

О.И. Кум<sup>1</sup>, И.С. Дерижанова<sup>2</sup>, Н.С. Карнаухов<sup>1,2</sup>, И.А. Новикова<sup>1</sup>,  
В.С. Трифанов<sup>1</sup>, Г.В. Каминский<sup>1</sup>

## Особенности экспрессии соматостатиновых рецепторов в карциномах желудка в зависимости от доли нейроэндокринного компонента

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону  
<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

У 50 пациентов с диагнозом рак желудка был проведен скрининг нейроэндокринного компонента при помощи иммуногистохимического исследования с антителами к хромогранину А и синаптофизину в операционном материале, а также исследован статус соматостатиновых рецепторов (ССТР). Нейроэндокринный компонент в различных соотношениях был обнаружен в 62% наблюдений. В 2 нейроэндокринных карциномах наблюдалась экспрессия ССТР 2 типа на уровне «2+», и лишь в одной адено-нейроэндокринной карциноме показана такая же экспрессия. В карциномах с очаговым нейроэндокринным компонентом и без него экспрессия различных типов ССТР выявлялась в 61,8% наблюдений как в нейроэндокринных, так и в экзокринных структурах. В группе высокодифференцированных нейроэндокринных опухолей в 100% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов соматостатиновых рецепторов, причем в 95% — на уровне «3+». Полученные сведения не позволяют сделать статистически значимые выводы о зависимости экспрессии ССТР от доли нейроэндокринного компонента, но показывают перспективу дальнейшего изучения их не только в нейроэндокринных опухолях, но и в экзокринных и смешанных карциномах.

**Ключевые слова:** рак желудка, нейроэндокринные опухоли, соматостатиновые рецепторы

### Введение

Соматостатин — полупептидный гормон, вырабатываемый в гипоталамусе и в нейроэндокринных клетках поджелудочной железы. Соматостатин ингибирует соматотропин (гормон роста), клеточную пролиферацию и активность различных факторов роста — фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), эпидермоидного фактора роста (EGF), фактора роста фибробластов (bFGF), инсулин-подобного фактора роста (IGF) и др. Кроме того, он повышает активность апоп-

тоза и обладает способностью моделировать и ингибировать функцию нейротрансмиттеров, оказывает существенное влияние на ангиогенез и иммунную систему [1].

В настоящее время известно 5 типов соматостатиновых рецепторов (ССТР 1–5 типов), отличающихся друг от друга по структуре, распространению в организме, филогенетическим и фармакологическим свойствам. Исследование уровня соматостатиновых рецепторов может осуществляться различными способами. Наиболее изученные — иммуногистохимическое исследование и метод полимеразной цепной реакции.

Shi и соавт. показали, что метилирование промотора соматостатина часто наблюдается в ткани рака желудка (РЖ) и связано с уменьшением экспрессии белка соматостатина [2]. Это наблюдение обеспечивает основу для применения таргетной терапии аналогами соматостатина в лечении РЖ [3].

Pavel и соавт. рекомендуют исследование соматостатиновых рецепторов иммуногистохимическим методом только в нейроэндокринных опухолях (НЭО) G1 и G2 [4].

Однако, ССТР2а типа нередко экспрессируется в высокодифференцированных НЭО (в 79%) и почти в половине (44%) низкодифференцированных нейроэндокринных карцином (G3 НЭК), а ССТР5 типа в свою очередь — в 71% высокодифференцированных НЭО и лишь в 28% G3НЭК [5].

Другими авторами показано, что экспрессия пептидных рецепторов является характерной особенностью НЭО ЖКТ и легких, и, по видимому, неодинаково при различных типах опухолей, а также коррелирует с пролиферативным индексом [6].

Стоит отметить, что РЖ представляет собой глобальную проблему здравоохранения, занимая 5 место в структуре заболеваемости и 3 — в структуре смертности [7]. Несмотря на достижения в области профилактики, диагностики и лекарственной терапии, колоссальный прогресс в развитии хирургии РЖ и успехи в разработке противораковых лекарственных

средств, резистентность к лекарственной терапии и рецидивирование РЖ является основными препятствиями для улучшения общей выживаемости больных [8].

РЖ является гетерогенным заболеванием, что отражается в многочисленных морфологических и молекулярно-генетических классификациях. Вне зависимости от улучшения диагностики в большинстве стран мира РЖ до сих пор диагностируется преимущественно на четвертой стадии. Общая выживаемость при запущенном заболевании составляет около 1 года. Этот довольно мрачный прогноз частично обусловлен высоким уровнем биологической гетерогенности опухолей.

НЭО желудка, согласно 4 изданию классификации опухолей ЖКТ ВОЗ (2010), делятся на высокодифференцированные НЭО (G1 и G2) и низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы (НЭК G3). Кроме того, выделяют комбинированную форму — смешанную адено-нейроэндокринную карциному, в которой нейроэндокринный компонент составляет менее 70% площади, но более 30%. Эти пороговые значения многими авторами не считаются абсолютными и обсуждаются в научных публикациях [9].

Истинная частота РЖ с различной долей нейроэндокринного компонента, а также статус экспрессии ССТР в нейроэндокринных и экзокринных клетках являются недостаточно изученными.

Целью нашего исследования стало определить частоту экспрессии ССТР в карциномах желудка в зависимости от доли нейроэндокринного компонента.

## Материалы и методы

Было исследовано 1800 гистологических препаратов и 1650 ИГХ препаратов, полученных от 70 пациентов, наблюдаемых в клиниках ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ и ФГБУ ВО РостГМУ МЗ РФ. Из них 50 больным был диагностирован РЖ (умеренно- и низкодифференцированная аденокарцинома, муцинозная аденокарцинома, перстневидно-клеточный рак), 20 пациентам поставлен диагноз высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль (G1 и G2).

После проведения стандартного объема исследований пациентам выполнялась операция, операционный материал исследовался соответственно полученному нами патенту на изобретение [10]. Желудок вскрывался по большой кривизне, фиксировался на картоне так, чтобы опухоль полностью была погружена в 10% забуференный нейтральный формалин. Далее определялась локализация опухоли, проводились измерения и выполнялись параллельные продольные разрезы всей толщи стенки желудка в зоне опухоли на расстоянии 3 мм друг от друга в направлении сверху вниз. Для дальнейшего исследования использовалась пластина опухоли с максимальной инвазией, которую делили на кусочки размером 1,0×1,0×0,3 см. Строго контролировалось время доставки операционного материала в патологоанатомическое отделение (не более 30 мин после резекции) и время фиксации (в течение 24-х часов после вырезки). Проводку материала, заливку в парафин и изготовление гистологических препаратов (окраска гематоксилин — эозин) проводили по стандартной методике, а все вырезанные из опухоли

кусочки (от 4 до 10) исследовали при помощи иммуногистохимического метода с антителами к Synaptophysin, и Chromogranin A, Ki-67.

При положительной реакции с антителами к хотя бы одному из маркеров нейроэндокринной дифференцировки (увеличение светового микроскопа x200) оценивали процентное содержание таких клеток в каждом блоке, полученные значения суммировали и делили на общее количество блоков, при индексе более 70 опухоль (согласно критериям ВОЗ) расценивалась как низкодифференцированный нейроэндокринный рак, при значении индекса от 30 до 70 опухоль классифицировали, как смешанный адено-нейроэндокринный рак, при выявлении индекса до 30, опухоли характеризовали, как РЖ с нейроэндокринным компонентом. В случае выявления в одних и тех же клетках слизи и нейроэндокринных гранул, такие клетки считали амфикринными.

Экспрессия ССТР выявлялась с помощью моноклональных антител к соматостатиновым рецепторам 1–5 типов.

Оценку экспрессии ССТР проводили по методике, описанной Volante M. и соавт. [5]. Позитивной реакцией («2+» и «3+») считали умеренно и резко выраженную мембранную или мембранно-цитоплазматическую экспрессию ССТР в 50–100% клеток опухоли. Слабо положительная или неполное мембранное окрашивание в менее чем 50% клеток («1+») расценивалась как негативная реакция.

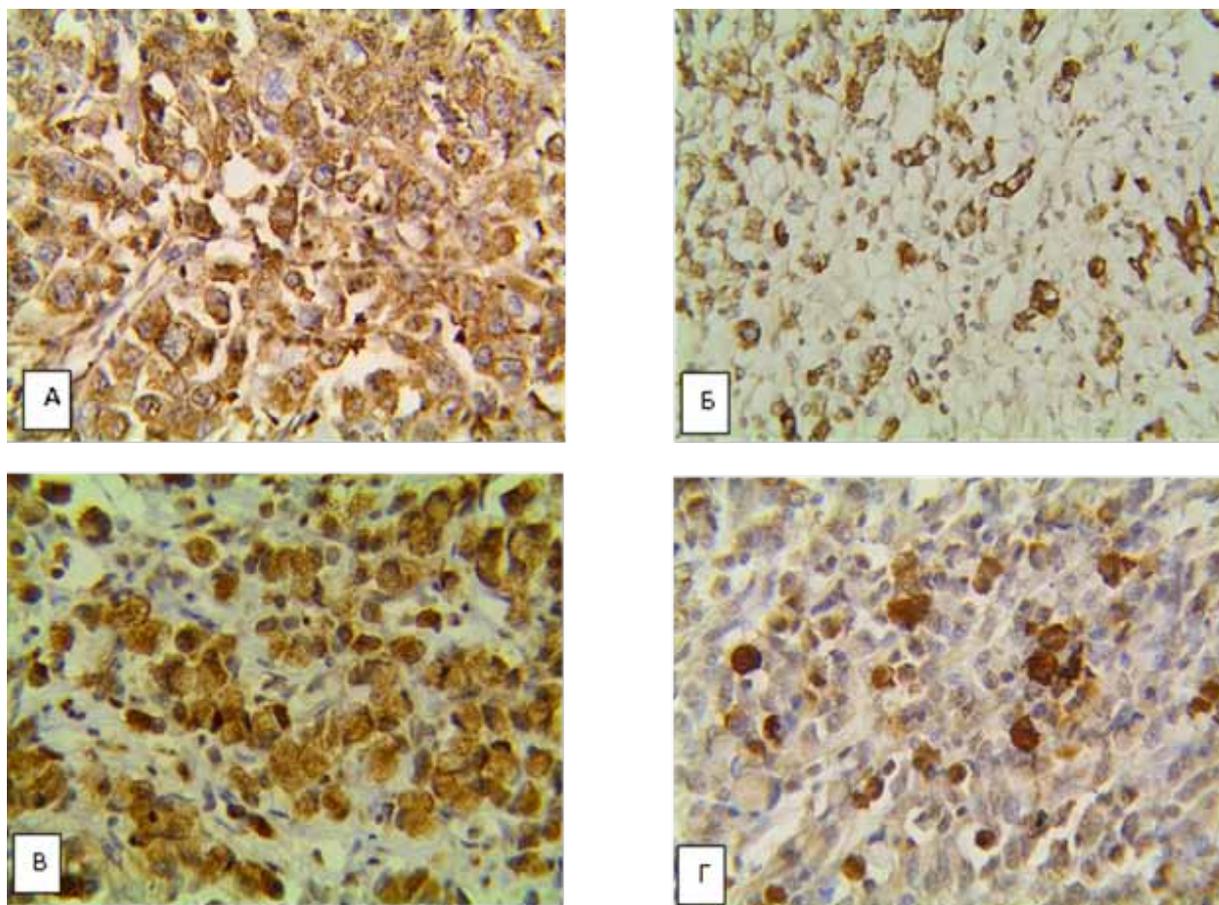
## Результаты

Нейроэндокринный компонент был выявлен в 62% карцином. 4% опухолей были классифицированы как G3 НЭК, 6% — смешанные адено-нейроэндокринные карциномы, в 52% был выявлен очаговый нейроэндокринный компонент (менее 30% площади).

Экспрессия ССТР 2 типа была выявлена в двух НЭК G3 на уровне «2+», а экспрессия ССТР других типов (1–5) полностью отсутствовала.

Слабое цитоплазматическое окрашивание в части (менее 30%) опухолевых клеток («1+») было обнаружено в одном наблюдении САНЭК. Экспрессия ССТР других типов (1–5) также не была выявлена.

Экспрессия ССТР в РЖ с нейроэндокринным компонентом менее 30% была обнаружена не только в нейроэндокринных клетках, но и в экзокринных приблизительно в равных соотношениях (рисунок). В 88,5% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов ССТР, причем в половине опухолей на уровне «2+». ССТР1 типа — в трех наблюдениях на уровне «2+» (15,4%) и в 3,8% на уровне «3+». ССТР2 типа экспрессировались на уровне «2+» в 11,5%. ССТР3 типа на уровне «2+» — 7,7%, а на уровне «3+» — 3,8%. Экспрессия ССТР 3 типа была выявлена в 2 карциномах («2+» и «3+») в перстневидных и амфикринных клетках. ССТР 4 типа на уровне «2+» — 11,5%, а на уровне «3+» — 7,7%. ССТР 5 типа на уровне «2+» — 3,8%. В 1 наблюдении была выявлена резко выраженная гранулярная экспрессия ССТР 4 типа в очагах аденоматозной гиперплазии ней-



Экспрессия ССТР в карциномах желудка с очаговым нейроэндокринным компонентом.

А — цитоплазматическая и мембранная экспрессия ССТР 1 типа, на уровне «3+». ИГХ окр. с АТ к ССТР1 типа. Ув. 400; Б — мембранная экспрессия ССТР 2 типа, на уровне «2+» в смешанной адено-нейроэндокринной карциноме. ИГХ окр. с АТ к ССТР2 типа. Ув. 400; В — цитоплазматическая экспрессия ССТР 3 типа в перстневидных клетках, на уровне «3+». ИГХ окр. с АТ к ССТР3 типа. Ув. 400; Г — цитоплазматическая экспрессия ССТР 4 типа, на уровне «3+» в амфикринных клетках. ИГХ окр. с АТ к ССТР4 типа. Ув. 400

роэндокринных клеток в перифокальной зоне. В 4-х наблюдениях была выявлена экспрессия ССТР 4 типа в амфикринных клетках, причем в 3-х наблюдениях она была умеренно «2+» и резко выраженной «3+». Экспрессия ССТР 5 типа была выявлена в 3-х наблюдениях, но характеризовалась слабым неполным окрашиванием мембран клеток. Лишь в 11,5% наблюдений не было выявлено никакой экспрессии ССТР.

При РЖ без нейроэндокринного компонента экспрессия ССТР была как цитоплазматической, так и мембранной. Мы не выявили статистически значимой связи между гистологическим вариантом и выраженностью экспрессии ССТР. В 73,7% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов соматостатиновых рецепторов. Однако экспрессия на уровне «2+» была выявлена лишь в 21%. Экспрессия ССТР 1, 2, 3 и 5 типов на уровне «2+» — в 5,3%, ССТР 4 типа — 10,6%. Ни в одном наблюдении не было выявлено экспрессии на уровне «3+». В 26,3% вообще не было выявлено экспрессии ССТР.

В 100% наблюдений высококодифференцированных НЭО была выявлена экспрессия хотя бы

одного из 5 типов ССТР, причем в 95% — на уровне «3+». Экспрессия ССТР 1 типа была выявлена в 15%, на уровне «3+» в 5%, и «2+» — в 10%. Чаще всего и наиболее выраженной была экспрессия ССТР 2 типа — в 75% на уровне «3+», и в 15% — на уровне «2+». Экспрессии ССТР 3 типа не было выявлено ни в одном наблюдении высококодифференцированных НЭО. Несмотря на то, что экспрессия ССТР 4 типа была выявлена в 100%, но лишь в 20% — на уровне «3+», еще в 20% — «2+», и в остальных 60% — «1+». В 65% была выявлена экспрессия ССТР 5 типа («3+» — 50%, «2+» — 10%, «1+» — 5%).

### Обсуждение

Экспрессия соматостатиновых рецепторов в нейроэндокринных и смешанных адено-нейроэндокринных карциномах была преимущественно слабо и умеренно выраженная. В карциномах с очаговым нейроэндокринным компонентом и без него экспрессия различных типов соматостатиновых рецепторов выявлялась в 61,8% наблюдений (в 38% наблюдений

на уровне «2+» и «3+»). В группе высокодифференцированных нейроэндокринных опухолей в 100% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов соматостатиновых рецепторов, причем в 95% — на уровне «3+».

### Вывод

Экспрессия соматостатиновых рецепторов в карциномах желудка наблюдается не только в нейроэндокринном компоненте, но и в экзокринном, что может стать перспективным направлением для применения таргетной терапии аналогами соматостатина при раке желудка. Исследованная группа слишком мала для выявления статистически значимых отличий в зависимости от доли нейроэндокринного компонента в опухоли, но показывает перспективу выполнения исследования на больших выборках.

#### Вклад авторов:

Кит О.И. — редакция статьи, организационно-методическая поддержка;

Дерижанова И.С. — редакция статьи, консультация по гистологическим и иммуногистохимическим препаратам;

Карнаухов Н.С. — написание статьи, гистологические и иммуногистохимические исследования;

Новикова И.А. — редакция статья;

Трифанов В.С. — сбор клинических данных, доработка статьи;

Каминский Г.В. — сбор клинических и литературных данных.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

#### Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 4-е изд., доп. и перераб. / Под ред. С.В.Петрова, Н.Т.Райхлина // DESIGNstudio «RED». 2004.
2. Shi et al: Somatostatin methylation in gastric cancer // Oncology letters. 2013;6:1794–1798.
3. Krystallenia I. Alexandraki, Aggeliki Karapanagioti et al. Advances and Current Concepts in the Medical Management of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms // BioMed Research International Volume. 2017:12.
4. Pavel M, Baudin E, Couvelard A et al. Barcelona Consensus Conference participants: ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms

- of foregut, mid-gut, hindgut, and unknown primary // Neuroendocrinology. 2012;95:157–176.
5. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A et al. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy // Mod Pathol. 2007;20:1172–82.
6. Körner M, Waser JB, Reubi C. Does Somatostatin or Gastric Inhibitory Peptide Receptor Expression Correlate with Tumor Grade and Stage in Gut Neuroendocrine Tumors? // Neuroendocrinology. 2015;101:45–57.
7. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // CA Cancer J Clin. 2018;68:394–424.
8. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention // Gastroenterology Rev. 2019;14:26–38.
9. Кит О.И., Дерижанова И.С., Карнаухов Н.С. Вопросы классификации нейроэндокринных опухолей желудка // Вопросы онкологии. 2016;62(5):573–579.
10. Пат. 2613300 Российская Федерация, МПК G01N. Способ диагностики низкодифференцированного нейроэндокринного рака желудка [текст] / Кит О.И., Дерижанова И.С., Карнаухов Н.С.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт. (RU). № 2015148302; заявл. 10.11.2015; опубл. 15.03.2017, Бюл. № 8. 11 с.: илл.

Поступила в редакцию 04.06.2019 г.

O.I. Kit<sup>1</sup>, I.S. Derizhanova<sup>2</sup>, N.S. Karnaukhov<sup>1</sup>, I.A. Novikova<sup>1</sup>, V.S. Trifanov<sup>1</sup>, G.V. Kaminsky<sup>1</sup>

### Features of expression of somatostatin receptors in gastric carcinomas, depending on the proportion of the neuroendocrine component

<sup>1</sup> National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

<sup>2</sup> Rostov State Medical University, Russia

In 50 patients with gastric cancer, a neuroendocrine component was screened using immunohistochemical studies with antibodies to chromogenic and synaptophysin in the surgical material, as well as a somatostatin receptor status researcher (SSTR). The neuroendocrine component in various proportions was found in 62% of observers. In 2 neuroendocrine carcinomas, expression of type 2 SSTR was observed at the level of «2+», and only one adeno-neuroendocrine carcinoma produced the same expression. In carcinomas with and without neuroendocrine component, the expression of various types of SSTR was detected in 61.8% of observers in both neuroendocrine and exocrine structures. In the group of highly differentiated neuroendocrine tumors, 100% of the observers detected the expression of at least one of the 5 types of somatostatin receptors, and in 95% — at the «3+» level. The data obtained do not allow making statistically significant conclusions about the dependence of the expression of SSTR on the presence of the neuroendocrine component, but with the prospect of further study not only in neuroendocrine tumors, but also in exocrine and mixed carcinomas.

**Key words:** gastric cancer, neuroendocrine tumors, somatostatin receptors