

Ligandy receptorów somatostatynowych w diagnostyce i terapii radioizotopowej w onkologii

Witold Cholewiński, Anna Tarkowska

Wiele nowotworów określanych tradycyjnie jako neuroendokrynnne lub nie-neuroendokrynnne wykazuje podwyższoną ekspresję receptorów somatostatynowych. Znaczenie kliniczne obecności tego typu receptorów w komórkach nowotworów znacznie wzrosło, wraz z wprowadzeniem do diagnostyki i terapii tych schorzeń znakowanych analogów somatostatyny oraz nie-radioaktywnych analogów w leczeniu objawów towarzyszących niektórym nowotworom. Współczesna klasyfikacja wyróżnia 5 typów receptorów somatostatynowych sst1-sst5. Każdy z receptorów jest produktem jednego genu, a ekspresja danego typu receptora uzależniona jest od pochodzenia i rodzaju nowotworu. Metody identyfikacji receptorów somatostatynowych in vitro opierają się obecnie głównie na technikach inżynierii genetycznej. Większość nowotworów wykazuje wysoką ekspresję receptora typu sst2, a jedynie nieliczne- pojedynczego receptora innego typu. Synteza analogów somatostatyny, pozbawionych niektórych właściwości somatostatyny naturalnej, pozwoliła na wykorzystanie podwyższonej ekspresji receptorów somatostatynowych w komórkach niektórych nowotworów do ich obrazowania in vivo. W ostatnich latach wprowadzono do diagnostyki wiele stabilnych analogów somatostatyny, takich jak oktreotyd, lanreotyd, vapreotyd oraz depereotyd. Badania farmakologiczne wykazały wysokie powinowactwo naturalnej somatostatyny do wszystkich typów receptorów, natomiast analogi somatostatyny wiążą się z poszczególnymi typami receptorów w różnym stopniu. Obecnie za złoty standard w badaniach diagnostycznych uważa się oktreotyd znakowany indem, chociaż wiele ośrodków prowadzi zaawansowane badania kliniczne z użyciem analogów somatostatyny, znakowanych technetem. Poza diagnostyką, zjawisko podwyższonej ekspresji receptorów somatostatynowych zostało wykorzystane również w terapii. Pierwsze wyniki terapii przy użyciu wysokich aktywności znakowanego indem analogu somatostatyny lub znakowanego emitującym promieniowanie beta – itrem analogu somatostatyny są obiecujące, nie tylko w przypadkach guzów neuroendokrynnnych.

Somatostatin receptors ligands in radionuclide diagnosis and therapy in oncology

Various tumors, referred to as either neuroendocrine or non-neuroendocrine, express a high number of somatostatin receptors. The presence of these receptors has been shown to be of clinical importance since radio-labeled somatostatin analogues have been used for tumor diagnosis and radiotherapy while non-radioactive analogues are applied for the treatment of tumour-associated symptoms. Recently, five different types of human somatostatin receptors have been identified and named sst1-sst5. Each sst is the product of single gene and the expression of receptor subtypes has been reported to be dependent on the origin and type of tumor. A great majority of studies on sst receptors are based on molecular in vitro identification methods such as the very sensitive RT-PCR technique. A majority of tumors predominantly express the sst2 receptor subtype while only few express other subtypes alone. The introduction of labeled somatostatin analogues, more resistant to degradation than somatostatin itself, enabled in vivo visualization of tumors with high expression of somatostatin receptors. Recently many new stable somatostatin analogues, such as octreotide, lanreotide, vapreotide and depreotide have been introduced as diagnostic tracers. Pharmacological studies have shown a high affinity of somatostatin to all receptor subtypes, whereas somatostatin analogues bind to different subtypes with different affinity. The first studies used radioiodinated octreotide as the radioligand. Presently, indium-labeled octreotide is considered the golden standard. However new technetium-labeled analogues have been already used in clinical investigations.

High expression of somatostatin receptors presented by certain tumors can be used for a receptor-mediated radiotherapy. Such therapy with high doses of indium-labeled analogues or with yttrium-labeled somatostatin analogues has been reported to be a promising method of treatment not only in case of neuroendocrine tumors.

Słowa kluczowe: receptory somatostatynowe, scyntygrafia receptorów, oktreotyd

Key words: somatostatin receptors, receptor scintigraphy, octreotide

Somatostatyna została odkryta przypadkowo w 1972 roku, podczas poszukiwań czynników wpływających na sekrecję hormonu wzrostu [1]. Jest to naturalnie występujący w organizmie człowieka 14-aminokwasowy peptyd.

W centralnym układzie nerwowym spełnia rolę neuroprzekaznika i neuromodulatora. Aktywność hormonalna somatostatyny przejawia się hamowaniem wydzielania hormonu wzrostu, insuliny, glukagonu oraz gastryny [1]. Działanie to wyrażone jest zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i stanach patologicznych. Poza funkcją regulującą wydzielanie hormonów, znane jest również jej antyproliferacyjne działanie na komórki nowotworów neuroendokrynych, raka sutka, komórki licznych modeli guzów zwierzęcych oraz funkcja regulacyjna odpowiedzi immunologicznej [2]. Działanie antyproliferacyjne jest przypisywane hamowaniu wzrostu poprzez indukcję receptorów somatostatynowych, hamowaniu uwalniania hormonów i czynników wzrostu, hamowaniu angiogenezy oraz modulacji aktywności immunologicznej [3].

Receptory somatostatynowe

Oddziaływanie somatostatyny na komórkę odbywa się poprzez receptory somatostatynowe. Obecność takich receptorów wykazano w błonie komórkowej, zarówno komórek prawidłowych, jak i komórek patologicznych.

Pierwotnie wyróżniano dwie klasy receptorów somatostatynowych: klasa pierwsza o dużym powinowactwie do stabilnych biologicznie ligandów oraz klasa druga – nie wykazujące takich właściwości [4]. Ostatnie badania wykazały obecność w organizmie człowieka 5 typów receptorów somatostatynowych, nazwanych sst1-sst5, odpowiednio do chronologii odkrycia [5, 6].

Każdy typ receptora jest produktem odrębnego genu, zlokalizowanego na różnych chromosomach, co sugeruje odmienne funkcje tych receptorów w różnych tkankach [5, 6]. Receptory sst2, 3 i 5 odpowiadają dawnej klasie 1, pozostałe klasie 2.

Strukturalnie receptor somatostatynowy należy do grupy receptorów związanych z białkiem G. Część zewnątrzkomórkowa receptora odpowiedzialna jest za wiązanie z ligandem, część wewnątrzkomórkowa – za przekazywanie sygnału do wnętrza komórki [7]. Wszystkie typy receptorów wiążą naturalną somatostatynę z wysokim i podobnym powinowactwem [8]. Połączenie somatostatyny z receptorem hamuje aktywność cyklicznej adenylowej, aktywuje kanały potasowe oraz hamuje kanały wapniowe [9].

Opublikowano wiele prac opisujących stopień ekspresji różnych typów receptorów somatostatynowych w narządach i tkankach [2, 10]. Zasady oznaczeń tego typu na materiale tkankowym opierają się na różnych podstawach.

Do niedawna stosowano takie metody, jak: autoradiograficzna, immunohistochemiczna i immunoprecypitacyjna. Ostatnio stosuje się przede wszystkim metody biologii molekularnej, w tym reakcję odwrotnej transkrypcji łańcuchowej reakcji polimerazy, która oznacza informa-

cyjny RNA (mRNA) receptorów somatostatynowych. Każda z tych metod ma pewne ograniczenia.

Metoda autoradiograficzna wymaga skomplikowanej metodyki oraz zastosowania uniwersalnych radioligandów, przy metodzie immunohistochemicznej epitop przeciwciała może, ale nie musi odpowiadać miejscu wiążącemu receptora. Najczęściej stosowane metody molekularne również nie są pozbawione ograniczeń. Z materiału biologicznego uzyskanego drogą biopsji, a zawierającego z reguły około miliona komórek (około 1mg tkanki), czuła metoda RT-PCR pozwala na zidentyfikowanie około 100 kopii mRNA [4]. Materiał taki może jednak zawierać 100 kopii w jednej komórce lub kilka kopii w większej liczbie komórek. Natomiast duży materiał tkankowy, zazwyczaj poza komórkami badanej tkanki, zawiera również inne komórki, o odmiennym pochodzeniu i właściwościach.

Stąd praktycznie badania *in vitro*, na stosunkowo niewielkiej ilości materiału tkankowego, mogą dać wyniki fałszywie ujemne ze względu na możliwą heterogenną dystrybucję typów receptorów somatostatynowych, natomiast badania na obfitym materiale mogą dać wyniki fałszywie dodatnie, ze względu na obecność innych komórek zawierających tego typu receptory (np. komórki nerwowe).

Ostatnie badania Patela i wsp. [11] podważyły dotychczas utarty pogląd, że poszczególne typy tkanek, czy to fizjologicznych czy patologicznych, wykazują ekspresję jednego typu receptora somatostatynowego. Receptory występują raczej jako konfiguracje różnych typów niż indywidualnie. Co więcej, poszczególne typy receptorów mogą być odpowiedzialne za różne efekty biologiczne. Aktywacja receptorów: sst1, sst2, sst4, sst5 – powoduje hamowanie wzrostu komórek, prawdopodobnie przez mobilizację wewnątrzkomórkowych zasobów wapniowych; aktywacja receptora sst3 – działanie cytotoksyczne [9]. Różny jest również stopień internalizacji – największy dla sst3, najmniejszy dla sst1.

Generalnie można stwierdzić, iż zarówno komórki prawidłowe, jak i komórki nowotworowe wykazują ekspresję różnych receptorów, przy czym jeden lub dwa typy dominują w tej konfiguracji.

Wśród badanych tkanek prawidłowych najczęściej i w największej gęstości występującym receptorem jest receptor sst2 – taki obraz stwierdzono w naczyniach, zwłokach nerwowych, wyspach trzustki, rdzeniu nadnerczy, śledzionie, podścielisku gruczołu krokowego oraz błonie śluzowej jelita grubego. Błona śluzowa żołądka wykazuje natomiast przewagę receptorów sst1. W centrach wzrostu tkanki limfoidalnej stwierdzono znaczną ekspresję receptorów sst2, natomiast w otaczającej tkance limforetikularnej stosunkowo niewielką sst2, sst3 i sst5 [10].

Rozkład i wielkość ekspresji receptorów somatostatynowych w nowotworach może być bardzo różny. Podobnie jak w przypadku tkanek prawidłowych, w przypadkach nowotworów najczęściej występuje dominacja receptorów typu sst2. W niektórych przypadkach receptorom sst2 towarzyszą receptory innego typu, zazwyczaj sst5. Znane są jednak wyjątki od tej reguły. Guzy grasicy

wykazują ekspresję receptorów sst3, a nie wykazują ekspresji sst2 i sst5.

Niewiele prac opisuje nowotwory z dominującą ekspresją receptora sst1. Stwierdzono dotychczas, że jedynie dwie grupy nowotworów wykazują znaczną przewagę receptorów sst1 – mięsaki i raki prostaty [12, 13]. Szereg innych nowotworów może posiadać sst1, lecz w znacznie mniejszej gęstości niż sst2 i/lub sst5 (guz chromochłonny, rak żołądka, wyściółczak).

Istnieją duże rozbieżności w ocenie obecności receptorów sst3 na komórkach nowotworów. Doniesienia Virgolini i wsp. [14] o obecności tego typu receptorów na większości komórek gruczolakoraków nie znalazły pełnego potwierdzenia w innych pracach, w których ich obecność obserwowano jedynie w przypadkach nieaktywnych gruczolaków przysadki oraz guzów grasicy. Reubi i wsp. [15] sugerują, iż receptory te mogą być obecne w przestrzeni wewnątrzkomórkowej, co ograniczałoby możliwości ich detekcji przy użyciu niektórych technik *ex vivo*.

Wiele prac potwierdza natomiast obserwacje, iż receptory typu sst4 nie są spotykane w komórkach ludzkich nowotworów [15, 16].

Receptory typu sst5 są często stwierdzane, m.in. w gruczolakach przysadki, zazwyczaj łącznie z receptorami sst2 [16]. Również komórki takich nowotworów, jak mięsaki, raki prostaty, raki żołądka mogą wykazywać ekspresję receptorów sst5 [15].

Somatostatyna i jej analogi

Wiązanie somatostatyny z jej receptorami komórkowymi stało się podstawą do wykorzystania tego zjawiska w diagnostyce i terapii. Ponieważ naturalnie występująca somatostatyna ma biologiczny półokres bardzo krótki, bo wynoszący około 2-3 minuty i stosunkowo szybko jest rozkładana przez endogenne peptydazy, możliwości zastosowania naturalnej somatostatyny w praktyce klinicznej są bardzo ograniczone.

Stąd próby stworzenia analogów somatostatyny, które zachowałyby zdolność wiązania z receptorami (istotna jest cykliczna forma peptydu oraz aminokwasy: fenyloalanina, tryptofan, lizyna oraz treonina), a jednocześnie posiadałyby właściwości farmakokinetyczne i chemiczne, pozwalające na znakowanie radioizotopami oraz wykorzystanie w diagnostyce i leczeniu. Zastąpienie niektórych aminokwasów (fenyloalaniny, tryptofanu) ich formami D, jak również dodatkowe przemiany fizykochemiczne, pozwoliły na początku lat 80. na uzyskanie pierwszego preparatu o zmniejszonej wrażliwości na enzymatyczną degradację, a co za tym idzie wydłużonym półokresie życia (około 120 min). Był to ośmio-aminokwasowy peptyd – oktreotyd [3].

Jako „zimny” analog somatostatyny w preparacie Sandostatin (SMS 201-995) był on i jest stosowany w hormonalnym leczeniu pacjentów, m.in. z zespołem rakowiaka. Poza zespołem rakowiaka, działanie hamujące sekrecję hormonalną jest wykorzystywane w leczeniu gruczolaków przysadki, w przypadkach, gdzie leczenie chirurgiczne nie jest możliwe oraz przy stosowaniu radioterapii

tych guzów, której efekt hamujący sekrecję nie jest natychmiastowy. Także w przypadkach innych guzów neuroendokrynnych przewodu pokarmowego preparaty te znalazły zastosowanie głównie jako leczenie poprzedzające zabieg operacyjny, choć również w leczeniu przewlekłym [9].

Pomimo dużej skuteczności w leczeniu objawowym, kliniczne efekty antyproliferacyjnego działania nieznakowanych analogów somatostatyny są znacznie mniejsze. W przypadkach guzów neuroendokrynnych częściową remisję procesu, ze zmniejszeniem masy zmiany pierwotnej lub zmian odległych, uzyskano u zaledwie 4% pacjentów. Wyniki wydają się być nieco lepsze w grupie rakowiaka – 17-30% częściowych remisji [9, 17].

Pierwsze próby obrazowania receptorów somatostatynowych przy użyciu analogów somatostatyny znakowanych radioizotopami podjęto w końcu lat 80. W 1987 roku oznakowano oktreotyd izotopami jodu 123I (I-Tyr-OCT) [18]. Koszt izotopu, a przede wszystkim bardzo duży udział wydalania znacznika drogą żółci i przewodu pokarmowego, który praktycznie uniemożliwiał ocenę jamy brzusznej, spowodowały, iż znacznik ten nie przyjął się w szerokiej diagnostyce *in vivo*. Również niekorzystną cechą tego radiofarmaceutyku był stosunkowo wolny klirans z tkanek, co utrudniało detekcję zmian, nawet zlokalizowanych poza jamą brzuszną.

W 1991 roku wyprodukowano Octreoscan (In-DTPA-OCT), gdzie jako radioizotop zastosowano ind 111In, przez połączenie z DTPA. Umożliwiło to szybszą jego eliminację z organizmu drogą nerkową, zmniejszając eliminację drogą przewodu pokarmowego do ułamków procenta [19].

Obecnie preparat ten jest najczęściej używanym analogiem somatostatyny do obrazowania receptorów somatostatynowych i jest uznawany za złoty standard dla innych znaczników. Mimo wyraźnie lepszych parametrów biokinetycznych niż preparat znakowany jodem, Octreoscan nie może być jednak w świetle wiedzy na temat receptorów somatostatynowych uznany za idealny.

Pewnym ograniczeniem jest stosunkowo wysoka swoistość In-DTPA-OCT do receptorów typu 2 i 5, przy niewielkiej do sst3 i znikomej do sst1 i sst4, co zawęża możliwości diagnostyczne niektórych nowotworów, ale może mieć również korzystny wpływ. Znany jest fakt, iż w badaniach *in vivo* przy użyciu Octreoscanu nie uwidacznia się żołądek, chociaż wiadomym jest, iż jest to narząd o dużej ilości receptorów somatostatynowych. Są to jednak receptory sst1 (IC₅₀ dla In-DTPA-OCT jest wysokie i wynosi >10 000 nM) [20]. Jednakże również obecność receptorów sst2 i sst5 nie przesądza o pozytywnym wyniku badania z użyciem oktreotydu. Guzy grasicy, wykazujące ekspresję sst3, ale nie sst2 i sst5, akumulują 125I-Tyr-OCT *in vitro* oraz In-DTPA-OCT *in vivo* [21, 22]. Może to wskazywać, iż nie tylko powinowactwo do receptora warunkuje pozytywny wynik obrazowania, lecz również wydajność procesu internalizacji dla różnych połączeń analog somatostatyny-izotop.

Drugim ograniczeniem w szerokim stosowaniu Octreoscanu, wynikającym z przyczyn ekonomicznych, jest jego znakowanie drogim izotopem cyklotronowym

¹¹¹In. Stąd próby stworzenia innych analogów, mogących znaleźć zastosowanie w obrazowaniu i terapii. Zainteresowania współczesnych badań ukierunkowane są z jednej strony na syntezę innych pochodnych somatostatyny o odmiennym powinowactwie do receptorów somatostatynowych, a z drugiej strony do uzyskania możliwości znakowania różnymi radioizotopami w zależności od potrzeb.

Rycina 1 przedstawia aktualnie wykorzystywane analogi somatostatyny do obrazowania *in vivo* oraz terapii radioizotopowej.

- D-Phe - Cys - Phe - D-Trp - Lys - Thr - Cys - Thr -	OKTREOTYD
- D-Phe - Cys - Tyr - D-Trp - Lys - Val - Cys - Trp -	VAPREOTYD
- Cys - Tyr - D-Trp - Lys - Val - Cys - Thr -	LANREOTYD
- Cys - Phe - Tyr - Trp - Lys - Val - Ala - Lys - Cys - Lys -	DEPREOTYD

Ryc. 1. Sekwencje aminokwasów w najczęściej stosowanych peptydach-analogach somatostatyny

Każdy preparat składa się z 3 części: peptydu, związku chelatującego i izotopu. Oczywistym wydaje się fakt, iż rodzaj i sekwencja peptydu ma zasadnicze znaczenie w powinowactwie do określonego typu receptora. Ostatnie prace wykazały jednak, iż warunkuje to nie tylko peptyd, ale również związek chelatujący, a nawet rodzaj zastosowanego radioizotopu.

Wśród peptydów, poza powszechnie znanym oktreotydem, dostępne są również: lanreotyd (MAURITIUS), depreotyd (NEOSPECT) oraz vaporeotyd. Postęp w badaniach nad nowymi analogami somatostatyny wiąże się nie tylko z syntezą nowych peptydów, lecz również w niemal równym stopniu z wprowadzaniem nowych związków chelatujących. Coraz powszechniej jest obecnie stosowany DOTA (1,4,7,10-tetraazacylo-dodecane-N',N''N''',N''''-tetraacetic acid), umożliwiający stabilne znakowanie m.in. ¹¹¹In, ⁹⁰Y i ¹⁷⁷Lu [4].

Tabela I przedstawia powinowactwo najczęściej stosowanych analogów somatostatyny do poszczególnych receptorów somatostatynowych.

Znakowany indem oktreotyd, po połączeniu z receptorem ulega internalizacji oraz wewnątrzkomórkowemu metabolizmowi. Jego metabolit, jakim jest połączenie In-DTPA-D-Phe, jest transportowany wzdłuż błon wewnątrzkomórkowych do jądra komórkowego i okolicy jądra komórkowego [23]. Zupełna inna sytuacja jest

w przypadku pierwszych analogów somatostatyny znakowanych jodem. Są one degradowane do połączenia jodu z tyrozyną i usuwane z komórki [4].

Biodystrybucja i farmakokinetyka poszczególnych analogów somatostatyny *in vivo* może się znacząco różnić. W przypadku In-DTPA-OCT po dożylniej iniekcji znacznik jest szybko usuwany z krwi, osiągając około 10 procent wstrzykniętej dawki, po około 4 godzinach po iniekcji. Około 6-10% aktywności gromadzi się w wątrobie, 4-6% w śledzionie i nerkach. Gromadzenie znacznika w zmianach patologicznych oczywiście uzależnione jest od ich wielkości i ekspresji receptorów, jednak średnio waha się od dziesiątych części % do około 1% [19, 20, 24]. Lanreotyd, będący związkiem bardziej lipofilnym, w większym stopniu gromadzi się w obrębie szpiku, jego klirans z krwi jest wolniejszy w porównaniu z oktreotydem, a odmienna biodystrybucja wynika z różnic w powinowactwie do poszczególnych receptorów.

Bardzo istotnym krokiem w kierunku rozwoju metody obrazowania receptorów somatostatynowych było opracowanie technologii znakowania analogów somatostatyny izotopem technetu ^{99m}Tc. Zastąpienie izotopu indu ¹¹¹In, ogólnie dostępnym izotopem technetu, poza znacznie korzystniejszym wymiarem ekonomicznym, pozwala na uzyskiwanie obrazów wysokiej jakości, przy kilkakrotnie mniejszym narażeniu pacjenta na działanie promieniowania. Aktualnie prowadzone są zaawansowane badania w wielu ośrodkach, których efektem jest synteza różnych analogów somatostatyny, znakowanych technetem. Poza dostępnym komercyjnie depreotydem (NeoSPECT) prowadzone są próby kliniczne nad możliwością znakowania oktreotydu technetem, m.in. ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-oktreotyd [25] i ^{99m}Tc-tricine-HYNIC-oktreotyd [26].

Stosunkowo najwięcej danych na temat przydatności scyntygrafii receptorów somatostatynowych w onkologii opublikował Krenning i wsp. [3] na materiale ponad 1000 pacjentów w ramach programu wieloośrodkowego. Do przedstawionych danych należy jednak podejść krytycznie, gdyż badania *in vivo* i *in vitro* nie były we wszystkich przypadkach przeprowadzone u tych samych badanych. Materiał do badań *in vitro* pobierany był różnymi metodami, od badania histopatologicznego do biopsji cienkoigłowej, różna była też liczebność poszczególnych grup badanych schorzeń (Tabele II i III).

Obserwowane różnice w badaniach *in vivo* i *in vitro* nawet u tych samych pacjentów wynikają zarówno z samej natury receptorów, jak i z niedoskonałości metodyki. Na wynik badania *in vitro* wpływ mają: obecność endogen-

Tab. I. Analogi somatostatyny i ich powinowactwo do poszczególnych typów receptorów somatostatynowych (Reubi i wsp.)

analog	sst1	sst2	sst3	sst4	sst5
DTPA-octreotide	>10,000	12±2	376±84	>1,000	299±50
DOTA-octreotide	>10,000	14±3	880±324	>1,000	393±84
DOTA-lanreotide	>10,000	26±3	771±229	>10,000	73±12
DOTA-vapreotide	>10,000	29±7	419±104	743±190	80±19

Wartości wyrażone w IC₅₀±SEM in nM

Tab. II. Częstość dodatnich wyników detekcji receptorów somatostatynowych w guzach neuroendokrynych

Rodzaj nowotworu	<i>In vivo</i>		<i>In vitro</i>	
	% (+)	n	% (+)	n
Wydzielające gruczolaki przysadki				
Krenning i wsp. (1993)	75%	12	98%	46
Brosion-Chazot i wsp. (1997)	68%	19		
Oppizzi i wsp. (1998)	88%	17		
Nie-wydzielające gruczolaki przysadki				
Krenning i wsp. (1993)	75%	16	55%	22
Brosion-Chazot i wsp. (1997)	62%	29		
Oppizzi i wsp. (1998)	100%	17		
Wyspiak wydzielający gastrynę				
Krenning i wsp. (1993)	100%	12	100%	6
Gibril i wsp. (1999)	71%	146		
Wyspiak wydzielający insulinę				
Krenning i wsp. (1993)	61%	23	72%	11
Schillaci i wsp. (2000)	87%	14		
Wyspiak wydzielający glukagon				
Krenning i wsp. (1993)	100%	3	100%	2
Niesklasyfikowane nowotwory APUD				
Krenning i wsp. (1993)	89%	18	100%	4
Przyzwojak				
Krenning i wsp. (1993)	100%	33	92%	12
Telisch i wsp. (2000)	94%	21		
Rak rdzeniasty tarczycy				
Krenning i wsp. (1993)	71%	28	38%	26
Arslan i wsp. (2001)	78%	14		
Mato i wsp. (1998)			86%	14
Zwojak zarodkowy				
Krenning i wsp. (1993)	89%	9	65%	23
Kropp i wsp. (1997)	85%	22		
Schilling i wsp. (2001)	61%	46		
Guz chromochłonny				
Krenning i wsp. (1993)	86%	14	73%	52
Rakowiak				
Krenning i wsp. (1993)	96%	72	88%	62
Gibril i wsp. (2000)	75%	162		
Rak drobnokomórkowy płuc				
Krenning i wsp. (1993)	100%	34	57%	7
Hofer i wsp. (1998)	100%	18		

% (+) – procent wyników pozytywnych
n – liczba pacjentów

nej somatostatyny, blokującej miejsca receptorowe, zbyt długi odstęp pomiędzy pobraniem materiału i zamrożeniem lub niekontrolowane rozmrożenie, wpływ leczenia np. sterydy z reguły zmniejszają gęstość receptorów somatostatynowych, stąd możliwość fałszywie ujemnych wyników w badaniach materiałów pobranych podczas operacji neurochirurgicznych, często poprzedzonych leczeniem sterydowym.

Opisane różnice wynikają również z istoty zastosowanej metody – badania *in vivo* dają możliwość oceny całego ciała, a więc zarówno zmiany pierwotnej, jak i ewentualnych zmian odległych. Badania *in vitro* często opierają się na pojedynczej biopsji ze zmiany odległej.

Tab. III. Częstość dodatnich wyników detekcji receptorów somatostatynowych w innych nowotworach

Rodzaj nowotworu	<i>In vivo</i>		<i>In vitro</i>	
	% (+)	n	% (+)	n
Niedrobnokomórkowy rak płuc				
Krenning i wsp. (1993)	100%	36	0%	17
Sagman i wsp. (1990)			0%	5
Oponiak				
Krenning i wsp. (1993)	100%	14	98%	55
Meewes i wsp. (2001)	85%	46	100%	46
Rak sutka				
Krenning i wsp. (1993)	74%	50	46%	72
Bajc i wsp. (1996)	75%	24		
Guzy zewnątrzwydzielnicze trzustki				
Krenning i wsp. (1993)	0%	24	0%	12
Gwiaździatek				
Krenning i wsp. (1993)	67%	6	82%	17
Chłoniaki nieziarnicze				
Krenning i wsp. (1993)	80%	74	87%	30
Lugtenburg i wsp. (2001)	84%	50		
Ziarnica złośliwa				
Krenning i wsp. (1993)	96%	24	100%	2
Lugtenburg i wsp. (2001)	100%	126		
Sarkoidoza				
Krenning i wsp. (1993)	100%	23	100%	3

% (+) – procent wyników pozytywnych
n – liczba pacjentów

Interesujące są korelacje pomiędzy badaniami *in vivo* i *in vitro* w grupie tkanek fizjologicznych. Pomimo, iż takie narządy i tkanki jak grasica, centra germinalne w węzłach chłonnych czy błona śluzowa jelit zawierają receptory somatostatynowe, nie uwidaczniają się podczas badania scyntygraficznego.

Przeciwnie, nie zostało wyjaśnione, dlaczego niemal zawsze uwidacznia się na scyntygramach prawidłowa tarczycza, skoro nie stwierdzono obecności receptorów somatostatynowych w badaniach *in vitro*. Istnieją dwie hipotezy – jest to mechanizm gromadzenia, niezależny od receptorów, bądź rolę odgrywają komórki C tarczycy, na których ekspresja receptorów somatostatynowych jest zbyt mała, by być zidentyfikowaną, jako istotna w badaniach *in vitro*.

Zastosowanie scyntygrafii receptorów somatostatynowych w guzach neuroendokrynych było i jest podstawowym wskazaniem dla tej metody diagnostycznej. Szczególnie dotyczy to guzów neuroendokrynych przewodu pokarmowego, gdzie metoda ta okazała się być skuteczna, zarówno w lokalizacji zmiany pierwotnej, jak i w ocenie stopnia zaawansowania schorzenia.

Stosunkowo rozbieżne oceny czułości metody obrazowania *in vivo* zmian w *insulinoma* wiązano początkowo z dużą różnorodnością konfiguracji typów receptorów somatostatynowych w tym schorzeniu, a co za tym idzie, ekspresją receptorów wykazujących duże powinowactwo do naturalnej somatostatyny, natomiast małą do okretoty-

du. Współczesne prace sugerują jednak, iż poza opisanym mechanizmem biologicznym, istotny wpływ na wartości tego parametru może mieć również technika pomiaru – czułość tej metody przy zastosowaniu techniki SPECT wynosi około 90% [27].

Pomimo ekspresji receptorów somatostatynowych w przypadkach raka rdzeniastego tarczycy zastanawiająca jest stosunkowo duża rozbieżność wyników pomiędzy badaniami *in vivo* i *in vitro*, jak również pomiędzy różnymi autorami. Różnice te można w części uzasadnić lokalizacją guza pierwotnego lub zmian przerzutowych, które mogą być maskowane przez fizjologiczne gromadzenie oktreotydu w tarczycy lub wątrobie w przypadku badania bez techniki subtrakcji, zjawiskiem niejednorodnego rozmieszczenia receptorów i różnej szybkości internalizacji oraz obserwowaną właśnie w przypadkach raka rdzeniastego tarczycy różnorodnością stopnia zróżnicowania między guzem pierwotnym, a zmianami przerzutowymi i związaną z tym różną ekspresją receptorów somatostatynowych [28].

Zarówno czynne hormonalnie, jak i nieczynne guzy przysadki były obrazowane przy użyciu oktreotydu. Ostatnie prace nie wykazały istotnych różnic w czułości diagnostycznej i ekspresji receptorów somatostatynowych w hormonalnie czynnych i nieczynnych gruczolakach przysadki. Swoistość tej metody w tych guzach jest jednak ograniczona, ze względu na ekspresję receptorów somatostatynowych w innych guzach mózgu, o podobnej lokalizacji. Metoda ta może mieć jednak znaczenie przy ocenie skuteczności leczenia „zimnym” oktreotydem. Wykazano, iż skuteczność odpowiedzi terapeutycznej koreluje z parametrem, będącym połączeniem wielkości wychwytu oznaczanego metodą scyntygraficzną, z objętością guza wyznaczoną techniką MRI [29].

Mimo, iż receptory somatostatynowe z reguły są nieobecne na komórkach niedrobnokomórkowego raka płuc, to stosunkowo wysoka częstość wyników pozytywnych przy metodach *in vivo* obrazowania tych receptorów może być związana z występowaniem w otoczeniu komórek nowotworowych, aktywowanych komórek odpowiedzi immunologicznej, które z reguły mają wysoką ekspresję tych receptorów.

Praktyczna przydatność scyntygrafii receptorów somatostatynowych w rakach piersi nie jest szczegółowo poznana. Foekens i wsp. wykazali na grupie 214 osób, iż obecność receptorów somatostatynowych może być wskaźnikiem prognostycznym. 5-letnie wolne od choroby przeżycie stwierdzono u 82% pacjentów z guzem wykazującym ekspresję receptorów somatostatynowych, przy 46% bez tego typu receptorów [30].

W warunkach normalnych tkanka mózgowa, mimo iż posiada dużą liczbę receptorów somatostatynowych, nie uwidacznia się w badaniu scyntygraficznym, gdyż stosowane znaczniki nie przechodzą przez barierę krew-mózg. Uwidocznienie takich guzów, jak oponiaki i gwiaździki, wynika nie tylko z wysokiej ekspresji receptorów somatostatynowych w tych guzach, ale również z uszkodzenia tej bariery. Schmidt i wsp. wykazali istotny udział uszkodzenia bariery krew-mózg w możliwości detekcji glejaków.

Spośród 10 glejaków klasy I i II z zachowaną barierą nie uwidoczniono żadnego, natomiast uwidoczniono 11 z 12 klasy III i IV [31].

W schorzeniach z grupy chłoniaków czułość scyntygrafii receptorów somatostatynowych określana jest od blisko 100 % dla ziarnicy złośliwej do 40-60% dla chłoniaków nieziarnicznych [32].

W chorobie Gravesa Basedowa akumulacja oktreotydu w gruczole tarczowym jest zwiększona, co jednak nie ma istotnej wartości diagnostycznej. Scyntygrafia za pomocą znakowanego oktreotydu jest natomiast pierwszą metodą czynnościową oceny aktywności oftalmopatii w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa, opartą na immunologicznej patogenezie zmian w przestrzeni pozagałkowej [33]. Teoretyczne podstawy zastosowania tej metody opierają się na obecności aktywowanych limfocytów T w przestrzeni pozagałkowej w przebiegu oftalmopatii, przy stwierdzanej w badaniach *in vitro* wysokiej ekspresji receptorów somatostatynowych na aktywowanych limfocytach [34, 35]. Badania z użyciem znakowanego oktreotydu pozwalają na ocenę aktywności procesu w przestrzeni pozagałkowej, również w czasie leczenia immunosupresyjnego [36].

Od początków powstania medycyny nuklearnej rozwojowi metod diagnostycznych towarzyszył równoległy rozwój procedur terapeutycznych, wykorzystujących otwarte źródła promieniowania. Wprowadzenie analogów somatostatynowych do diagnostyki izotopowej, a tym samym uzyskanie nośnika zdolnego *in vivo* przenosić izotop promieniotwórczy bezpośrednio do patologicznej tkanki, dało potencjalne możliwości terapii radioizotopowej guzów, wykazujących podwyższoną ekspresję receptorów somatostatynowych. Pierwsze próby terapii przy użyciu znakowanych analogów somatostatynowych polegały na stosowaniu radiofarmaceutyków diagnostycznych, podawanych w znacznie większych aktywnościach.

Ind 111In, poza wykorzystywaniem w badaniu scyntygraficznym promieniowaniem gamma, emituje również elektrony Augera i konwersji. Znany jest fakt, iż elektrony Augera są wysoce radiotoksyczne dla DNA, jeśli znajduje się on w zasięgu tych elektronów [37]. Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej losy radioznacznika na poziomie komórkowym można zakładać skuteczne oddziaływanie na komórkowe DNA.

Przy terapii dużymi dawkami (łączna dawka do 70GBq) znakowanymi 111In analogami somatostatynowymi odnotowano odpowiedź terapeutyczną u około 65% pacjentów z przerzutowymi nowotworami neuroendokrynnymi. Przy tego typu terapii nie zanotowano dramatycznych działań ubocznych, obserwowano jedynie przejściowe obniżenie liczby płytek krwi oraz leukocytów [38].

Ponieważ zasięg elektronów Augera w tkankach nie jest duży (0,02-10 μm), stąd użycie 111In nie w każdym przypadku może być uznane za idealne. W ostatnich latach, dzięki gwałtownemu rozwojowi radiofarmakologii peptydów, uzyskano możliwość znakowania analogów somatostatynowych szeregiem różnych radioizotopów, w tym o większej niż ind 111In radiotoksyczności. Aktualnie prowadzone są liczne badania nad skutecznością terapii

przy użyciu analogów somatostatyny, znakowanych radioizotopem emitującym promieniowanie beta.

Stosowane są 90Y-DOTA-oktreotyd oraz 90Y-DOTA-lanreotyd. Pierwsze wyniki terapii analogami znakowanymi itrem 90Y są zachęcające [39], jednakże należy liczyć się ze znacznie większym narażeniem na działanie promieniowanie jonizującego, nie tylko tkanek patologicznych. Znacznik ten jest filtrowany przez kłębuszki nerkowe, a następnie częściowo reabsorbowany i zatrzymywany w komórkach kanalików proksymalnych, stąd w konsekwencji znaczna radioaktywność kumulowana jest w nerkach [4].

Dla analogów znakowanych itrem 90Y toksyczność jest znacznie większa niż dla 111In, a nerki i szpik kostny są narządami krytycznymi. Hammond i wsp. [40] wykazał, iż radiotoksyczność w nerkach może zostać ograniczona przez podawanie, przed oraz w trakcie terapii, zasadowych aminokwasów L-lizyny i L-argininy, co powoduje redukcję gromadzenia znacznika w nerkach nawet o 50%.

Przyszłość wykorzystania ligandów receptorów somatostatynowych w diagnostyce i terapii wydaje się być otwarta. Wiele ośrodków zaangażowanych jest w opracowanie analogów somatostatyny, wykazujących wysokie powinowactwo do wszystkich receptorów somatostatynowych, a zwłaszcza dla sst1. Jednocześnie prowadzone są próby wykorzystania w terapii analogów somatostatyny, znakowanych alfa-emiterami [41], jak również użycia analogów somatostatyny do przenoszenia innych cytotoksycznych związków — połączenie analogu somatostatyny z doksorubicyną [42].

Burzliwy rozwój biologii molekularnej pozwala obecnie na przenoszenie genu receptora somatostatynowego do komórek nowotworowych, nie wykazujących ekspresji tego typu receptorów [43]. Poza potencjalnym efektem biologicznym, mogącym prowadzić do zatrzymania wzrostu lub apoptozy w mechanizmie autokrynnym, daje to możliwość zastosowania terapii radioizotopowej lub innej, wykorzystującej drogę receptorową.

Możliwości zastosowania neuropeptydów w diagnostyce i terapii stanowią obecnie bardzo istotny kierunek rozwoju medycyny nuklearnej. Ich zastosowanie pozwala na wykorzystanie biologicznych zjawisk, na poziomie molekularnym, do oceny charakteru komórek i tkanek *in vivo*, co było i jest jednym z głównych celów medycyny nuklearnej. Wydaje się, iż metody te, wraz z rozwojem radiofarmakologii, będą stanowić istotny element diagnostyki i terapii onkologicznej.

Dr Witold Cholewiński

Katedra i Zakład Medycyny Nuklearnej
Akademii Medycznej w Lublinie
SPSK4, Jaczewskiego 8
20-090 Lublin
e-mail: vitas@mp.pl

Piśmiennictwo

1. Brazeau P, Vale W, Burgus R. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973; 179: 77-79.
2. Lamberts SWJ, Krenning EP, Reubi JC. The role of somatostatin and its analogs in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocr Rev* 1991; 12: 450-482.
3. Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Bakker WH et al. Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]- and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. *Eur J Nucl Med* 1993; 20: 716-731.
4. Breeman WAP, de Jong M., Kwekkeboom DJ et al. Somatostatin receptor-mediated imaging and therapy: basic science, current knowledge, limitation and future perspectives. *Eur J Nucl Med* 2001; 28: 1421-1429.
5. Patel YC. Molecular pharmacology of somatostatin receptor subtypes. *J Endocrinol Invest* 1997; 20: 348-367.
6. Hoyer D, Bell GL, Berelowitz M et al. Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 86-88.
7. Arnold R, Simon B, Wied M. Treatment of neuroendocrine GEP tumours with somatostatin analogues: A review. *Digestion* 2000; 62 Suppl 1:84-91
8. Portela-Gomes GM, Stridsberg M., Grimelius L et al. Expression of five different somatostatin receptor subtypes in endocrine cells of the pancreas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8: 126-132.
9. Chanson P. Traitement des tumeurs endocrines par les analogues de la somatostatine. *Medicine Therapeutique* 1997; 9: 749-762.
10. Reubi JC. Neuropeptide receptors in health and disease: the molecular basis for *in vivo* imaging. *J Nucl Med* 1995; 36: 1825-1835.
11. Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol* 1999; 20: 157-198.
12. Reubi JC, Waser B, Schaer JC et al. Somatostatin receptors in human prostate and prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2806-2814.
13. Reubi JC, Waser B, Laissue JA et al. Somatostatin and vasoactive intestinal peptide receptors in human mesenchymal tumors: *in vitro* identification. *Cancer Res* 1996; 56: 1922-1931.
14. Virgolini I. Receptor nuclear medicine: vasointestinal peptide and somatostatin receptor scintigraphy for diagnosis and treatment of tumor patients. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 793-800.
15. Reubi JC, Waser B, Schaer JC et al. Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med*. 2001; 28: 836-846.
16. Miller GM, Alexander JM, Bikkal HA et al. Somatostatin receptor subtype gene expression in pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1386-1392.
17. Maton PN. Use of octreotide acetate for control of symptoms in patients with islet cell tumors. *World J Surg* 1993; 17: 504-510.
18. Bakker WH, Krenning EP, Breeman WAP et al. Receptor scintigraphy with a radioiodinated somatostatin analogue: radiolabelling, purification, biological activity and *in vivo* application in animals. *J Nucl Med* 1990; 31: 1501-1509.
19. Krenning EP, Bakker WH, Kooij PPM et al. Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]-octreotide in man: metabolism, dosimetry and comparison with [123I-Tyr-3]-octreotide. *J Nucl Med* 1992; 33: 652-658.
20. Reubi JC, Schaer JC, Waser B et al. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes sst1-sst5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. *Eur J Nucl Med* 2000; 27: 273-282.
21. Schaer JC, Waser B, Mengod G et al. Somatostatin receptor subtypes st1, sst2, sst3 and sst5 expression in human pituitary, gastroentero-pancreatic and mammary tumors: comparison of mRNA analysis with receptor autoradiography. *Int J Cancer* 1997; 70: 530-537.
22. Ferone D, van Hagen MP, Kwekkeboom DJ. Somatostatin receptor subtypes in human thymoma and inhibition of cell proliferation by octreotide *in vitro*. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1719-1726.
23. Duncan JR, Stephenson MT, Wu HP, Anderson CJ. Indium-111-diethylenetriamine pentaacetic acid-octreotide is delivered *in vivo* to pancreatic, tumor cell, renal, and hepatocyte lysosomes. *Cancer Res* 1997; 57: 659-671.
24. Virgolini I, Szilvasi I, Kurtaran A et al. Indium-111-DOTA-lanreotide: biodistribution, safety and radiation absorbed dose in tumor patients. *J Nucl Med* 1998; 39: 1928-1936.
25. Decristoforo C, Mather SJ, Cholewinski W et al. 99mTc-EDDA/HYNIC-TOC: a new 99mTc-labelled radiopharmaceutical for imaging somatostatin receptor-positive tumours; first clinical results and intra-patient comparison with 111In-labelled octreotide derivatives. *Eur J Nucl Med* 2000; 27: 1318-25.

26. Bangard M, Behe M, Gohlke S et al. Detection of somatostatin receptor-positive tumours using the new ^{99m}Tc -tricine-HYNIC-D-Phe1-Tyr3-octreotide: first results in patients and comparison with ^{111}In -DTPA-D-Phe1-octreotide. *Eur J Nucl Med* 2000; 27: 628-637.
27. Schillaci O, Massa R, Scopinaro F. ^{111}In -pentetreotide scintigraphy in the detection of insulinomas: importance of SPECT imaging. *J Nucl Med* 2000; 41: 459-642.
28. Reubi JC, Chayvialle JA, Franc B et al. Somatostatin receptors and somatostatin content in medullary thyroid carcinomas. *Lab Invest* 1991; 64: 567-573.
29. Duet M, Ajzenberg C, Benelhadj S et al. Somatostatin receptor scintigraphy in pituitary adenomas: a somatostatin receptor density index can predict hormonal and tumoral efficacy of octreotide in vivo. *J Nucl Med* 1999; 40: 1252-1256.
30. Foekens JA, Portengen H, van Putten WLJ et al. Prognostic value of receptors for insulin-like growth factor 1, somatostatin and epidermal growth factor in human breast cancer. *Cancer* 1989; 49: 7002-7009.
31. Schmidt M, Scheidhauer K, Luyken C et al. Somatostatin receptor imaging in intracranial tumours. *Eur J Nucl Med* 1998; 25: 675-686.
32. Ivancevic V, Wormann B, Nauck C et al. Somatostatin receptor scintigraphy in the staging of lymphomas. *Leuk-Lymphoma* 1997; 26: 107-114.
33. Burch HB, Wartofsky L. Grave's ophthalmopathy: Current concept regarding pathogenesis and management. *Endocr Rev* 1993; 44: 747-793.
34. Van Hagen PM, Krenning EP, Kwekkeboom DJ et al. Somatostatin and the immune and haematopoietic system: A review. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 91-99.
35. Van der Gaag R, Schmidt ED, Koornneef L. Retrobulbar histology and immunohistochemistry in endocrine ophthalmopathy. In: *Endocrine Ophthalmopathy, Molecular, Immunological and Clinical Aspects*. Karger: Basel, 1993, 1-10.
36. Krassas GE, Dumas A, Pontikides N et al. Somatostatin receptor scintigraphy and octreotide treatment in patients with thyroid eye disease. *Clin Endocrinol* 1995; 42: 571-580.
37. Stepanek J, Larsson B, Weinreich R. Auger-electron spectra of radionuclides for therapy and diagnosis. *Acta Oncol* 1996; 35: 863-868.
38. McCarthy KE, Woltering EA, Anthony LB. In situ radiotherapy with ^{111}In -pentetreotide. State of the art and perspectives. *Q J Nucl Med* 2000; 44: 88-95.
39. Otte A, Herrmann R, Heppeler A et al. Yttrium-90 DOTATOC: first clinical results. *Eur J Nucl Med* 1999; 26: 1439-1447.
40. Hammond PJ, Wade AF, Gwilliam ME et al. Amino acid infusion blocks renal tubular uptake of an indium-labelled somatostatin analogue. *Br J Cancer* 1993; 67: 1437-1439.
41. Noorenberg JPKB, Konings IR, de Jong M et al. [^{213}Bi -DOTA0,Tyr3]-octreotide in peptide receptor radionuclide therapy. *J Nucl Med* 1999; 40: 103P.
42. Schally AV, Nagy A. Cancer chemotherapy based on targeting of cytotoxic peptide conjugates to their receptors on tumors. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 1-14.
43. Rochaix P, Delesque N, Esteve JP et al. Gene therapy for pancreatic carcinoma: local and distant antitumor effects after somatostatin receptor sst2 gene transfer. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 995-1008.

Otrzymano: 27 lutego 2002 r.

Przyjęto do druku: 10 maja 2002 r.