



# Иммуногистохимическое определение экспрессии рецепторов к соматостатину 1, 2А, 3 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях различной локализации и степени злокачественности

Гуревич Л.Е.<sup>1</sup> • Корсакова Н.А.<sup>1</sup> • Воронкова И.А.<sup>2</sup> • Ашевская В.Е.<sup>1</sup> • Титов А.Г.<sup>1</sup> • Когония Л.М.<sup>1</sup> • Егоров А.В.<sup>3</sup> • Бритвин Т.А.<sup>1</sup> • Васильев И.А.<sup>3</sup>

**Актуальность.** У пациентов с нейроэндокринными опухолями (НЭО) очень важно еще до начала лечения аналогами соматостатина прогнозировать его клинический эффект. Данных по иммуногистохимическому исследованию экспрессии рецепторов к соматостатину (ССР) разных типов, полученных на больших выборках НЭО различной локализации, функциональной активности и степени злокачественности, накоплено недостаточно, что и определило **цель** настоящего исследования. **Материал и методы.** Проводили иммуногистохимическое исследование с антителами к ССР 1, 2А, 3 и 5-го типов. Материалом исследования послужили тканевые образцы диагностических и операционных биопсий 399 НЭО: 168 поджелудочной железы, 120 желудочно-кишечного тракта (желудка – 48, тонкой кишки – 39, из которых опухолей двенадцатиперстной кишки – 14, аппендикса – 6, толстой и прямой кишки – 15 и 12), 84 легких, 6 тимуса/средостения и 21 метастазов НЭО с неизвестной первичной локализацией. **Результаты.** Очень высокий уровень экспрессии ССР 2А, которые преимущественно связывают аналоги соматостатина, используемые сегодня в клинической практике, выявлен в НЭО

тонкой кишки (22/25, 88%), аппендикса (5/6, 83,3%), толстой кишки (10/15, 66,7%), тимуса (4/6, 66,7%), атипичных карциноидах легкого (10/15, 66,7%), желудка (27/41, 65,8%) и поджелудочной железы (105/165, 63,6%), а самый низкий – в НЭО прямой кишки (5/12, 41,7%) и мелкоклеточных и крупноклеточных нейроэндокринных карциномах легких (20 и 11,1%). Из всех функционирующих НЭО самый высокий уровень ССР 2А обнаружен в гастриномах (18/19, 94,7%), глюкагономах (15/16, 93,8%), синдромальных карциноидах желудочно-кишечного тракта (31/35, 88,6%), соматостатиномах (2/3, 66,7%), а самый низкий – в опухолях, секретирующих адренокортикотропный гормон, с синдромом Кушинга (11/12, 50%) и инсулиномах (34/69, 49,3%). В нефункционирующих НЭО поджелудочной железы уровень экспрессии ССР 2А был значительно выше, чем в инсулиномах (57/82, 69,5% и 34/69, 49,3% соответственно). Показано, что уровень экспрессии ССР 2А зависит от степени злокачественности и увеличивается в НЭО поджелудочной железы Grade 2А (Ki67 до 10%), Grade 2В (Ki67 от 10 до 19%) и нейроэндокринных карциномах Grade 3 по сравнению с Grade 1 – 16/50 (32%), 37/61 (60,6%), 8/12 (66,7%) и 20/24 (83,3%)

соответственно. Высокий уровень экспрессии второго по клиническому значению рецептора ССР 5 наблюдался в НЭО двенадцатиперстной кишки (7/10, 70%) и аппендикса (2/5, 60%), из функционирующих НЭО – в глюкагономах (12/15, 80%) и гастриномах (12/15, 80%). Рецепторы ССР 3 встречались реже, чем ССР 2А и 5, чаще всего в НЭО желудка (6/11, 54,5%) и инсулиномах (16/37, 43,2%), НЭО поджелудочной железы Grade 3 (4/9, 44,7%), типичных карциноидах легкого (7/16, 41,2%). ССР 1 во всех опухолях выявлялись редко, максимальный уровень их экспрессии наблюдался в карциноидах тонкой кишки (9/21, 42,9%). **Заключение.** В зависимости от типа и степени злокачественности нейроэндокринные опухоли различаются по интенсивности экспрессии ССР того или иного типа. В этой связи необходимо определять профиль данных рецепторов в каждой опухоли до начала применения аналогов соматостатина.

**Ключевые слова:** рецепторы к соматостатину, нейроэндокринные опухоли, иммуногистохимия

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-378-390



**Ф**ункция соматостатина как ингибитора гормона роста была впервые описана в 1973 г. [1]. Сейчас известно, что соматостатин представляет собой мультифункциональный эндокринный регулятор, обладающий эндокринным, паракринным и аутокринным свойствами. В норме и при патологии соматостатин участвует в регуляции апоптоза, ангиогенеза и пролиферации клеток, от его активности зависит уровень секреции различных гормонов, нейропептидов, нейротрансмиттеров, цитокинов, митогенных факторов и факторов роста. Этот гормон могут секретировать клетки человека различных типов: эндокринные, иммунные, нервные, эпителиальные, клетки плаценты, почек, сетчатки и целый ряд других. Все многообразие функций соматостатина обеспечивается его способностью связываться с соответствующими мишенями на поверхности клеток, то есть с рецепторами к соматостатину (ССР). Пять типов этого рецептора – ССР 1, ССР 2, ССР 3, ССР 4 и ССР 5 – впервые описали J.C. Reubi и соавт. в 1998 г. [2]. Рецепторы всех 5 типов участвуют в регуляции клеточного цикла и пролиферативной активности, однако отдельные типы ССР имеют свои функциональные особенности: секреторную активность эндокринных клеток регулируют ССР 2 и 5, ангиогенез – ССР 1, а индукцию апоптоза связывают с экспрессией ССР 3 [3–5]. В норме ССР 2 локализуется на клеточной мембране А, В и D-клеток нормальных островков поджелудочной железы, эпителия двенадцатиперстной кишки, проксимального отдела тощей кишки, в меньшем количестве – дистального отдела тощей и подвздошной кишки, а также аппендикса и толстой кишки. В слизистой желудка эти рецепторы преимущественно локализируются на гастринпродуцирующих клетках антрального отдела. ССР также выявляются в подслизистом нервном сплетении органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), где они участвуют в регуляции моторики и транспорта ионов [6, 7].

Соматостатиновые рецепторы разных типов экспрессируют клетки нейроэндокринных опухолей (НЭО) ЖКТ, поджелудочной железы, легких и других локализаций, аденом гипофиза, параганглиом, а также менингиом, нейробластом и некоторых других типов опухолей.

Клиническое применение нативного соматостатина ограничено коротким сроком его жизни

**Гуревич Лариса Евсеевна** – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>  
 ✉ 125284, г. Москва, ул. Беговая, 6/2–12, Российская Федерация.  
 Тел.: +7 (495) 631 74 22.  
 E-mail: larisgur@mail.ru

**Корсакова Нина Анатольевна** – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

**Воронкова Ия Александровна** – канд. мед. наук, врач лаборатории фундаментальной патоморфологии<sup>2</sup>

**Ашевская Валентина Евгеньевна** – науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

**Титов Андрей Геннадиевич** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. хирургического торакального отделения<sup>1</sup>

**Когония Лали Михайловна** – д-р мед. наук, профессор кафедры онкологии и торакальной хирургии факультета усовершенствования врачей<sup>1</sup>

**Егоров Алексей Викторович** – д-р мед. наук, профессор, заведующий онкологическим хирургическим отделением<sup>3</sup>

**Бритвин Тимур Альбертович** – д-р мед. наук, руководитель отделения хирургической эндокринологии<sup>1</sup>

**Васильев Иван Алексеевич** – канд. мед. наук, врач-хирург хирургического отделения<sup>3</sup>

(около 2 минут), поэтому были разработаны синтетические аналоги этого гормона с укороченными полипептидными цепями, образующими прочные связи с ССР. Сейчас аналоги соматостатина широко применяются в первой линии терапии злокачественных, неоперабельных распространенных и метастатических форм НЭО [8]. Блокировка ССР путем связывания их с аналогами соматостатина в большинстве случаев позволяет существенно уменьшить симптомы гиперфункциональных синдромов и стабилизировать рост и прогрессирование опухолей. Подавление роста НЭО может происходить в результате как прямого, так и опосредованного эффекта аналогов соматостатина – путем ингибции ангиогенеза и синтеза факторов опухолевого роста, таких как инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) [3]. Клетки большинства НЭО одновременно экспрессируют ССР нескольких типов, чаще всего 2 и 5-го. Именно с ними преимущественно связываются аналоги соматостатина, которые в настоящее время широко применяют в клинической практике, – октреотид, ланреотид и некоторые другие. В то же время практика показывает: не все НЭО чувствительны к подобной терапии, что обусловлено отсутствием на их клетках ССР, в первую очередь 2 и 5-го типов.

В этой связи очень важно еще до начала лечения больных НЭО с помощью аналогов соматостатина прогнозировать эффективность такой терапии. Для этого необходимо определить наличие на клетках опухолей ССР 2А и 5, а в случае их отсутствия без потери времени переходить на другие схемы терапии. В России уже накоплен достаточный опыт применения аналогов соматостатина для лечения НЭО, преимущественно ЖКТ и поджелудочной железы, но работы по иммуногистохимическому исследованию экспрессии ССР на НЭО разных типов, выполненные на больших и репрезентативных выборках, пока немногочисленны [9–12].

Цель исследования – с помощью иммуногистохимического метода изучить экспрессию ССР 1, 2А, 3 и 5 в тканевых образцах НЭО разной локализации, степени злокачественности и функциональной активности и оценить возможности прогноза эффективности применения аналогов соматостатина для лечения конкретных опухолей.

<sup>1</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФБГУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России; 117036, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11, Российская Федерация

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Российская Федерация



## Материал и методы

Материалом исследования послужили тканевые образцы диагностических или операционных биопсий 399 НЭО: 168 – поджелудочной железы, 120 – ЖКТ (48 – желудка, 14 – двенадцатиперстной кишки и 25 – других отделов тонкой кишки, 6 – аппендикса, 15 – толстой и 12 прямой кишки), 84 легких, 6 тимуса / средостения и 21 биопсийный образец метастазов НЭО с неизвестной первичной локализацией.

Диагноз НЭО основывался на анализе клинических данных, результатах гистологического и иммуногистохимического исследований, которые проводили по стандартному протоколу на срезах толщиной 3–5 мкм, приготовленных с парафиновых блоков. Иммуногистохимическое исследование выполняли с использованием Автостейнера (Autostainer, ThermoScientific, тип 480s), а при небольшом объеме ткани – на биопсийных образцах в ручном режиме. Депарафинирование срезов и восстановление антигенности проводили в буфере с pH 9 в PT Module (Thermo Scientific, Великобритания). Использовали спектр следующих антител: к хромогранину А, синаптофизину, CD 56, гормонам – инсулину, глюкагону, соматостатину, гастрину, серотонину, адренкортикотропному гормону (АКТГ) (Cell Marque, США), антигену ядер пролиферирующих клеток Ki67 (клон MIB1, DAKO), ССР 1 (поликлональные антитела, Abbot, США), ССР 2А (кроличьи моноклональные ID-EPR 3340, Epitomics Inc., США), ССР 3 (поликлональные, Thermo Scientific, США) и ССР 5 (кроличьи моноклональные ID-UMB4, Epitomics Inc., США). Анализ и учет экспрессии ССР осуществляли по методу M. Volante и соавт., 2007 [13]: для рецепторов 1 и 5-го типов положительной реакцией считали мембранную или мембранно-цитоплазматическую экспрессию, для рецепторов 1 и 3-го типов учитывали и цитоплазматическую экспрессию. Клинически значимой считали реакцию от 50 до 75% опухолевых клеток и от 75 до 100% (2+ и 3+ соответственно). Слабовыраженную или очаговую реакцию (1+) трактовали как клинически мало значимую и оценивали как негативную. Экспрессию остальных маркеров учитывали по стандартным методикам: полуколичественно для цитоплазматических маркеров или количественно для ядерного маркера Ki67 (индекс пролиферации вычислялся как процент меченых ядер на 100 учтенных опухолевых клеток при подсчете 1000–2000 клеток).

## Результаты

С помощью антител к спектру гормонов сначала определяли функциональную активность всех НЭО. Из 168 НЭО поджелудочной железы 84 были функционирующими (71 инсулинома, 10 гастрином, 2 соматостатиномы, 2 АКТГ-секретирующие с синдромом Кушинга) и 84 клинически нефункционирующими (то есть без преимущественного гормона и явно выраженного клинического синдрома). Из 48 НЭО желудка все были нефункционирующими; среди 14 НЭО двенадцатиперстной кишки (их анализировали отдельно от других НЭО тонкой кишки) диагностировано 9 гастрином, 1 соматостатинома и 4 нефункционирующих НЭО; из 25 НЭО тонкой кишки (тощей и подвздошной) все оказались карциноидами с карциноидным синдромом разной степени выраженности. Все НЭО аппендикса, толстой и прямой кишки (6, 15 и 12) были нефункционирующими. Из 84 НЭО легких 13 были функционирующими, АКТГ-секретирующими с эктопическим синдромом Кушинга, остальные нефункционирующими; из 6 НЭО тимуса – 5 АКТГ-секретирующими с соответствующим синдромом.

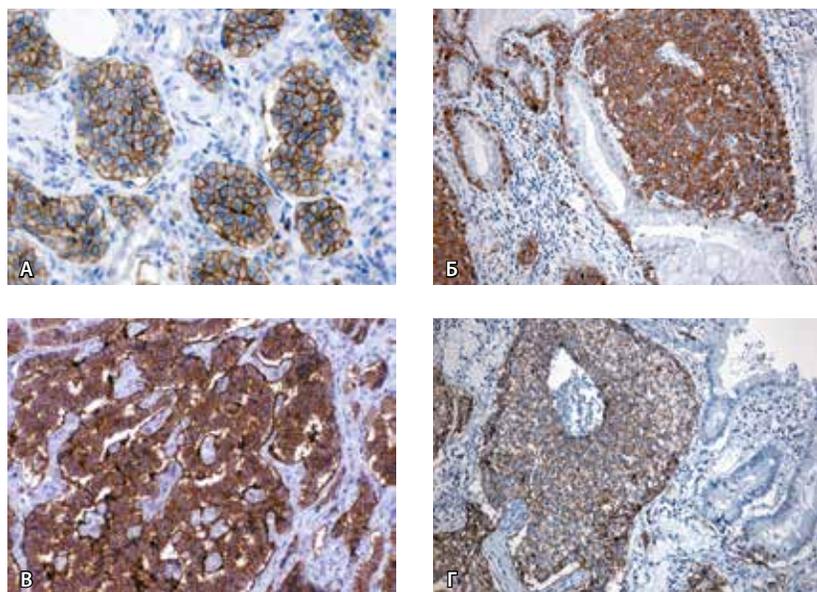
Все НЭО ЖКТ и поджелудочной железы были разделены по степени злокачественности на 3 группы (Grade 1, 2 и 3 в соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения, 2010): 1) высокодифференцированные НЭО Grade 1 с индексом пролиферации Ki67 до 2% и с митотическим индексом до 2 митозов в 10 репрезентативных полях зрения; 2) высокодифференцированные НЭО Grade 2 с Ki67 от 3 до 20% и с митотическим индексом от 2 до 20 митозов в 10 репрезентативных полях зрения; 3) низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы (НЭК) Grade 3 (при отнесении к этой группе при пограничных значениях Ki67 дополнительно учитывались такие параметры, как наличие инвазии сосудов, нервов, некрозов). НЭО легких и тимуса в соответствии с последней классификацией Всемирной организации здравоохранения (2015) делили на высокодифференцированные типичные и атипичные карциноиды с Ki67 до 5% и от 5 до 40% соответственно, а также низкодифференцированные – мелко- и крупноклеточные НЭК с Ki67 более 40%.

Экспрессия ССР 1 и 3 в подавляющем числе случаев была цитоплазматической, редко – мембранной и мембранно-цитоплазматической; экспрессия ССР 2А в большинстве случаев была мембранной, а ССР 5 – мембранной или мембранно-цитоплазматической.

**Таблица 1.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 1, 2A, 3 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях различной локализации, р/п (%)

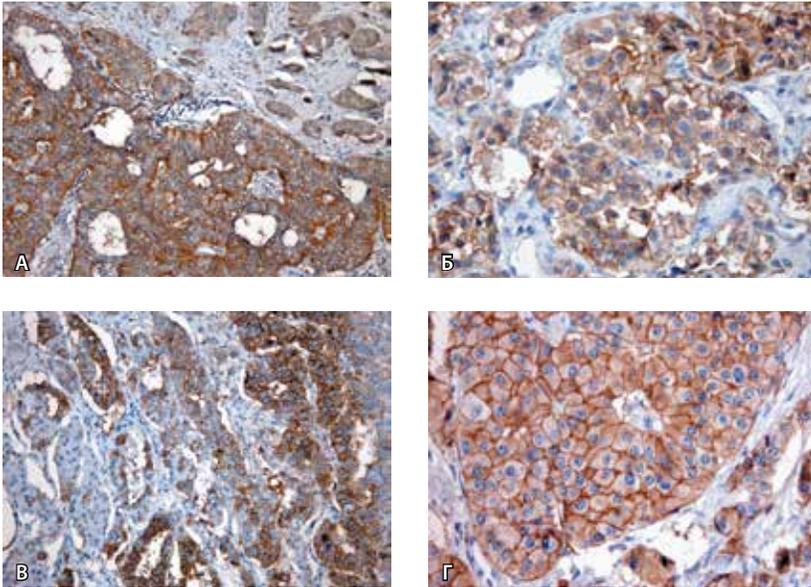
Локализация / тип	ССР 1	ССР 2A	ССР 3	ССР 5
<b>Желудочно-кишечный тракт</b>				
поджелудочная железа (n = 168)	17/80 (21,2)	105/165 (63,6)	24/67 (35,3)	51/161 (31,7)
желудок (n = 48)	3/16 (18,8)	27/41 (65,8)	6/11 (54,5)	9/34 (26,5)
двенадцатиперстная кишка (n = 14)	1/7 (14,3)	7/12 (58,3)	2/8 (25)	7/10 (70)
тонкая кишка (n = 25)	5/14 (35,7)	22/25 (88)	6/15 (40)	14/25 (56)
аппендикс (n = 6)	abs	5/6 (83,3)	abs	3/5 (60)
толстая кишка (n = 15)	3/11 (27,3)	10/15 (66,7)	4/11 (36,4)	6/13 (45,3)
прямая кишка (n = 12)	0/9 (0)	5/12 (41,7)	1/6 (16,7)	4/10 (40)
<b>Легкие и тимус</b>				
типичные карциноиды (n = 40)	4/11 (36,1)	18/33 (54,5)	7/16 (41,2)	7/30 (23,3)
атипичные карциноиды (n = 16)	abs	10/15 (66,7)	2/7 (26,8)	0/11 (0)
мелкоклеточные нейроэндокринные карциномы легких (n = 17)	abs	3/15 (20)	abs	1/12 (8,3)
крупноклеточные нейроэндокринные карциномы легких (n = 9)	abs	1/9 (11,1)	abs	2/8 (25,5)
нейроэндокринные опухоли тимуса (n = 6)	0/4 (0)	4/6 (66,7)	1/3 (33,3)	3/6 (50)

р/п – количество позитивных случаев / общее количество исследованных случаев, (%) – процентное соотношение позитивных случаев к общему количеству исследованных случаев, ССР – рецептор к соматостатину, n – число опухолей, abs – данные отсутствуют



**Рис. 1.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 2A типа в нефункционирующих нейроэндокринных опухолях аппендикса (А, ×250), желудка (Б, ×250), в инсулиноме поджелудочной железы (В, ×400); рецепторов к соматостатину 5-го типа в гастроинтестинальной опухоли двенадцатиперстной кишки (Г, ×125) (микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич и соавт., 2016)

Особенности экспрессии рецепторов к соматостатину в нейроэндокринных опухолях различной локализации  
 Анализ экспрессии ССР в НЭО различной локализации проводили вне зависимости от степени их дифференцировки и функциональной активности, исключив метастазы НЭО с неустановленной первичной локализацией (табл. 1). ССР 2A встречались чаще других типов рецепторов: в большинстве НЭО тонкой кишки (88%) и аппендикса (83,3%) (рис. 1 А), более чем в половине опухолей толстой кишки, желудка (рис. 1 Б), тимуса, типичных и атипичных карциноидов легкого, НЭО поджелудочной железы (рис. 1 В) и двенадцатиперстной кишки. Из НЭО ЖКТ ССР 2A реже всего выявлялись в опухолях прямой кишки, а из опухолей легкого – в мелко- и крупноклеточных вариантах НЭК. На втором месте по частоте встречаемости были ССР 5: эти рецепторы чаще обнаруживались в НЭО двенадцатиперстной кишки (рис. 1 Г) и аппендикса (в 70 и 60% опухолей), в 56% опухолей тонкой кишки (рис. 2 А) и 50% опухолей тимуса. Для остальных локализаций доля ССР 5-позитивных



**Рис. 2.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 5-го типа в карциноиде тощей кишки (А, ×250), рецепторов к соматостатину 3-го типа в клетках метастаза в печень соматостатинпродуцирующей опухоли поджелудочной железы (Б, ×400), преимущественная экспрессия рецепторов к соматостатину 2А типа в гастринпродуцирующих клетках полигормональной опухоли (В, ×250), в нефункционирующей нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы (Г, ×400) (микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич и соавт., 2016)

опухолей была менее 50%, а в атипичных карциноидах легких они вообще не встречались. ССР 3 чаще всего наблюдались в НЭО желудка (54,5%), реже – в типичном карциноиде легких и НЭО тонкой кишки (рис. 2 Б). В НЭО всех локализаций экспрессия ССР 1 регистрировалась реже, чем других типов рецепторов. Больше всего их выявлено в типичном карциноиде легкого и НЭО тонкой кишки, в НЭО других локализаций они отсутствовали или их количество было незначительным (от 0

до 21,2%). Следует отметить, что ССР 1 и ССР 3 – рецепторы, которые слабо связываются с наиболее часто используемыми в клинической практике аналогами соматостатина.

Особенности экспрессии рецепторов к соматостатину в нейроэндокринных опухолях различной функциональной активности  
В этом разделе мы сравнивали статус экспрессии ССР всех высокодифференцированных функционирующих и нефункционирующих НЭО ЖКТ, поджелудочной железы и легких с соответствующими гиперфункциональными синдромами (синдромы гипогликемии, Золлингера – Эллисона, карциноидный, Маллисона, соматостатиномы, Кушинга), включая случаи метастазов НЭО с неизвестной первичной локализацией (табл. 2). К глюкагономам мы отнесли опухоли, подавляющее большинство клеток которых секретировали глюкагон, даже если синдром Маллисона был выражен слабо. Это было сделано потому, что, как известно, чаще всего клиническая симптоматика этого синдрома нарастает очень медленно и долго не диагностируется, а его выраженная манифестация обычно происходит при достижении опухолью достаточно больших размеров и/или при обширном метастазировании. Отдельно проводили сравнительный анализ экспрессии ССР в функционирующих и нефункционирующих НЭО поджелудочной железы (табл. 3), поскольку опухоли этой локализации представляли собой самую репрезентативную по числу наблюдений группу.

Из данных табл. 2 видно, что для всех функционирующих НЭО за исключением инсулином и АКТГ-секретирующих опухолей был характерен высокий уровень экспрессии клинически значимых ССР 2А и 5 (рис. 1 Г, 2 А). Большинство

**Таблица 2.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 1, 2А, 3 и 5-го типов в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях различной функциональной активности, р/п (%)

Функционирующие нейроэндокринные опухоли	ССР 1	ССР 2А	ССР 3	ССР 5
Инсулиномы (n = 71)	10/44 (22,7)	34/69 (49,3)	16/37 (43,2)	17/69 (24,6)
Гастриномы (n = 20)	3/12 (25)	18/19 (94,7)	5/10 (50)	12/15 (80)
Карциноиды (n = 35)	9/21 (42,9)	31/35 (88,6)	7/20 (35)	16/31 (51,6)
Соматостатиномы (n = 3)	abs	2/3 (66,7)	abs	2/3 (66,7)
Глюкагономы (без явно выраженного синдрома) (n = 16)	1/3 (33,3)	15/16 (93,8)	0/3 (0)	12/15 (80)
АКТГ-секретирующие (n = 22)	1/12 (8,3)	11/22 (50)	4/8 (50)	10/20 (50)

р/п – количество позитивных случаев / общее количество исследованных случаев, (%) – процентное соотношение позитивных случаев к общему количеству исследованных случаев, ССР – рецептор к соматостатину, n – число опухолей, АКТГ – адренокортикотропный гормон, abs – данные отсутствуют

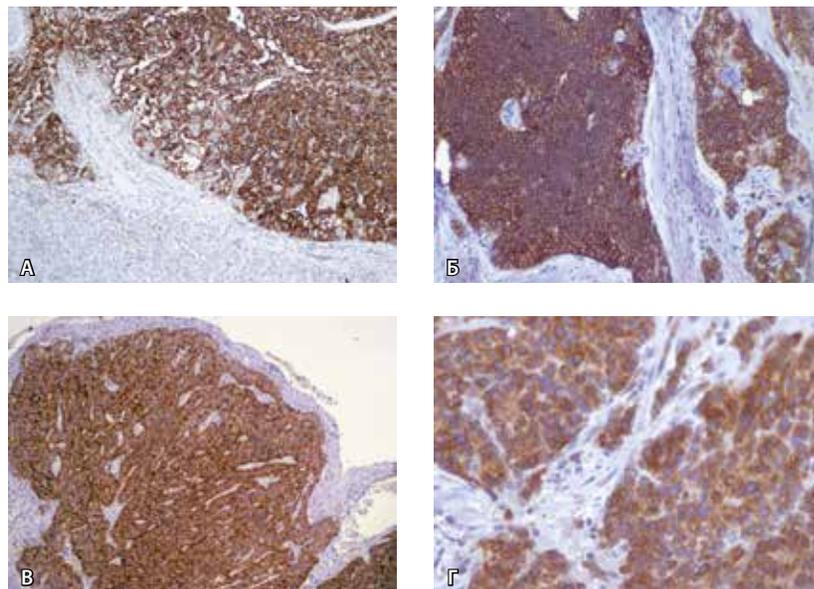


гастрином (независимо от их локализации), глюкагоном и карциноидов кишечника экспрессировали эти рецепторы, но в них же был выявлен самый высокий суммарный уровень экспрессии всех типов рецепторов. Среди АКГГ-секретирующих опухолей ССР 2А, 3 и 5 встречались только в половине случаев. ССР 2А реже всего выявлялись в инсулиномах – менее чем в половине наблюдений, примерно с такой же частотой в них обнаруживались и ССР 3 (43,2%) и только в 24,5% случаев – ССР 5. Реже всего во всех типах функционирующих опухолей встречались ССР 1, исключение составили карциноиды кишечника, где рецепторы этого типа определялись в 42,9% случаев.

В мультигормональных НЭО, независимо от их локализации, экспрессия ССР обычно была гетерогенной как по ее интенсивности, так и по локализации рецепторов в клетке (на мембране или в цитоплазме), что зависело от гормонального статуса клеточных популяций. Так, интенсивная мембранная реакция с ССР 2А наблюдалась в популяции гастрин- или серотонинпродуцирующих, реже в популяции инсулинпродуцирующих клеток (рис. 2 В). Этим можно объяснить то, что в метастазах НЭО не всегда выявляются ССР, которые ранее были обнаружены в первичной опухоли. В этой связи при прогнозировании лечебного эффекта от применения аналогов соматостатина следует по возможности параллельно определять статус рецепторов и в первичной опухоли, и в метастазах. Наряду с этим следует учитывать также лечебный патоморфоз и прогрессирование опухолей за счет появления резистентных к терапии опухолевых клонов.

Что касается экспрессии ССР в НЭО поджелудочной железы, количество ССР 2А-позитивных опухолей было значительно больше среди нефункционирующих НЭО поджелудочной железы (рис. 2 Г и 3 А), чем среди инсулином, ССР 5-позитивных было больше примерно на треть, а для ССР 1 и 3 разница была несущественной (см. табл. 3).

Резюмируя данные, полученные в этом разделе, следует отметить высокий уровень



**Рис. 3.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 2А типа в клетках метастаза в печень нефункционирующей нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы Grade 2 (А,  $\times 125$ ); в нейроэндокринной карциноме поджелудочной железы Grade 3 (Б,  $\times 125$ ); в типичном карциноиде легкого (В,  $\times 125$ ); в мелкоклеточном раке легкого Grade 3 (Г,  $\times 400$ ) (микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич и соавт., 2016)

экспрессии ССР в большинстве типов функционирующих опухолей ЖКТ и поджелудочной железы, кроме инсулином и АКГГ-секретирующих НЭО. Важно подчеркнуть, что относительно высокий уровень экспрессии ССР 3, который выявлялся в инсулиномах и АКГГ-секретирующих НЭО легких, при достаточно низком уровне в них ССР 2А позволяет предположить возможность использования для лечения пациентов с подобными опухолями новых препаратов аналогов соматостатина, связывающих более широкий спектр рецепторов.

Экспрессия разных типов рецепторов к соматостатину в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы и легкого с различным злокачественным потенциалом (Grade) В нашем исследовании самыми репрезентативными по числу наблюдений группами были НЭО

**Таблица 3.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 1, 2А, 3 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы, р/п (%)

Функциональная активность	ССР 1	ССР 2А	ССР 3	ССР 5
Инсулиномы (n=71)	10/44 (22,7)	34/69 (49,3)	16/37 (43,2)	17/69 (24,6)
Нефункционирующие нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (n=82)	6/33 (18,2)	57/82 (69,5)	14/29 (48,3)	26/78 (33,3)

р/п – количество позитивных случаев/общее количество исследованных случаев, (%) – процентное соотношение позитивных случаев к общему количеству исследованных случаев, ССР – рецептор к соматостатину, n – число опухолей

**Таблица 4.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 1, 2A, 3 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы и легких с разным злокачественным потенциалом (Grade), p/n (%)

Локализация	ССР 1	ССР 2A	ССР 3	ССР 5
<b>Поджелудочная железа</b>				
нейроэндокринные опухоли Grade 1 (Ki67 от 0 до 3%), n=51	4/25 (10,5)	16/50 (32)	26/20 (30)	17/48 (35,4)
нейроэндокринные опухоли Grade 2A (Ki67 от 3 до 10%), n=61	6/26 (23,1)	37/61 (60,6)	6/22 (27,3)	23/60 (38,3)
нейроэндокринные опухоли Grade 2B (Ki67 от 11 до 19%), n=12	2/5 (40)	8/12 (66,7)	abs	3/11 (27,3)
нейроэндокринные карциномы Grade 3 (Ki67 более 19%), n=24	3/13 (23,1)	20/24 (83,3)	4/9 (44,4)	9/24 (28,8)
<b>Легкие</b>				
типичные карциномы, n=40	4/11 (36,1)	18/33 (54,5)	7/16 (41,2)	7/30 (23,3)
атипичные карциномы, n=21	1/3 (33,3)	11/20 (55)	3/9 (33,3)	2/15 (13,3)
мелкоклеточные нейроэндокринные карциномы легких, n=17	abs	3/15 (20)	abs	0/12 (0)
крупноклеточные нейроэндокринные карциномы легких, n=6	abs	0/6 (0)	abs	1/5 (20)

p/n – количество позитивных случаев / общее количество исследованных случаев, (%) – процентное соотношение позитивных случаев к общему количеству исследованных случаев, ССР – рецептор к соматостатину, n – число опухолей, abs – данные отсутствуют

поджелудочной железы и легких, поэтому именно в этих группах мы провели сравнительный анализ экспрессии ССР в опухолях разной степени злокачественности (табл. 4).

Уже со времени принятия последней классификации НЭО ЖКТ и поджелудочной железы (Всемирная организация здравоохранения, 2010) всем специалистам, которые обладают опытом длительного наблюдения за пациентами с подобными опухолями, стало ясно, что группа высокодифференцированных НЭО Grade 2 объединяет слишком широкий спектр опухолей с индексом пролиферации Ki67 от 2 до 20% и отличающихся друг от друга как по клиническому течению, так и по прогнозу. В последние годы это несоответствие стало особенно очевидным. Исходя из этого мы искусственно разделили группу высокодифференцированных НЭО Grade 2 на две подгруппы: Grade 2A (с индексом Ki67 от 3 до 10%) и Grade 2B (с индексом Ki67 от 11 до 20%). Группа низкодифференцированных НЭО Grade 3 включала мелкоклеточные и крупноклеточные нейроэндокринные варианты. Метастазы были обнаружены во всех группах НЭО поджелудочной железы, в том числе среди высокодифференцированных НЭО Grade 1 с очень низким индексом

Ki67 (менее 2%), что с учетом медленного роста этих опухолей можно объяснить только их поздней диагностикой. Из данных табл. 4 видно: количество опухолей, экспрессировавших ССР 2A, в группе НЭО Grade 3 было в 2,6 раза (рис. 3 Б), а в группе НЭО поджелудочной железы Grade 2B в 2,1 раза больше, чем в группе НЭО поджелудочной железы Grade 1. Кроме того, в группе НЭО поджелудочной железы Grade 3 по сравнению с группами Grade 1 и 2 увеличивалась пропорция опухолей, экспрессировавших ССР 3. Таким образом, при увеличении степени злокачественности НЭО поджелудочной железы количество опухолей, которые экспрессировали ССР 2A – самые важные для клинического использования рецепторы – увеличивалось, а не снижалось.

В НЭО легких, в отличие от таковых поджелудочной железы, пропорция опухолей, экспрессировавших ССР 2A, с увеличением степени их злокачественности снижалась, а не увеличивалась: с 54,5% в типичных (рис. 3 В) и 55% в атипичных карциноидах до 20–0% в мелкоклеточных и крупноклеточных НЭО (рис. 3 Г). Подчеркнем: по экспрессии этих рецепторов группа типичных карциноидов мало отличается от группы атипичных карциноидов. Пропорция опухолей,



экспрессировавших ССР 3, была выше для типичных карциноидов по сравнению с атипичными, а экспрессия ССР 5 в атипичных карциноидах снижалась по сравнению с типичными. Экспрессию ССР 1 и 3 нельзя оценить, поскольку наблюдений было слишком мало.

Обобщая полученные в данном разделе результаты, можно сделать следующие выводы. При увеличении злокачественного потенциала высококодифференцированных НЭО поджелудочной железы (от Grade 2А к 2В и к Grade 3) в них увеличивается пропорция ССР 2А-позитивных опухолей, а в НЭО легких, напротив, уменьшается. Среди низкокодифференцированных НЭК поджелудочной железы и легких имеется популяция опухолей, которые в клинически значимых количествах экспрессируют ССР, следовательно, можно рекомендовать определять их статус до начала лечения (предположительно, это позволит расширить возможности их терапии).

## Обсуждение

Разные типы НЭО и отдельные опухоли в пределах каждого типа отличаются по спектру ССР, которые они экспрессируют [3, 14]. Доказано, что лечение пациентов с НЭО ЖКТ и поджелудочной железы с помощью аналогов соматостатина увеличивает сроки безрецидивного выживания больных, в 10–45% случаев ведет к стабилизации роста опухолей в течение многих лет, реже – к уменьшению их размеров [15]. В большинстве исследований отмечается высокий уровень экспрессии ССР 2А и 5 в функционирующих НЭО – гастриномах, глюкагономах, соматостатиномах и карциноидах (в 80–100%), поэтому они очень хорошо отвечают на лечение аналогами соматостатина. Известно, что результаты лечения злокачественных инсулином с помощью ССР 2А-чувствительных аналогов соматостатина и попытки с их помощью снизить секрецию инсулина при стойкой гипогликемии почти в 50% случаев бывают неудачными [15, 16]. Это полностью согласуется и с нашими данными: только половина (49,3%) инсулином экспрессировали ССР 2А, при этом рецепторы 1, 3 и 5-го типов выявлялись в 22,7, 43,2 и 24,6% опухолей. Наши данные о том, что ССР 2А в нефункционирующих НЭО поджелудочной железы встречаются чаще, чем в инсулиномах (69,5 и 49,3%), соответствуют данным других авторов, хотя по данным большинства источников эти цифры значительно выше (80 и 50–60% соответственно) [14, 17, 18]. Такие различия объясняются тем, что в отличие от большинства работ, где в качестве позитивной реакции

принимали просто наличие в опухоли ССР, мы считали позитивной реакцией только интенсивную экспрессию рецепторов (2+ и 3+). Это подразумевает и более объективный и эффективный ответ на применение аналогов соматостатина. По данным D. O'Toole и соавт. [18], экспрессия ССР 3 в НЭО поджелудочной железы наблюдается чаще, чем в НЭО ЖКТ. Это согласуется и с нашими данными, при этом самый высокий уровень экспрессии ССР 3 мы наблюдали в высококодифференцированных НЭО желудка. Н.А. Schmid и соавт. [19] показали, что при увеличении злокачественного потенциала НЭО экспрессия ССР 1, 2А и 4 уменьшалась, а ССР 5 увеличивалась. Нам не удалось выявить подобной тенденции для НЭО поджелудочной железы, что подтверждается и некоторыми другими источниками. Так, было показано, что в НЭО поджелудочной железы с более высоким индексом Ki67 и более высоким злокачественным потенциалом уровень экспрессии mRNA ССР 5 не увеличивался, а снижался [18].

Мы не обнаружили существенных различий в экспрессии ССР 2А между типичными и атипичными карциноидами легких, что не противоречит данным, полученным G. Kanakis и соавт. [20]. L. Righi и соавт. [21] при анализе 218 клинически агрессивных НЭО легких (24 типичных карциноида, 73 атипичных карциноида, 60 крупноклеточных НЭК и 61 мелкоклеточная НЭК) хотя и не выявили четкой корреляции между клинической картиной, степенью дифференцировки опухолей и экспрессией в их клетках ССР всех типов, отметили тенденцию к увеличению экспрессии ССР 2 в типичных и атипичных карциноидах с метастазами по сравнению с соответствующими опухолями без метастазов, а также к уменьшению экспрессии ССР 3 в атипичных карциноидах, крупноклеточных НЭК и мелкоклеточных НЭК по сравнению с типичными карциноидами. D. Kaemmerer и соавт. [22], проанализировав 240 НЭО легких, выявили корреляцию между экспрессией ССР 1 и более благоприятным прогнозом течения заболевания. К. Tsuta и соавт. [23] выявили экспрессию ССР 5 и только в 15% крупноклеточных и 3,4% мелкоклеточных НЭК легкого, а по нашим данным ССР 2А встречались в 20% мелкоклеточных НЭК, а ССР 5 – в 20% крупноклеточных НЭК. Это позволяет предположить, что хотя бы часть (до 20%) этих очень агрессивных опухолей может отвечать на лечение аналогами соматостатина.

В последние годы проблема определения экспрессии ССР в НЭО иммуногистохимическим методом привлекает к себе все больше внимания.



Результаты, полученные в разное время и в разных исследованиях, существенно различаются. Это обусловлено целым рядом факторов: 1) использованием различных по специфичности и чувствительности клонов антител к ССР; 2) отсутствием до недавнего времени коммерческих антител удовлетворительного качества и общепринятых стандартов оценки полученных результатов; 3) изучением малочисленных и очень разнородных по локализации, функциональной активности и злокачественному потенциалу групп НЭО, что не позволяет сравнивать полученные результаты. Долгое время для определения экспрессии ССР 2, самого важного рецептора для эффективного связывания большинства известных аналогов соматостатина, использовали разные клоны антител, например, поликлональные кроличьи антитела R2-88 (A. Schonbrunn, Houston, TX, США), SS-800 (Gramsch Laboratories, Германия) и ряд других, которые не обладали достаточной чувствительностью и специфичностью и давали перекрестную реакцию с рядом других клеточных антигенов. Именно этим можно объяснить то, что в большинстве исследований экспрессии ССР в НЭО, выполненных в более ранние периоды, пропорция ССР-позитивных НЭО была значительно выше, чем в более поздних работах. В частности, по данным L.J. Hofland и соавт. [24], полученным в 1999 г., экспрессия ССР 2 была выявлена в 98–100% НЭО поджелудочной железы, а в работах M. Papotti и соавт. [16], H. Kulaksiz и соавт. [25], полученных в 2000–2002 гг., таких опухолей было уже только 77–79%. Последние данные уже мало отличаются от наших результатов, где ССР 2А экспрессировали 63,6% НЭО поджелудочной железы. Следует еще раз подчеркнуть, что в соответствии с нашей методикой в качестве положительных мы оценивали только случаи с наличием интенсивной реакции с антителами к ССР – в 50% и более опухолевых клеток, в то время как в части работ позитивными считали опухоли, где пропорция рецептор-позитивных клеток была значительно меньше. В последние годы очень хорошие результаты были получены с помощью новых коммерческих моноклональных кроличьих антител к ССР 2А и 5 (клон UMB-1, Biotrend Chemikalien GmbH, Köln, Германия или Epitomics Inc., Burlingame, США), которые мы использовали в нашей работе. По данным T. Fischer и соавт. [7], использование этих антител позволило получить более четкую и выраженную мембранную экспрессию ССР 2А, чем при применении других клонов. Полученная реакция аналогична той, которую уже многие

годы успешно применяют при скрининге рака молочной железы для оценки иммуногистохимическим методом экспрессии HER-2/neu-специфических молекулярных мишеней, имеющих важное значение для выбора терапии этих опухолей. M. Volante и соавт. [13] показали высокую корреляцию между мембранной экспрессией ССР 2А в клетках НЭО, результатами сцинтиграфии и клиническим ответом на лечение аналогами соматостатина и, напротив, слабую корреляцию при выявлении цитоплазматической экспрессии ССР 3 и 5. Аналогичные данные были ранее получены E.T. Janson и соавт. [26]. При сравнении нескольких клонов коммерческих антител четкую, интенсивную мембранную реакцию мы получили только при использовании моноклональных кроличьих антител клона UMB-1. M. Korner и соавт. [27] полагают, что использование этих клонов антител позволяет с большой точностью определять плотность и интенсивность экспрессии ССР 2А на опухолевых клетках, поэтому иммуногистохимический метод при необходимости может заменить такой дорогостоящий метод, как ауторадиография. Определение ССР 1–5 иммуногистохимическим методом в тканях НЭО легко воспроизводимо, метод несложно использовать в рутинной клинической диагностике [19]. Лечение аналогами соматостатина при наличии в опухоли ССР позволяет значительно снизить синтез и реализацию гормонов опухолью, что сопровождается снижением уровня хромогранина А в сыворотке, а увеличение его уровня следует трактовать как прогрессирование болезни, часто обусловленное развитием резистентности к использованным препаратам [8]. Один из возможных молекулярных механизмов возникновения такой резистентности недавно описали J.C. Reubi и соавт. [28]: при применении для лечения больших доз аналогов соматостатина рецепторы с мембраны клеток могут погружаться в цитоплазму клеток, в результате чего они становятся недоступными для действия препаратов, но этот процесс обратим, и через некоторое время ССР могут снова мигрировать на мембрану. Для улучшения результатов лечения НЭО, в первую очередь тех, которые экспрессируют преимущественно ССР 1, 3 или 5, в последние годы созданы или разрабатываются новые препараты аналогов соматостатина, которые способны связываться с более широким спектром рецепторов [25, 29–32]. Такие мультивалентные аналоги соматостатина могут в 30–40 раз эффективнее связываться с ССР 2 и 5, а также дополнительно связывать ССР 1 и 3. Потенциальными мишенями



для применения новых аналогов соматостатина являются феохромоцитомы, которые чаще всего экспрессируют ССР 3 [33]. Особенно перспективны новые аналоги соматостатина для лечения пациентов с НЭО, которые были первично резистентны к терапии прежними аналогами или резистентность у них развилась в процессе лечения.

## Выводы и практические рекомендации

1. В большинстве функционирующих НЭО ЖКТ и поджелудочной железы, кроме инсулином и АКТГ-секретирующих НЭО легких и тимуса, содержится большое количество рецепторов к соматостатину всех типов.
2. Самый высокий уровень экспрессии клинически значимых рецепторов ССР 2А выявлен в НЭО тонкого и толстого кишечника, желудка, поджелудочной железы и тимуса, самый низкий – в НЭО прямой кишки и легких. Часть низкодифференцированных мелко- и крупноклеточных НЭО легкого экспрессируют ССР 2А и ССР 5.
3. Больше всего ССР 3, которые слабо связываются с самыми распространенными в клинической практике аналогами соматостатина, выявлено в НЭО желудка и инсулиномах поджелудочной железы, АКТГ-секретирующих НЭО легких, что дает основание прогнозировать более эффективное использование для лечения этих

опухолей новых мультивалентных аналогов соматостатина, позволяющих связывать и эти рецепторы.

4. С возрастанием злокачественного потенциала НЭО поджелудочной железы (Grade) в них увеличивается пропорция ССР 2А-позитивных опухолей.
5. Хорошие результаты определения экспрессии ССР иммуногистохимическим методом позволяют рекомендовать этот метод к использованию в рутинном морфологическом исследовании, в том числе на биопсийных диагностических образцах для прогнозирования эффективности лечения в случаях неоперабельных опухолей.
6. Стандартизация методов оценки экспрессии рецепторов к соматостатину и определение до начала лечения статуса экспрессии ССР в каждой НЭО, включая и низкодифференцированные карциномы, позволит достаточно точно прогнозировать и обосновывать эффективность применения аналогов соматостатина.
7. Внедрение новых молекулярных медицинских технологий при диагностике и лечении любых злокачественных новообразований человека – наиболее перспективное направление современной онкологии, а тестирование опухолей до начала лечения имеет исключительно важное клиническое значение. ©

## Литература

1. Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science*. 1973;179(4077):1011–4. doi: 10.1126/science.179.4077.1011.
2. Reubi JC, Kappeler A, Waser B, Laissue JR, Hipkin W, Schonbrunn A. Immunohistochemical localization of somatostatin receptors sst2A in human tumors. *Am J Pathol*. 1998;153(1):233–45. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65564-2.
3. Susini C, Buscail L. Rationale for the use of somatostatin analogs as antitumor agents. *Ann Oncol*. 2006;17(12):1733–42. doi: 10.1093/annonc/mdl105.
4. Guillermet-Guibert J, Lahlou H, Pyronnet S, Bousquet C, Susini C. Somatostatin receptors as tools for diagnosis and therapy: Molecular aspects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005;19(4):535–51. doi: 10.1016/j.bpg.2005.03.007.
5. Strosberg J, Kvols L. Antiproliferative effect of somatostatin analogs in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *World J Gastroenterol*. 2010;16(24):2963–70. doi: 10.3748/WJG.v16.i24.2963.
6. Gugger M, Waser B, Kappeler A, Schonbrunn A, Reubi JC. Cellular detection of sst2A receptors in human gastrointestinal tissue. *Gut*. 2004;53(10):1431–6. doi: 10.1136/gut.2004.042002.
7. Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11):4519–24. doi: 10.1210/jc.2008-1063.
8. Öberg K, Kvols L, Caplin M, Delle Fave G, de Herder W, Rindi G, Ruzsniwsk P, Woltering EA, Wiedenmann B. Consensus report on the use of somatostatin analogs for the management of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Ann Oncol*. 2004;15(6):966–73. doi: 10.1093/annonc/mdh216.
9. Горбунова ВА, Орел НФ, Кузьминов АЕ. Современные направления лечения нейроэндокринных опухолей. *Современная онкология*. 2010;(1):30–5.
10. Гуревич ЛЕ, Пантелеева ЕИ, Корсакова НА, Казанцева ИА, Егоров АВ, Бритвин ТА, Васильев ИА, Устинова ЕИ. Экспрессия рецепторов к соматостатину 1, 2, 3 и 5 типов в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы. *Практическая медицина*. 2012;(9):117–9.
11. Дедов ИИ, Марова ЕИ, Абросимов АЮ, Лапшина АМ, Григорьев АЮ, Аблицов ЮА, Кузнецов НС, Гончаров НП, Арапова СД, Рожинская ЛЯ. Экспрессия рецепторов соматостатина и дофамина в АКТГ-продуцирующих опухолях. *Проблемы эндокринологии*. 2010;56(1):14–8.
12. Егоров АВ, Кондрашин СА, Фоминых ЕВ, Мусаев ГХ, Гитель ЕП, Гуревич ЛЕ, Парнова ВА, Васильев ИА, Рабинович ЭЗ, Волков РЮ. Аналоги соматостатина в диагностике и лечении нейроэндокринных опухолей. *Анналы хирургической гепатологии*. 2009;14(4):71–8.
13. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, La Rosa S, Rapa I, Ferrero A, Mansueto G, Righi L, Garancini S, Capella C, De Rosa G, Dogliotti L, Colaio A, Papotti M. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol*. 2007;20(11):1172–82. doi: 10.1038/modpathol.3800954.



14. Zamora V, Cabanne A, Salanova R, Bestani C, Domenichini E, Marmisolle F, Giacomi N, O'Connor J, Mendez G, Roca E. Immunohistochemical expression of somatostatin receptors in digestive endocrine tumours. *Dig Liver Dis.* 2010;24(3):220–5. doi: 10.1016/j.dld.2009.07.018.
15. Bertherat J, Tenenbaum F, Perlemoine K, Videau C, Albertini JL, Richard B, Dousset B, Bertagna AX, Epelbaum J. Somatostatin Receptors 2 and 5 A are the major somatostatin receptors in insulinomas: an in vivo and in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5353–60. doi: 10.1210/jc.2002-021895.
16. Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL, Busolati G. Expression of somatostatin receptor types 1–5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch.* 2002;440(5):461–75. doi: 10.1007/s00428-002-0609-x.
17. De Sa SV, Correa-Giannella ML, Machado MC, de Souza JJ, Pereira MA, Patzina RA, Siqueira SA, Machado MC, Giannella-Neto D. Somatostatin receptor subtype 5 (SSTR5) mRNA expression is related to histopathological features of cell proliferation in insulinomas. *Endocr Relat Cancer.* 2006;13(1):69–78. doi: 10.1677/erc.1.00962.
18. O'Toole D, Saveanu A, Couvelard A, Gunz G, Enjalbert A, Jaquet P, Ruszniewski P, Barlier A. The analysis of quantitative expression of somatostatin and dopamine receptors in gastro-entero-pancreatic tumours opens new therapeutic strategies. *Eur J Endocrinol.* 2006;6(6):849–57. doi: 10.1530/eje.1.02307.
19. Schmid HA, Lambertini C, van Vugt HH, Barzaghi-Rinaudo P, Schäfer J, Hillenbrand R, Sailer AW, Kaufmann M, Nuciforo P. Monoclonal antibodies against the human somatostatin receptor subtypes 1–5: development and immunohistochemical application in neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology.* 2012;95(3):232–47. doi: 10.1159/000330616.
20. Kanakis G, Grimelius L, Spathis A, Tringidou R, Rassidakis GZ, Oberg K, Kaltass G, Tsolakis AV. Expression of somatostatin receptors 1–5 and dopamine receptor 2 in lung carcinoids: implication for a therapeutic role. *Neuroendocrinology.* 2015;101(3):211–22. doi: 10.1159/000381061.
21. Righi L, Volante M, Tavaglione V, Billè A, Daniele L, Angusti T, Inzani F, Pelosi G, Rindi G, Papotti M. Somatostatin receptor tissue distribution in lung neuroendocrine tumors: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 218 'clinically aggressive' cases. *Ann Oncol.* 2010;21(3):548–55. doi: 10.1093/annonc/mdp334.
22. Kaemmerer D, Specht E, Sanger J, Witz RM, Sayeg M, Schulz S, Lupp A. Somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms: new diagnostic, prognostic, and therapeutic markers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):831–40. doi: 10.1210/jc.2014-2699.
23. Tsuta K, Wistuba II, Moran CA. Differential expression of somatostatin receptors 1–5 in neuroendocrine carcinoma of the lung. *Pathol Res Pract.* 2012;208(8):470–4. doi: 10.1016/j.prp.2012.05.014.
24. Hofland LJ, Liu Q, Van Koetsveld PM, Zijderwijk J, Van der Ham F, De Krijger RR, Schonbrunn A, Lamberts SW. Immunohistochemical detection of somatostatin receptor subtypes sst1 and sst2A in human somatostatin receptor positive tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(2):775–80. doi: 10.1210/jcem.84.2.5497.
25. Kulaksiz H, Eissele R, Rössler D, Schulz S, Höllt V, Cetin Y, Arnold R. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut.* 2002;50(1):52–60. doi: 10.1136/gut.50.1.52.
26. Janson ET, Stridsberg M, Gobl A, Westlin JE, Oberg K. Determination of somatostatin receptor subtype 2 in carcinoid tumors by immunohistochemical investigation with somatostatin receptor subtype 2 antibodies. *Cancer Res.* 1998;58(11):2375–8.
27. Korner M, Waser B, Schonbrunn A, Perren A, Reubi JC. Somatostatin receptor subtype 2A immunohistochemistry using a new monoclonal antibody selects tumors suitable for in vivo somatostatin receptor targeting. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):242–52. doi: 10.1097/PAS.0b013e31823d07f3.
28. Reubi JC, Waser B, Cescato R, Gloor B, Stetler C, Chest E. Internalized somatostatin receptor subtype 2 in neuroendocrine tumors of octreotide-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(5):2343–50. doi: 10.1210/jc.2009-2487.
29. Ferone D, Saveanu A, Culler MD, Arvigo M, Rebora A, Gatto F, Minuto F, Jaquet P. Novel chimeric somatostatin analogs: facts and perspectives. *Eur J Endocrinol.* 2007;156 Suppl 1:S23–8. doi: 10.1530/eje.1.02356.
30. Hofland LJ, van der Hoek J, Feelders R, van Aken MO, van Koetsveld PM, Waaijers M, Sprij-Mooij D, Bruns C, Weckbecker G, de Herder WW, Beckers A, Lamberts SW. The multi-ligand somatostatin analogue SOM230 inhibits ACTH secretion by cultured human corticotroph adenomas via somatostatin receptor type 5. *Eur J Endocrinol.* 2005;152(4):645–54. doi: 10.1530/eje.1.01876.
31. Ono K, Suzuki T, Miki Y, Taniyama Y, Nakamura Y, Noda Y, Watanabe M, Sasano H. Somatostatin receptor subtypes in human non-functioning neuroendocrine tumors and effects of somatostatin analogue SOM230 on cell proliferation in cell line NCI-H727. *Anticancer Res.* 2007;27(4B):2231–9.
32. Modlin IM, Pavel M, Kidd M, Gustafsson BI. Review article: somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine (carcinoid) tumours. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(2):169–88. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04174.x.
33. Mundschenk J, Unger N, Schulz S, Holtt V, Schulz S, Steinke R, Lehnert H. Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and functional relevance for octreotide scintigraphy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5150–7. doi: 10.1210/jc.2003-030262.

## References

1. Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science.* 1973;179(4077):1011–4. doi: 10.1126/science.179.4077.1011.
2. Reubi JC, Kappeler A, Waser B, Laissue JR, Hipkin W, Schonbrunn A. Immunohistochemical localization of somatostatin receptors sst2A in human tumors. *Am J Pathol.* 1998;153(1):233–45. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65564-2.
3. Susini C, Buscail L. Rationale for the use of somatostatin analogs as antitumor agents. *Ann Oncol.* 2006;17(12):1733–42. doi: 10.1093/annonc/mdl105.
4. Guillermet-Guibert J, Lahlou H, Pyronnet S, Bousquet C, Susini C. Somatostatin receptors as tools for diagnosis and therapy: Molecular aspects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005;19(4):535–51. doi: 10.1016/j.bpg.2005.03.007.
5. Strosberg J, Kvols L. Antiproliferative effect of somatostatin analogs in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *World J Gastroenterol.* 2010;16(24):2963–70. doi: 10.3748/WJG.v16.i24.2963.
6. Gugger M, Waser B, Kappeler A, Schonbrunn A, Reubi JC. Cellular detection of sst2A receptors in human gastrointestinal tissue. *Gut.* 2004;53(10):1431–6. doi: 10.1136/gut.2004.042002.
7. Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the nov-



- el rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4519–24. doi: 10.1210/jc.2008-1063.
8. Öberg K, Kvols L, Caplin M, Delle Fave G, de Herder W, Rindi G, Ruszniewski P, Woltering EA, Wiedenmann B. Consensus report on the use of somatostatin analogs for the management of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Ann Oncol.* 2004;15(6):966–73. doi: 10.1093/annonc/mdh216.
  9. Gorbunova VA, Orel NF, Kuz'minov AE. Sovremennye napravleniya lecheniya neuroendokrinnyykh opukholykh [Modern trends in the treatment of neuroendocrine tumors]. *Sovremennaya onkologiya.* 2010;(1):30–5 (in Russian).
  10. Gurevich LE, Panteleva EI, Korsakova NA, Kazantseva IA, Egorov AV, Britvin TA, Vasil'ev IA, Ustinova EI. Ekspressiya retseptorov k somatostatinu 1, 2, 3 i 5 tipov v neuroendokrinnyykh opukholyakh podzheludochnoy zhelezy [Expression of somatostatin receptors 1, 2, 3 and 5 types of neuroendocrine tumors of the pancreas]. *Prakticheskaya meditsina.* 2012;(9):117–9 (in Russian).
  11. Dedov II, Marova EI, Abrosimov AYU, Lapshina AM, Grigor'ev AYU, Ablitsov YuA, Kuznetsov NS, Goncharov NP, Arapova SD, Rozhinskaya LYa. Ekspressiya retseptorov somatostatina i dofamina v AKTG-produt-siruyushchikh opukholyakh [The expression of somatostatin and dopamine receptors in ACTH-producing tumors]. *Problemy endokrinologii.* 2010;56(1):14–8 (in Russian).
  12. Egorov AV, Kondrashin SA, Fominykh EV, Mусаev GK, Gitel' EP, Gurevich LE, Parnova VA, Vasil'ev IA, Rabinovich EZ, Volkov RYu. Analogi somatostatina v diagnostike i lechenii neuroendokrinnyykh opukholykh [Somatostatin analogs in diagnosis and treatment of neuroendocrine tumors]. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii.* 2009;14(4):71–8 (in Russian).
  13. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, La Rosa S, Rapa I, Ferrero A, Mansueto G, Righi L, Garancini S, Capella C, De Rosa G, Dogliotti L, Colao A, Papotti M. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol.* 2007;20(11):1172–82. doi: 10.1038/modpathol.3800954.
  14. Zamora V, Cabanne A, Salanova R, Bestani C, Domenichini E, Marmissole F, Giacomi N, O'Connor J, Mendez G, Roca E. Immunohistochemical expression of somatostatin receptors in digestive endocrine tumours. *Dig Liver Dis.* 2010;24(3):220–5. doi: 10.1016/j.dld.2009.07.018.
  15. Bertherat J, Tenenbaum F, Perlemonne K, Videau C, Albertini JL, Richard B, Dousset B, Bertagna AX, Epelbaum J. Somatostatin Receptors 2 and 5 A are the major somatostatin receptors in insulinomas: an in vivo and in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5353–60. doi: 10.1210/jc.2002-021895.
  16. Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL, Bus-solati G. Expression of somatostatin receptor types 1–5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch.* 2002;440(5):461–75. doi: 10.1007/s00428-002-0609-x.
  17. De Sa SV, Correa-Giannella ML, Machado MC, de Souza JJ, Pereira MA, Patzina RA, Siqueira SA, Machado MC, Giannella-Neto D. Somatostatin receptor subtype 5 (SSTR5) mRNA expression is related to histopathological features of cell proliferation in insulinomas. *Endocr Relat Cancer.* 2006;13(1):69–78. doi: 10.1677/erc.1.00962.
  18. O'Toole D, Saveanu A, Couvelard A, Gunz G, Enjalbert A, Jaquet P, Ruszniewski P, Barlier A. The analysis of quantitative expression of somatostatin and dopamine receptors in gastro-entero-pancreatic tumours opens new therapeutic strategies. *Eur J Endocrinol.* 2006;(6):849–57. doi: 10.1530/eje.1.02307.
  19. Schmid HA, Lambertini C, van Vugt HH, Barzaghi-Rinaudo P, Schäfer J, Hillenbrand R, Sailer AW, Kaufmann M, Nuciforo P. Monoclonal antibodies against the human somatostatin receptor subtypes 1–5: development and immunohistochemical application in neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology.* 2012;95(3):232–47. doi: 10.1159/000330616.
  20. Kanakis G, Grmelius L, Spathis A, Tringidou R, Rassidakis GZ, Öberg K, Kaltass G, Tsolakis AV. Expression of somatostatin receptors 1–5 and dopamine receptor 2 in lung carcinoids: implication for a therapeutic role. *Neuroendocrinology.* 2015;101(3):211–22. doi: 10.1159/000381061.
  21. Righi L, Volante M, Tavaglione V, Billè A, Daniele L, Angusti T, Inzani F, Pelosi G, Rindi G, Papotti M. Somatostatin receptor tissue distribution in lung neuroendocrine tumors: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 218 'clinically aggressive' cases. *Ann Oncol.* 2010;21(3):548–55. doi: 10.1093/annonc/mdp334.
  22. Kaemmerer D, Specht E, Sanger J, Witz RM, Sayeg M, Schulz S, Lupp A. Somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms: new diagnostic, prognostic, and therapeutic markers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):831–40. doi: 10.1210/jc.2014-2699.
  23. Tsuta K, Wistuba II, Moran CA. Differential expression of somatostatin receptors 1–5 in neuroendocrine carcinoma of the lung. *Pathol Res Pract.* 2012;208(8):470–4. doi: 10.1016/j.prp.2012.05.014.
  24. Hofland LJ, Liu Q, Van Koetsveld PM, Zuiderdijk J, Van der Ham F, De Krijger RR, Schonbrunn A, Lamberts SW. Immunohistochemical detection of somatostatin receptor subtypes sst1 and sst2A in human somatostatin receptor positive tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(2):775–80. doi: 10.1210/jcem.84.2.5497.
  25. Kulaksiz H, Eissele R, Rössler D, Schulz S, Höllt V, Cetin Y, Arnold R. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut.* 2002;50(1):52–60. doi: 10.1136/gut.50.1.52.
  26. Janson ET, Stridsberg M, Gobl A, Westlin JE, Öberg K. Determination of somatostatin receptor subtype 2 in carcinoid tumors by immunohistochemical investigation with somatostatin receptor subtype 2 antibodies. *Cancer Res.* 1998;58(11):2375–8.
  27. Korner M, Waser B, Schonbrunn A, Perren A, Reubi JC. Somatostatin receptor subtype 2A immunohistochemistry using a new monoclonal antibody selects tumors suitable for in vivo somatostatin receptor targeting. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):242–52. doi: 10.1097/PAS.0b013e31823d07f3.
  28. Reubi JC, Waser B, Cescato R, Gloor B, Stettler C, Chest E. Internalized somatostatin receptor subtype 2 in neuroendocrine tumors of octreotide-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(5):2343–50. doi: 10.1210/jc.2009-2487.
  29. Ferone D, Saveanu A, Culler MD, Arvigo M, Rebora A, Gatto F, Minuto F, Jaquet P. Novel chimeric somatostatin analogs: facts and perspectives. *Eur J Endocrinol.* 2007;156 Suppl 1:S23–8. doi: 10.1530/eje.1.02356.
  30. Hofland LJ, van der Hoek J, Feelders R, van Aken MO, van Koetsveld PM, Waaijers M, Sprij-Mooij D, Bruns C, Weckbecker G, de Herder WW, Beckers A, Lamberts SW. The multi-ligand somatostatin analogue SOM230 inhibits ACTH secretion by cultured human corticotroph adenomas via somatostatin receptor type 5. *Eur J Endocrinol.* 2005;152(4):645–54. doi: 10.1530/eje.1.01876.
  31. Ono K, Suzuki T, Miki Y, Taniyama Y, Nakamura Y, Noda Y, Watanabe M, Sasano H. Somatostatin receptor subtypes in human non-functioning neuroendocrine tumors and effects of somatostatin analogue SOM230 on cell proliferation in cell line NCI-H727. *Anticancer Res.* 2007;27(4B):2231–9.
  32. Modlin IM, Pavel M, Kidd M, Gustafsson BI. Review article: somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine (carcinoid) tumours. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(2):169–88. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04174.x.
  33. Mundschenk J, Unger N, Schulz S, Höllt V, Schulz S, Steinke R, Lehnert H. Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and functional relevance for octreotide scintigraphy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5150–7. doi: 10.1210/jc.2003-030262.



# Immunohistochemical determination of expression of somatostatin receptors types 1, 2A, 3 and 5 in neuroendocrine tumors of various localization and grade

Gurevich L.E.<sup>1</sup> • Korsakova N.A.<sup>1</sup> • Voronkova I.A.<sup>2</sup> •  
Ashevskaya V.E.<sup>1</sup> • Titov A.G.<sup>1</sup> • Kogoniya L.M.<sup>1</sup> • Egorov A.V.<sup>3</sup> •  
Britvin T.A.<sup>1</sup> • Vasil'ev I.A.<sup>3</sup>

**Background:** Prediction of clinical benefits of somatostatin analogues in patients with neuroendocrine tumors (NET) is very important prior to their administration. Data on immunohistochemical assessment of the expression of somatostatin receptors (SSR) of various types, obtained from large samples of NET with various localization, functional activity and degree of malignancy, are scarce; therefore, the study was **aimed** at assessment of the latter. **Materials and methods:** We performed an immunohistochemical study with antibodies to SSR1, 2A, 3 and 5 types on tissue samples obtained during diagnostic and intra-operative biopsies from 399 NETs: 168 from pancreas, 120 from gastrointestinal tract (stomach, 48, from small intestine, 39, 14 of which being from duodenum; appendix, 6, colon and the rectum, 15 and 12, respectively), 84 from lung, 6 from thymus/mediastinum, and 21 from NET metastases of unknown primary localization. **Results:** Very high levels expression of receptors SSR2A preferentially binding to somatostatin analogues, which are currently used in clinical practice, were detected in the small intestine NETs (22/25, 88%), appendix (5/6, 83.3%), colon (10/15, 66.7%), thymus (4/6, 66.7%), atypical carcinoids of the lung (10/15, 66.7%), stomach (27/41, 65.8%) and pancreas (105/165, 63.6%). The lowest expression was found in rectal NETs (5/12, 41.7%) and small and large cell neuroendocrine lung carcinomas (20, 11.1%). Among functioning NETs, the highest level of SSR2A was found in gastrinomas (18/19, 94.7%), glucagonomas (15/16, 93.8%), small intestine carcinoids (31/35, 88.6%), and somatostatinomas (2/3, 66.7%). The lowest

expression was detected in ACTH secreting tumors with Cushing's syndrome (11/12, 50%), and in insulinomas (34/69, 49.3%). SSR2A expression in functionally inactive pancreatic NETs was significantly higher than in insulinomas (57/82, 34/69 vs 69.5 and 49.3%, respectively). SSR2A expression was associated with the degree of malignancy and is higher in pancreatic NET Grade 2A (Ki67 to 10%), Grade 2B (Ki67 10–19%) and in neuroendocrine carcinomas Grade 3, compared to Grade 1 (16/50 (32%), 37/61 (60.6%), 8/12 (66.7%) and 20/24 (83.3%), respectively). Overexpression of SSR5, which is the second clinically significant receptor, was observed in NETs of the duodenum (7/10, 70%) and appendix (2/5, 60%), and among functionally active NETs in glucagonomas and gastrinomas (12/15, 80%). SSR3 are less common, than SSR2A and 5, and are found most often in the gastric NETs (6/11, 54.5%), insulinomas (16/37, 43.2%), neuroendocrine carcinomas of pancreas Grade 3 (4/9, 44.7%), and typical lung carcinoids (7/16, 41.2%). SSR1 in all tumors are rare, the maximum level of expression was observed in small intestine carcinoids (9/21, 42.9%). **Conclusion:** Depending on their localization and grade of malignancy, neuroendocrine tumors differ in expression of various SSR types. Therefore, determination of the receptor profile of each tumor is necessary before administration of somatostatin analogues.

**Key words:** somatostatin receptor, neuroendocrine tumor, immunohistochemistry

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-378-390

**Gurevich Larisa E.** – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

✉ 6/2–12 Begovaya ul., Moscow, 125284, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 631 74 22.  
E-mail: larisgur@mail.ru

**Korsakova Nina A.** – MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

**Voronkova Iya A.** – MD, PhD, Physician, Laboratory of Pathomorphology<sup>2</sup>

**Ashevskaya Valentina E.** – MD, Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

**Titov Andrey G.** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Thoracic Surgery<sup>1</sup>

**Kogoniya Lali M.** – MD, PhD, Professor of Chair of Oncology and Thoracic Surgery, Postgraduate Training Faculty<sup>1</sup>

**Egorov Aleksey V.** – MD, PhD, Professor, Head of the Department of Surgical Oncology<sup>3</sup>

**Britvin Timur A.** – MD, PhD, Head of the Department of Endocrine Surgery<sup>1</sup>

**Vasil'ev Ivan A.** – MD, PhD, Surgeon, Department of Surgery<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

<sup>2</sup>Endocrinology Research Center; 11 Dmitriya Ul'yanova ul., Moscow, 117036, Russian Federation

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya ul., Moscow, 119991, Russian Federation