

Alicja HUBALEWSKA-DYDEJCZYK  
Małgorzata TROFIMIUK  
Anna SOWA-STASZCZAK  
Aleksandra GILIS-JANUSZEWSKA  
Wojciech WIERZCHOWSKI<sup>1</sup>  
Dorota PACH  
Andrzej BUDZYŃSKI<sup>2</sup>  
Danuta KARCZ<sup>2</sup>

Katedra i Klinika Endokrynologii  
Collegium Medicum  
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie  
Kierownik:  
Dr hab. n. med. Alicja Hubalewska-Dydejczyk

<sup>1</sup>Katedra Patomorfologii Collegium Medicum  
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie  
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Jerzy Stachura

<sup>2</sup>II Katedra Chirurgii Collegium Medicum  
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie  
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Danuta Karcz

#### Dodatkowe słowa kluczowe:

receptor somatostatynowy  
guz chromochłonny  
scyntygrafia

#### Additional key words:

somatostatin receptor  
pheochromocytoma  
scintigraphy

## Ekspresja receptorów somatostatynowych (SSTR1-SSTR5) w guzach chromochłonnych

### Somatostatin receptors expression (SSTR1-SSTR5) in pheochromocytomas

**Stwierdzenie obecności receptorów somatostatyny (SSTR) w guzach neuroendokrynnych uwarunkowało współczesne metody ich diagnostyki i terapii, i zaczyna także modyfikować podejście do guzów chromochłonnych. Wyniki badań in vitro potwierdzają ekspresję SSTR w pheochromocytoma, zwłaszcza podtypu 2A i 3, oraz wskazują, że ich błonowa lokalizacja jest najistotniejsza dla dalszej diagnostyki z użyciem analogów somatostatyny. Scyntygrafia receptorowa z użyciem znakowanych analogów somatostatyny ma już uznany status komplementarnej metody w diagnostyce lokalizacyjnej guzów chromochłonnych, zwłaszcza złośliwych. Badania na hodowlach komórkowych wskazują na skuteczność dostępnych obecnie analogów somatostatyny w kontrolowaniu wzrostu i czynności hormonalnej guzów chromochłonnych, niestety nie potwierdzają tego badania kliniczne. Wydaje się, że analogi o szerszym spektrum działania w stosunku do SSTR mogą to zmienić. Natomiast obiecujące wyniki osiąga się w terapii za pomocą znakowanych analogów.**

**Confirmation of somatostatin receptors (SSTR) expression in neuroendocrine tumours has changed their modern diagnosis and therapy, and starts to influence the approach to pheochromocytomas. In vitro studies have revealed the SSTR expression in pheochromocytomas, particularly subtype 2A and 3. They also have indicated that their confinement to cell membranes is essential for successful diagnostics with the use of somatostatin analogues. Scintigraphy with radiolabeled somatostatin analogues is nowadays an approved complementary method of pheochromocytoma localization, particularly the malignant ones. Cell culture studies have indicated that the commercially available somatostatin analogues are able to control tumour growth and secretion. Unfortunately these results have not been confirmed by clinical studies. It seems that the analogues with the broader affinity to sstr may be a good therapeutic option for pheochromocytoma patients. Promising results of radiotherapy with labeled analogues have been recently announced.**

Somatostatyna jest hormonem i neuroprzebieżnikiem szeroko rozpowszechnionym zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i poza nim. Hamuje ona wydzielanie wielu hormonów, ma działanie antyproliferacyjne i indukujące apoptozę, hamuje angiogenezę. Swoje działanie wywiera poprzez specyficzne receptory, które zostały wyizolowane dopiero w latach 90 XX-wieku. Należą one do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G, występują w pięciu podtypach, z których typ 2 ma dwie izoformy A i B. Receptory dla somatostatyny (SSTR) spotyka się nie tylko w tkankach zdrowych, ale też w tkankach patologicznych, np. w guzach neuroendokrynnych. Odkrycie receptorów somatostatynowych (SSTR) w guzach neuroendokrynnych całkowicie zrewolucjonizowało spojrzenie na diagnostykę i terapię pacjentów z tymi nowotworami [1, 13, 16].

Do nowotworów neuroendokrynnych zalicza się obecnie także guzy chromochłonne, nowotwory wywodzące się z komórek chromafinowych nadnerczy lub komórek przyzwojowych [11]. Obecność SSTR w tych

guzach determinuje wykorzystanie analogów somatostatyny w ich diagnostyce i terapii.

Celem pracy jest przedstawienie przeglądu literatury dotyczącej ekspresji receptorów somatostatynowych w guzach chromochłonnych oraz diagnostycznych i terapeutycznych konsekwencji tego faktu.

#### Ekspresja receptorów somatostatyny w guzach chromochłonnych.

Po raz pierwszy ekspresję receptorów dla somatostatyny w guzach chromochłonnych i przyzwojakach wykazali Reubi i wsp. [18]. Oznaczone metodami autoradiograficznymi SSTR stwierdzono w 73% *pheochromocytoma* (z czego 36% charakteryzowało się wysoką gęstością receptora) i 93% paraganglioma (wysoka gęstość SSTR w 43%). Kolejne prace potwierdziły ich występowanie. Epelbaum i wsp. [2] zaobserwowali (posługując się podobną metodyką co Reubi i wsp. [18]), że siła wiązania somatostatyny z jej receptorami w guzie chromochłonnym nie zależy od jego lokalizacji (nad-

Adres do korespondencji:

Dr hab. n. med. Alicja Hubalewska-Dydejczyk  
Katedra i Klinika Endokrynologii CM UJ  
31-501 Kraków, ul. Kopernika 17,  
Tel.: 012 424 75 00, Fax: 012 424 73 99  
e-mail: alahub@cm-uj.krakow.pl

nerczowa vs. pozanadnerczowa), złośliwości, wielkości czy wydalania metanefryn. Natomiast była ona istotnie wyższa w guzach nie gromadzących MIBG. Autorzy ci wykazali ponadto obecność w *pheochromocytoma* mRNA wszystkich 5 podtypów receptorów somatostatynowych.

Kimura i wsp. [5] potwierdzili obecność SSTR typu 2A we wszystkich 15 zbadanych przez nich guzach chromochłonnych, zarówno łagodnych, jak i złośliwych. Także przerzuty odległe do płuc i wątroby wykazywały dodatnie odczyny immunohistochemiczne i dodatnie wyniki hybrydizacji *in situ* w kierunku tego podtypu SSTR *Holland* i wsp. [4] stwierdzili cytoplazmatyczną lokalizację SSTR 1 w 4 z 5 badanych *pheochromocytoma*, a błonową ekspresję SSTR 2 w 3 z 5 przypadków.

Mundschenk i wsp. [14] stwierdzili metodami immunohistochemicznymi ekspresję różnych podtypów SSTR w 94% z 52 zbadanych guzów chromochłonnych (pochodzących od 35 pacjentów), w 48% przypadków wykazano obecność co najmniej dwóch podtypów. W przeciwieństwie do typowych guzów neuroendokrynnych w badanej grupie najczęściej wykrywano podtyp 3 SSTR (90,4%), następnie podtyp 2A (25%), 5 (15,4%), 4 (10,4%) i 1 (7,7%). Autorzy nie stwierdzili zależności pomiędzy wzorcem ekspresji SSTR a np. złośliwością nowotworu, jedynie w guzach zlokalizowanych pozanadnerczowo znacznie częściej obserwowano podtyp SSTR 2A. Guzy obustronne pochodzące od jednego pacjenta charakteryzowały się jednakowym modelem ekspresji SSTR, natomiast w 2 przypadkach złośliwych *pheochromocytoma* stwierdzono brak niektórych podtypów w przerzutach nowotworu lub jego wznowie, które były obecne w guzie pierwotnym. W badanej grupie SSTR 1, 4 i 5 wykrywane były jedynie w cytoplazmie komórek nowotworowych, natomiast SSTR 2A głównie w obrębie błony komórkowej. Ekspresja SSTR 3 była natomiast znacznie bardziej heterogenna: dominował wzorec błonowy (28 przypadków), w 8 przypadkach stwierdzano SSTR 3 jedynie w cytozolu, a w 10 przypadkach zarówno w cytoplazmie, jak i w obrębie błony komórkowej. Autorzy oceniali także ekspresję krótkiej formy somatostatyny (SS-14) w tkankach nowotworu, stwierdzając iż wraz z utratą zróżnicowania w guzach o złośliwym charakterze zmniejsza się stężenie tego hormonu. Z 20 przypadków, w których wykazano obecność SS-14, w 17 stwierdzano głównie śródkomórkową ekspresję SSTR 3, natomiast w 3 przypadkach podtyp SSTR 2A, częściowo zlokalizowany w obrębie cytozolu. Obserwacje o SSTR 3 jako dominującym typie receptora w guzie chromochłonnym (seria 7 przypadków) potwierdzili *Unger* i wsp. [22].

W serii 10 guzów chromochłonnych, w których ekspresję receptorów dla somatostatyny badano za pomocą RT-PCR, stwierdzono, że dominował typ 1 SSTR, nie stwierdzono natomiast obecności SSTR 5 [21]. Natomiast w przypadku 3 guzów badanych przez *Kubotę* i wsp. [8] stwierdzono jedynie obecność mRNA SSTR 1 i SSTR 2A.

W badaniach własnych, obejmujących do chwili obecnej grupę 3 chorych, stwier-

dzono ekspresję SSTR 2A (3/3), 3 (2/3) oraz słabą ekspresję SSTR 5 w jednym przypadku (dane wstępne – niepublikowane).

Wydaje się, że różnice w modelu ekspresji receptorów somatostatynowych widoczne w poszczególnych grupach pacjentów badanych przez autorów przedstawianych prac, wynikają w dużym stopniu z ich liczebności, mogą też wiązać się z wykorzystaniem różnych technik do oceny ekspresji podtypów tych receptorów.

#### **Ekspresja receptorów dla somatostatyny a diagnostyka obrazowa guzów chromochłonnych**

Okolo 20 lat temu podjęto pierwsze próby zastosowania znakowanych analogów somatostatyny w diagnostyce guzów wydzielających się z komórek chromafinowych, początkowo przyzwojaków [10]. *Reubi* i wsp. [18] wykazali obecność SSTR w tkankach przyzwojaka w przypadku dodatniego wyniku scyntygrafii z użyciem <sup>123</sup>I[Tyr3]oktreotydu lub <sup>111</sup>In[DTPA-D-Phe1]oktreotydu (*Octreoscan*). Autorzy ci też jako pierwsi wykorzystali tę technikę w diagnostyce guzów chromochłonnych, uzyskując dodatni wynik badania u jednego z 2 pacjentów z potwierdzoną pooperacyjnie ekspresją SSTR.

Cytowani uprzednio *Mundschenk* i wsp. [14] ocenili ekspresję sstr w zależności od wyników przedoperacyjnego badania scyntygraficznego z wykorzystaniem *Octreoscanu*. Okolo 50% pacjentów z dodatnim wynikiem badania wykazywało zgodnie z oczekiwaniami ekspresję błonową SSTR 2A. W przypadku jego braku stwierdzano obecność SSTR 3, całkowicie lub przynajmniej częściowo związanego z błoną komórkową. Ujemny wynik scyntygrafii receptorowej wiązał się z brakiem SSTR 2A i 3 lub jedynie cytoplazmatyczną lokalizacją SSTR 3. Wyniki badania wskazują na konieczność błonowej ekspresji SSTR dla możliwości skutecznej diagnostyki za pomocą znakowanych izotopami analogów somatostatyny.

Inne prace oceniające moc diagnostyczną scyntygrafii z zastosowaniem znakowanych analogów somatostatyny nie podejmowały problemu zależności pomiędzy wynikami badań a ekspresją SSTR [6,12,20]. Choć czułość metody jest wyraźnie niższa w porównaniu do scyntygrafii z <sup>123</sup>I-MIBG, pozwala ona na wykrycie odległych przerzutów nie uwidacznianych za pomocą innych technik diagnostycznych, jest więc badaniem komplementarnym, zwłaszcza w ocenie złośliwych guzów chromochłonnych i w pozanadnerczowej lokalizacji guzów. Również w materiale pochodzącym z naszego ośrodka stwierdzono wyraźnie lepsze obrazu u chorych ze złośliwym guzem chromochłonnym (dane niepublikowane).

#### **Analogi somatostatyny w leczeniu guzów chromochłonnych**

Dotychczasowe doniesienia w większości nie potwierdzają skuteczności leczenia złośliwych guzów chromochłonnych w stadium rozsiewu nowotworowego za pomocą dostępnych obecnie analogów somatostatyny [9,17] (w takich kategoriach jak: zmniejszenie nasilenia objawów, obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, zmniejszenie wydzielania katecholamin), nie analizują też efektów

leczenia w zależności od ekspresji poszczególnych typów SSTR. Jedynie praca *Zatelli* i wsp. [23] przedstawia ekspresję SSTR w komórkach jednego *pheochromocytoma* oraz odpowiedź komórek tego guza na różne analogi somatostatyny. Potwierdzili oni ekspresję SSTR 1, 2, 3 i 4 oraz zmniejszenie wydzielania chromograniny A, adrenaliny i noradrenaliny oraz obniżoną żywotność komórek w hodowli tkankowej pod wpływem somatostatyny, lanreotydu i selektywnego agonisty SSTR 2 (BIM 23 120). Selektyny agonista SSTR 5 (BIM 23 206) nie wykazywał takiego działania.

Trwają prace nad nowymi analogami somatostatyny o szerszym spektrum niż lanreotyd czy oktreotyd, które wykazują powinowactwo głównie do SSTR typu 2A i 5, a znacznie słabsze do typu 3 i 1. Jednym z takich peptydów jest pasireotyd (SOM 230), którego wpływ na pierwotne linie komórkowe *pheochromocytoma* oceniali i porównywali z działaniem oktreotydu *Pasqualli* i wsp. [15], po uprzednim potwierdzeniu ekspresji mRNA dla SSTR w komórkach. Oba analogi powodowały zmniejszenie żywotności komórek, indukcję apoptozy i redukcję sekrecji katecholamin, ale SOM 230 był wyraźnie skuteczniejszy. Silniejszy efekt działania SOM 230 może wiązać się z jego większym powinowactwem do SSTR 3, poprzez który somatostatyna indukuje apoptozę [19].

Dodatnie wyniki scyntygrafii receptorowej z analogami somatostatyny oraz potwierdzenie ekspresji receptorów typu 2A w złośliwych guzach chromochłonnych stwarzają podstawę do zastosowania tzw. gorących analogów somatostatyny w terapii tych nowotworów. Grupę 28 pacjentów leczonych w ten sposób (25 za pomocą [90Y]DOTA-TOC, oraz 3 za pomocą [90Y]DOTATOC i [177Lu]DOTATOC) przedstawił *Forrer* i wsp. [3]. Przy braku istotnej toksyczności hematologicznej i nefrologicznej, uzyskali oni częściową remisję w 2, słabszą odpowiedź w 5, stabilizację choroby w 13, mieszaną odpowiedź w 2 i dalszą progresję choroby w 6 przypadkach. Czas do progresji wynosił pomiędzy 3 a 42 miesiące. Wyniki badania, wskazują, że ten rodzaj terapii może być skuteczną alternatywą w przypadku niepowodzenia innych form leczenia. To badanie kliniczne nie potwierdza też przypuszczeń *Kolby'ego* i wsp. [7], którzy postulowali iż, pomimo potwierdzonej obecności SSTR 2 w złośliwych *pheochromocytoma*, jego ekspresja jest zbyt słaba, aby leczenie za pomocą znakowanych radionuklidami analogów somatostatyny było możliwe.

#### **Wnioski**

Obecność funkcjonalnych SSTR w guzach chromochłonnych, zarówno łagodnych, jak i złośliwych, stwarza podstawy do zastosowania somatostatyny i jej analogów w diagnostyce i terapii tego typu guzów. Informacje płynące z badań *in vitro*, dotyczące modelu ekspresji SSTR oraz ich lokalizacji mogą ukierunkować poszukiwania odpowiednich do tego celu peptydów. Dostępne obecnie analogi somatostatyny nie kontrolują wzrostu i czynności hormonalnej guza w badaniach klinicznych, natomiast po wyznakowaniu ich za pomocą izotopów emitujących promieniowanie  $\beta$  stanowią cieka-

wą alternatywę dla dotychczas stosowanych metod leczenia złośliwych *pheochromocytoma*. W świetle uzyskiwanych wyników najbardziej obiecujące wydają się być analogi wykazujące powinowactwo do SSTR 3.

#### Piśmiennictwo

1. **De Herder W.W., Hofland L.:** Somatostatin Receptors in Pheochromocytoma. *Front. Horm. Res.* 2004, 31, 145.
2. **Epelbaum J., Bertherat J., Prevost G. et al.:** Molecular and Pharmacological Characterization of Somatostatin Receptor Subtypes in Adrenal, Extraadrenal, and Malignant Pheochromocytomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995, 80, 1837.
3. **Forrer F., Riedweg I., Maecke H.R., Mueller-Brand J.:** Radiolabeled DOTATOC in patients with advanced paraganglioma and pheochromocytoma. *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2008, 52, Epub ahead of print.
4. **Hofland L.J., Liu Q., Van Koetsveld P.M. et al.:** Immunohistochemical Detection of Somatostatin Receptor Subtypes sstr1 and sstr 2A in Human Somatostatin Receptor Positive Tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84, 775.
5. **Kimura N., Pilichowska M., Date F. et al.:** Immunohistochemical Expression of Somatostatin Type 2A Receptor in Neuroendocrine Tumours. *Clin. Cancer Res.* 1999, 5, 3483.
6. **Kopf D., Bockisch A., Steinert H et al.:** Octreotide scintigraphy and catecholamine response to an octreotide challenge in malignant pheochromocytoma. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 1997, 46, 39.
7. **Kolby L., Bernhardt P., Johanson V. et al.:** Can quantification of VMAT and SSTR expression be helpful for planning radionuclide therapy of malignant pheochromocytomas? *Ann. N Y Acad. Sci.* 2006, 1073, 491.
8. **Kubota A., Yamada Y., Kagimoto S. et al.:** Identification of Somatostatin Receptor Subtypes and an Implications for the Efficacy of Somatostatin Analogue SMS 201-995 in Treatment of Human Endocrine Tumors. *J. Clin. Invest.* 1994, 93, 1321.
9. **Lamarre-Cliche M., Gimenez-Roqueplo A.P., Billaud E. et al.:** Effects of slow release octreotide on urinary metanephrine excretion and plasma chromogranin A and catecholamine levels in patients with malignant or recurrent pheochromocytoma. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2002, 57, 629.
10. **Lamberts S.W.J., Bakker W.H., Reubi J.C., Krenning E.P.:** The value of somatostatin receptor imaging in the localization of endocrine and brain tumors. *NEJM* 1990, 323, 1246.
11. **Lenders J.W.M., Eisenhofer G., Mannelli M., Pacak K.:** Phaeochromocytoma. *Lancet* 2005, 366, 665.
12. **Limouris G.S., Giannakopoulos V., Stavraka A. et al.:** Comparison of In-111 pentreotide, Tc-99m(V)DMSA and 123-I MIBG scintigraphy in neural crest tumours. *Anticancer Res.* 1997, 17, 1589.
13. **Modlin I.M., Oberg K., Chung D.C. et al.:** Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *The Lancet Oncology* 2008, 9, 61.
14. **Mundschenk J., Unger N., Schulz S. et al.:** Somatostatin Receptor subtypes in human pheochromocytoma: Subcellular Expression Pattern and Functional Relevance for Octreotide Scintigraphy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, 88, 5150.
15. **Pasquali D., Rossi V., Conzo G. et al.:** Effects of somatostatin analogue SOM230 on cell proliferation, apoptosis, and catecholamine levels in cultured pheochromocytoma cells. *J. Mol. Endocrinol.* 2008, 40, 263.
16. **Pawlikowski M.:** Występowanie receptorów somatostatynowych w ludzkich tkankach w świetle badań ex vivo-in vitro. *Endokrynol. Pol.* 2006, 57, 238.
17. **Ploin P.F., Bertherat J., Chatellier G. et al.:** Short-term effects of octreotide on blood pressure and plasma catecholamines and neuropeptide Y levels in patients with pheochromocytoma: a placebo controlled trial. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 1995, 42, 289.
18. **Reubi J.C., Waser B., Khosla S. et al.:** In Vitro and In Vivo Detection of Somatostatin Receptors In Pheochromocytomas and Paragangliomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992, 74, 1082.
19. **Sharma K., Patel Y.C., Srikant C.B.:** Subtype-selective induction of wild-type p53 and apoptosis, but not cell cycle arrest, by human somatostatin receptor 3. *Mol. Endocrinol.* 1996, 10, 1688.
20. **Tenenbaum F., Lumbroso J., Schlumberger M. et al.:** Comparison of radiolabeled octreotide and meta-iodobenzylguanidine (MIBG) scintigraphy in malignant pheochromocytomas. *J. Nucl. Med.* 1995, 36, 1.
21. **Ueberberg B., Tourne H., Redman A. et al.:** Differential expression of human somatostatin receptor subtypes sstr 1 to sstr 5 in various adrenal tumours and normal adrenal gland. *Horm. Metab. Res.* 2005, 37, 722.
22. **Unger N., Serdiuk I., Sheu S.Y. et al.:** Immunohistochemical determination of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, 4 and 5 in various adrenal tumors. *Endocr. Res.* 2004, 39, 931.
23. **Zatelli M.C., Piccin D., Bondanelli M. et al.:** An in vivo OctreoScan-negative adrenal pheochromocytoma expresses somatostatin receptors and responds to somatostatin analogues in vitro. *Horm. Metab. Res.* 2003, 35, 349.