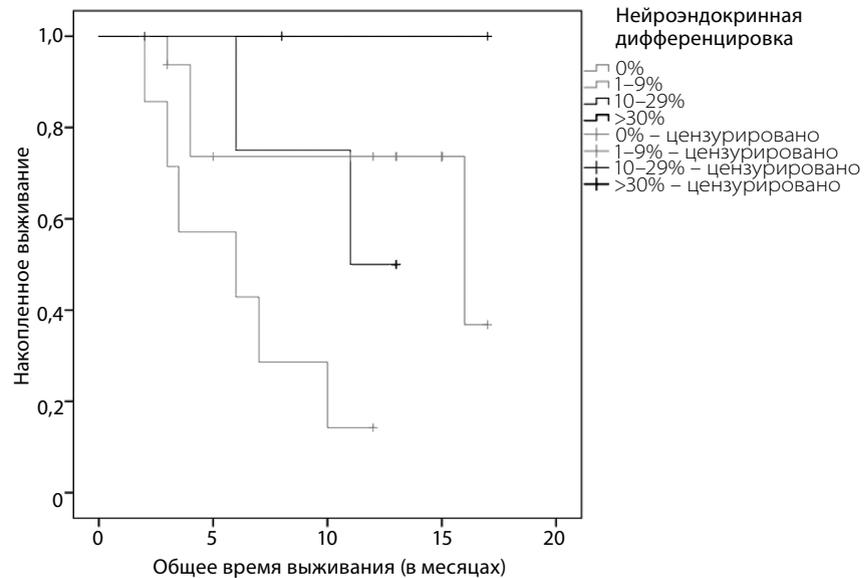
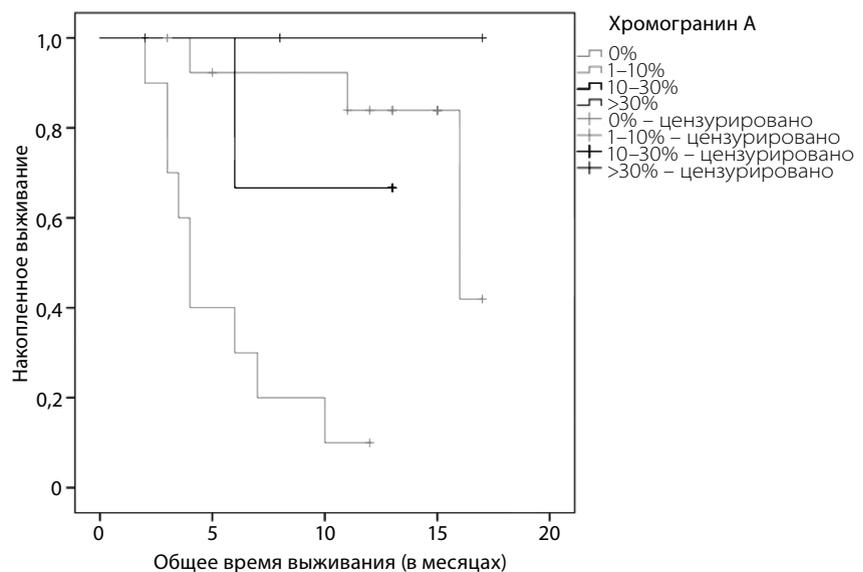


Рисунок 2.
Выживаемость пациентов с опухолями поджелудочной железы в зависимости от% содержания позитивных клеток на хромогранин А.

Figure 2.
Survival in patients with pancreatic tumors as a function of percentage chromogranin A positive cells.



0,0001) (Рис. 2). В свою очередь, в группах по синаптофизину, по уровню выживаемости не было выявлено статистически значимых различий.

Не было обнаружено статистически значимой связи между уровнем экспрессии Ki-67 и общей выживаемостью (log-rank = 0,059; p = 0,808), а также

между степенью дифференцировки (Grade) и общей выживаемостью (log-rank = 0,281; p = 0,596). Не было выявлено статистически значимой связи стадии pTNM ни с общей выживаемостью (log-rank = 7,446; p = 0,059), ни с одним из клинико-патологических параметров. (Таблица 1).

Заключение

В группе пациентов (31 наблюдение) с гистологически подтвержденной в операционном материале протоковой аденокарциномой поджелудочной железы при помощи ИГХ метода выявлена нейроэндокринная дифференцировка в 24 наблюдениях (77%), из которых обнаружено 3 случая MiNeN (10,3%).

Также доказана прямая взаимосвязь между нейроэндокринной дифференцировкой и выживаемостью пациентов, где увеличение% содержания положительных клеток в опухоли на хромогранин А или синаптофизин означает лучший прогноз для пациента. В свою очередь, хромогранин А проявил себя как независимый предиктор выживаемости пациентов в большей степени, по сравнению с синаптофизинном.

Наибольшая разница по уровню выживаемости была между отрицательной экспрессией хро-

могранина А и наличием более 1% позитивных клеток в опухоли, что говорит о необходимости определения даже низкого уровня экспрессии этого маркера нейроэндокринной дифференцировки.

Мы полагаем, что следует использовать нейроэндокринные маркеры (хромогранин А и синаптофизин) при диагностике протоковых аденокарцином, даже без гистологических признаков нейроэндокринной дифференцировки, что позволит на большем объеме данных определить их значимость как прогностических маркеров. Планируется дальнейший сбор клинических данных для проверки гипотез уже на значительно большей выборке пациентов, а также с использованием ядерных маркеров нейроэндокринной дифференцировки (INSM1).

Литература | References

1. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. / М.: Издательская группа РОНЦ, 2014. – 226 с
Davydov M. I., Aksel' E. M. Statistika zlokachestvennykh novoobrazovaniy v Rossii i stranah SNG v 2012 g [Statistics of malignant neoplasms in Russia and the CIS countries in 2012]. Moscow, RONC Publishing Group, 2014. 226 p.
2. Делекторская В. В. Нейроэндокринные новообразования поджелудочной железы: новые аспекты морфологической классификации (Всемирная организация здравоохранения, 2017) // Успехи молекулярной онкологии. – 2017. – Т. 4. – № 3. – С. 104–108.
Delektorskaya V. V. Nejoendokrinnnye novoobrazovaniya podzheludochnoj zhelezy: novye aspekty morfologicheskoy klassifikacii (Vsemirnaya organizaciya zdравоохранeniya, 2017) [Pancreatic neuroendocrine neoplasms: new aspects of morphological classification (World Health Organization, 2017)]. Uspekhi molekulyarnoy onkologii – Advances in molecular oncology, 2017;4(3):104–108.
3. Кубышкин В. А., Кочатков А. В., Константинова М. М., Кригер А. Г. Нейроэндокринная неоплазия поджелудочной железы: терминология, классификация и стадирование // Хирургия. – 2012. – № 6. – С.
Kubyshkin VA, Kochatkov AV, Konstantinova MM, Kriger AG. The terminology, classifications and staging of neuroendocrine tumors of the pancreas. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal imeni N. I. Pirogova.* 2012;(6):4–8.
4. Черноусов А. Ф., Егоров А. В., Мусаев Г. Х. Нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы: 30-летний опыт клиники факультетской хирургии им. Н. Н. Бурденко // Хирургия. – 2013. – № 7. – С. 13–19.
Chernousov AF, Egorov AV, Musaev GK, et al. Neuroendocrine tumors of a pancreas: 30 year's experience of clinic of faculty surgery of N. N. Burdenko. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal imeni N. I. Pirogova.* 2013;(7):13–19.
5. Кит О. И., Дерижанова И. С., Карнаухов Н. С., Новикова И. А., Ульянова Е. П., Трифанов В. С. Скрининг нейроэндокринного компонента в раке желудка. Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. С. 3.
Kit O. I., Derizhanova I. S., Karnauhov N. S., et al. Skringing nejroendokrinnogo komponenta v rake zheludka [Screening of the neuroendocrine component in gastric cancer]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya – Modern problems of science and education,* 2016, no. 5, 3 p.
6. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2020 Jan;76(2):182–188
7. Mandys V, Jirasek T. Spectrum of gastroenteropancreatic NENs in routine histological examinations of bioptic and surgical specimen: a study of 161 cases collected from 17 departments of pathology in the Czech Republic. *Gastroenterol Res Pract.* 2014: 373828
8. Reid M. D., Akkas G., Basturk O., Adsay V. Mixed Adenoneuroendocrine Carcinoma of the Pancreas. In: La Rosa S., Sessa F. (eds) *Pancreatic Neuroendocrine Neoplasms.* Springer, Cham 2015.
9. Ohike N, Jurgensen A, Pipeleers-Marichal M et al. Mixed ductal-endocrine carcinomas of the pancreas and ductal adenocarcinomas with scattered endocrine cells: characterization of the endocrine cells. *Virchows Arch.* 2003;442:258–265

10. Chang SM, Yan ST, Wei CK *et al.* Solitary concomitant endocrine tumor and ductal adenocarcinoma of pancreas. *World J Gastroenterol.* 2010;16:2692–2697
11. Chatelain D., Parc Y., Christin-Maitre S., *et al.* Mixed ductal-pancreatic polypeptide-cell carcinoma of the pancreas. *Histopathology.* 2002;41:122–126
12. Basturk O., Tang L., Hruban RH., *et al.* Poorly differentiated neuroendocrine carcinomas of the pancreas: a clinicopathologic analysis of 44 cases. *Am J Surg Pathol.* 2014;38:437–447
13. Shia J., Tang LH., Weiser MR., *et al.* Is nonsmall cell type high-grade neuroendocrine carcinoma of the tubular gastrointestinal tract a distinct disease entity? *Am J Surg Pathol.* 2008;32:719–731
14. Yachida S, Vakiani E, White CM, *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;36:173–184
15. Ahmad Z, Mumtaz S, Fatima S, *et al.* Mixed ductal-endocrine carcinoma of pancreas. *BMJ Case Rep.* 2011.
16. Chang SM, Yan ST, Wei CK, *et al.* Solitary concomitant endocrine tumor and ductal adenocarcinoma of pancreas. *World J Gastroenterol.* 2010;16:2692–2697
17. Kloppel G. Mixed exocrine-endocrine tumors of the pancreas. *Semin Diagn Pathol.* 2000;17:104–108
18. Hirano H, Terada N, Yamada N, *et al.* A case of mixed ductal-endocrine carcinoma of the pancreas. *Med Mol Morphol.* 2011; 44:58–62
19. Ballas KD, Rafailidis SF, Demertzidis C, *et al.* Mixed exocrine-endocrine tumor of the pancreas. *JOP.* 2005;6:449–454
20. Carter RR, Woodall CE3rd, McNally ME, *et al.* Mixed ductal-endocrine carcinoma of the pancreas with synchronous papillary carcinoma-in-situ of the common bile duct: a case report and literature review – synchronous pancreatic and bile duct tumors. *Am Surg.* 2008;74:338–340
21. Lennerz JK, Fernandez-Del Castillo C, Pitman MB. Mixed ductal-endocrine carcinoma of the pancreas metastatic to the liver. *Pancreas.* 2011;40:319–321
22. Ohike N, Jurgensen A, Pipeleers-Marichal M, *et al.* Mixed ductal-endocrine carcinomas of the pancreas and ductal adenocarcinomas with scattered endocrine cells: characterization of the endocrine cells. *Virchows Arch.* 2003;442:258–265
23. Ballas KD, Rafailidis SF, Demertzidis C, *et al.* Mixed exocrine-endocrine tumor of the pancreas. *JOP.* 2005;6:449–454
24. La Rosa S, Marando A, Sessa F, *et al.* Mixed Adenoneuroendocrine Carcinomas (MANECs) of the gastrointestinal tract: an update. *Cancer Basel.* 2012;4:11–30.
25. Mestier L, Cros J, Neuzillet C, Hentic O, *et al.* Digestive System Mixed Neuroendocrine-Non-Neuroendocrine Neoplasms. *Neuroendocrinology.* 2017;105(4):412–425.