



Оригинальная статья

Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных

Гуревич Л.Е.¹ • Казанцева И.А.¹

Цель – комплексный клинко-морфологический анализ спектра нейроэндокринных опухолей (НЭО) поджелудочной железы (ПЖ) согласно новой классификации Всемирной организации здравоохранения (2017): состав пациентов, гормональный статус, морфологические критерии злокачественности, экспрессия рецепторов к соматостатину 2 (ССР 2) и 5-го типов (ССР 5), выбор тканеспецифических маркеров для дифференциальной диагностики первичной локализации НЭО в ПЖ по метастазам без известного первичного очага.

Материал и методы. Материалом исследования послужили 472 образца ткани НЭО ПЖ от пациентов. Морфологический анализ включал гистологический и иммуногистохимический методы исследования со спектром антител к хромогранину А, синаптофизину, CD56, инсулину, глюкагону, соматостатину, гастрину, кальцитонину, адренокортикотропному гормону (АКТГ), серотонину, панкреатическому полипептиду, цитокератинам (ЦК) широкого спектра, ЦК 7 и 19, р53, Ki-67, ССР 2 и ССР 5, PDX-1, Isl-1, NESP-55. **Результаты.** НЭО ПЖ встречались у женщин в 2,3 раза чаще, чем у мужчин (2,3:1). Были верифицированы 299 (63,3%) инсулином, 134 (28,4%) нефункционирующих НЭО, 28 (5,9%) гастрином

и 1,8% редких опухолей (соматостатином, «кальцитонином» и АКТГ-продуцирующих). Метастазы были выявлены в 16,5% случаев. Синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа был подтвержден у 11,9% пациентов с НЭО ПЖ, а у пациентов в возрасте до 30 лет – в 30,8% случаев. Множественные опухоли (от 2 до 10) у 32 пациентов были на момент установления диагноза или возникали через 7–18 лет после операции. ЦК19-позитивными были 28,3% опухолей, из них 54,4% с метастазами. Реже всего (в 5,7% случаев) метастазы были при инсулиномах, из них 41,2% были ЦК19-позитивными. Метастазы в гастриномах, «кальцитониномах», АКТГ-продуцирующих опухолях, соматостатиномах встречались в 70,4, 66,7, 100 и 100% случаев, ЦК19-позитивными были 85,2, 66,7, 66,7 и 100% опухолей соответственно. Экспрессия ССР 2 наблюдалась во всех гастриномах и «кальцитониномах», в 90,5% «глюкагоном», 85,7% «пипом», 66,7% соматостатином; экспрессия ССР 5 отмечена значительно реже. PDX-1-позитивными были 86,3% исследованных опухолей, все (100%) соматостатиномы, 97,4% инсулином, 92,3% гастрином, 83,3% «пипом», 80% нефункционирующих НЭО, PDX-1-негативными – все (100%) «кальцитониномы»

и 57,1% нефункционирующих «глюкагоном». Isl-1 и NESP-55-позитивными были 83,3 и 90,9% НЭО ПЖ. **Заключение.** Комплексное морфологическое и иммуногистохимическое исследование НЭО ПЖ позволяет правильно поставить диагноз, оценить прогноз и выбрать наиболее эффективное лечение. Злокачественный потенциал НЭО ПЖ зависит от иммунофенотипа клеток, он выше при ко-экспрессии маркеров нейроэндокринной и протоковой дифференцировки (ЦК19) и при продукции эктопических гормонов.

Ключевые слова: нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, степень злокачественности, цитокератин 19, рецепторы к соматостатину, тканеспецифические маркеры

Для цитирования: Гуревич ЛЕ, Казанцева ИА. Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):298–313. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-298-313.

Поступила 05.03.2018;
принята к публикации 13.06.2018



Поджелудочная железа (ПЖ) – временно экзокринный и эндокринный орган. Именно этим определяется необычайно широкий спектр опухолей, возникающих в ПЖ, а также трудности их диагностики. Большинство (до 90%) опухолей ПЖ имеют протоковую дифференцировку: 80% из них приходится на протоковые аденокарциномы, еще 10% – на такие редкие типы, как слизистый (муцинозный), железисто-плоскоклеточный и перстневидно-клеточный рак, серозно-кистозные, муцинозно-кистозные и внутрипротоковые папиллярно-муцинозные опухоли. Аденокарциномы ПЖ обычно развиваются у людей старше 50–60 лет, а все остальные типы опухолей – в более молодом возрасте. Опухоли не протокового, а иного гистогенетического происхождения – нейроэндокринные (НЭО), солидно-псевдопапиллярные, ацинарноклеточные, панкреатобластомы, недифференцированные карциномы – составляют до 10% всех опухолей ПЖ. Верификация редких типов новообразований ПЖ в большинстве случаев требует использования современных методов морфологической диагностики, в первую очередь иммуногистохимического (ИГХ) исследования. В этой связи важно отметить, что успешное применение таргетной терапии возможно только на основе уточненного морфологического диагноза с определением иммунофенотипа опухоли, степени ее злокачественности, прогноза клинического течения и выявления клеточных мишеней.

Учитывая относительную редкость НЭО и сравнительно медленный их рост, эпидемиологию этих опухолей лучше всего изучать за достаточно большой период и на базе крупных реестров. Всеобъемлющим источником подобной информации служит регистр по оценке выживаемости, эпидемиологии и конечных результатов (The National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program), основанный Американским национальным институтом рака в 1973 г. и обновляемый ежегодно [1]. С 2004 г. этот регистр постоянно фиксирует увеличение заболеваемости НЭО. В немалой степени это связано с улучшением методов диагностики (компьютерная томография, эндоскопия, биохимическое и морфологическое исследование). Кроме того, для НЭО были разработаны и приняты универсальные классификации степени злокачественности (Grade, G), что также способствовало улучшению диагностики и выявлению заболевания на более ранних стадиях. Так, за период с 1973 по 2012 г. число выявленных новых

Гуревич Лариса Евсеевна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотр. патологоанатомического отделения¹
 ✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–13, Российская Федерация.
 Тел.: +7 (495) 631 74 22.
 E-mail: larisgur@mail.ru

Казанцева Ирина Александровна – д-р мед. наук, профессор, руководитель патологоанатомического отделения¹

случаев НЭО выросло в 6,4 раза (с 1,09 до 6,98 на 100 тыс. населения). Существенен этот показатель и для НЭО разных локализаций: для карциноидов легких он составил 1,49, для НЭО ПЖ и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – 3,56, а для метастазов НЭО неизвестной первичной локализации – 0,84. Количество НЭО в популяции растет не только неуклонно, но и опережающими темпами по сравнению с другими типами опухолей, особенно карциноидами желудка, легких и прямой кишки, которые легче обнаружить на ранних стадиях их роста. В частности, с 1993 по 2012 г. в 15 раз увеличилось число выявляемых НЭО желудка, но только вдвое – опухолей слепой кишки [1, 2].

НЭО ПЖ составляют большинство функционирующих НЭО пищеварительного тракта и до 2–5% всех опухолей ПЖ. Это очень пестрая группа опухолей – по строению, функциональной активности, иммунофенотипу и спектру продуцируемых гормонов. Большинство (70–75%) функционирующих НЭО ПЖ составляют инсулиномы, реже встречаются гастриномы, «глюкагономы», соматостатиномы, очень редко – випомы, опухоли, секретирующие адренорекортикотропный гормон (АКТГ), серотонинпродуцирующие (карциноиды), а также опухоли, продуцирующие кальцитонин, гормон роста, пролактин и некоторые другие гормоны, в норме не характерные для этого органа (эктопические). Клинически нефункционирующие (НФ), «бессиндромные» НЭО ПЖ представляют собой самую сложную для установления диагноза группу опухолей. Именно в случае НФ НЭО ПЖ чаще всего допускаются диагностические ошибки, а пациентов либо признают неоперабельными и они не получают адекватной помощи, либо их лечат от другого заболевания (например, от аденокарцином). Среди НФ НЭО ПЖ часто встречаются опухоли, секретирующие панкреатический полипептид, так называемые пипомы, а также секретирующие любые гормоны в количествах, недостаточных для проявления гиперфункциональных эндокринных синдромов.

Что касается определения степени дифференцировки и степени злокачественности (Grade, G) НЭО, в 2000 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) приняла классификацию НЭО ЖКТ и ПЖ, где они были разделены на три основные группы: высокодифференцированные (ВД) эндокринные опухоли низкой и неопределенной степени злокачественности, а также низкодифференцированные (НД) нейроэндокринные

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

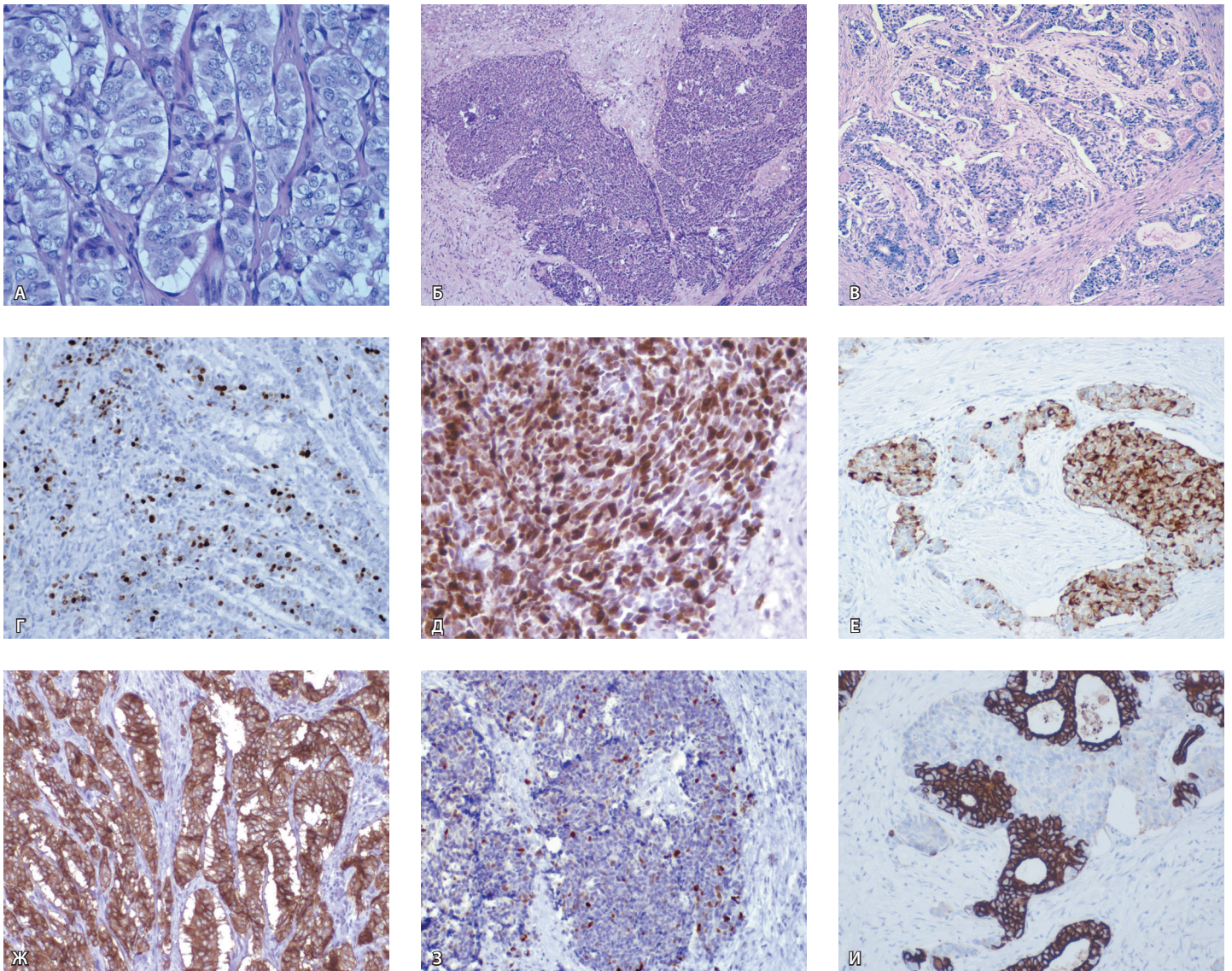


Рис. 1. Высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль Grade 3 (А, ×400; Г, ×25; Ж, ×250). Низкодифференцированная нейроэндокринная карцинома Grade 3 (Б, ×125; Д, ×250; З, ×125). Смешанная нейроэндокринная-нейроэндокринная опухоль (MiNEN) (В, ×125; Е, ×250; И, ×250). Окраска гематоксилином и эозином (А, Б, В), иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67 (Г, Д), хромогранину А (Е), рецепторам к соматостатину 2-го типа (Ж), p53 (З), цитокератину 7 (И); микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич

карциномы (НЭК) высокой степени злокачественности. Затем классификация НЭО ПЖ была усовершенствована [3], опухоли разделили по степени их злокачественности (G) на 3 группы – G1, G2 и G3. В соответствии с этой классификацией в группы G1–G2 вошли ВД НЭО ПЖ, а в группу G3 – НД НЭК, мелкоклеточный и крупноклеточный варианты. Определение Grade НЭО базируется на двух важнейших молекулярно-клеточных параметрах, которые отражают скорость деления опухолевых клеток, а следовательно, степень

злокачественности опухоли: индексах митотической и пролиферативной активности опухолевых клеток (индекс Ki-67). В новейшую классификацию НЭО ПЖ (ВОЗ, 2017) [4] внесены изменения, которые в основном касаются группы G3 (рис. 1А, Б, Г, Д, Ж, З). Введена совершенно новая градация – «высокодифференцированная НЭО ПЖ Grade 3», которой раньше не было ни в одной из классификаций, при этом сохранилась и группа «низкодифференцированная нейроэндокринная карцинома Grade 3» (рис. 1Б, Д, З).



Таким образом, согласно классификации ВОЗ, 2017 [4], выделяют следующие группы:

- ВД НЭО G1/G2/G3;
- НД НЭК G3, мелкоклеточный и крупноклеточный варианты;
- смешанная нейроэндокринная-ненейроэндокринная опухоль (MiNEN).

В табл. 1 приведены те основные критерии, которые позволяют отличить ВД НЭО ПЖ G3 от НД НЭК G3: высокодифференцированная морфология опухоли (рис. 1А), экспрессия в клетках опухоли рецепторов к соматостатину 2-го типа (ССР 2) (в 80% случаев по сравнению с 8% в НД НЭК) (рис. 1Ж), экспрессия генов *DAXX*, *ATRX*, *p53* (рис. 1З) и *RBI* [4–8]. Гены-супрессоры *ATRX* и *DAXX* кодируют ядерные белки, которые, взаимодействуя друг с другом, способствуют ремоделированию теломерных и перичентромерных участков хроматина. Мутации, возникающие в этих генах, коррелируют с уменьшением экспрессии соответствующих протеинов и выявляются в 45% спорадических ВД НЭО ПЖ, а также у носителей наследственного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1-го типа (МЭН-1) [9].

НЭК G3 в ПЖ встречаются сравнительно редко, это очень агрессивные опухоли, разнообразные и по гормональной продукции, и по клинической симптоматике. Диагноз смешанных опухолей ПЖ (MiNEN) ставится только после ИГХ-исследования, поскольку в этих опухолях сочетаются два компонента или более с разным типом дифференцировки – протоковым, ацинарным и эндокринным, каждый из которых должен быть верифицирован, при этом эндокринный компонент должен составлять не менее 30% всей ткани опухоли (рис. 1В, Е, И).

Очень важной и актуальной при обследовании пациентов с НЭО ПЖ представляется диагностика наследственных синдромов, в первую очередь МЭН-1. Синдром обусловлен мутацией в перичентрической области хромосомы 11 (11q13), наследуется по аутосомно-доминантному типу, реже может быть результатом спонтанной мутации (которая затем передается по наследству), приводит к нерегулируемой пролиферации эндокринных клеток. МЭН-1 сопровождается поражением обязательной триады органов – синхронная или асинхронная гиперплазия и/или опухоли 1–4 паращитовидных желез, НЭО ПЖ и передней доли гипофиза. Реже синхронно или асинхронно возникают НЭО двенадцатиперстной кишки, желудка, тимуса, легких, щитовидной железы, надпочечников. По современным

Таблица 1. Критерии деления нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы на высокодифференцированные опухоли и низкодифференцированные карциномы Grade 3 (классификация Всемирной организации здравоохранения, 2017 [4])

Тип	Ki-67	p53	RBI	SSR2A	ATRX+	DAXX+
ВД НЭО (NET) G3 высокодифференцированная морфология	21–36	0	0	78	11	33
НД НЭК (NEC) G3 низкодифференцированная морфология	21–90	75	45	8	0	0

ВД НЭО – высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли, НД НЭК – низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы

данным, у 15–25% пациентов НЭО ПЖ возникают в рамках синдрома МЭН-1 [4].

Целью нашего исследования был анализ спектра НЭО ПЖ, имеющих в нашей базе данных, по возрастному составу пациентов и наличию у них наследственного синдрома МЭН-1; по гормональному статусу и степени злокачественности опухолей; выявление морфологических критериев злокачественности, которые позволяют прогнозировать клиническое течение заболевания; выявление экспрессии ССР 2 и ССР 5 как клеточных мишеней для прогнозирования эффективности лечения этих опухолей; изучение перспективных тканеспецифических маркеров, которые позволят в большинстве случаев по метастазам НЭО ПЖ без известного первичного очага верифицировать их первичную локализацию.

Материал и методы

Материалом исследования послужили 472 образца ткани операционных биопсий или диагностических биопсий метастазов НЭО ПЖ в лимфатические узлы или печень. Материал получен от пациентов, оперированных и обследованных в ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского с 2000 по 2017 г., а также пациентов из других лечебных учреждений Российской Федерации, консультированных в патологоанатомическом отделении ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского.

Морфологический анализ включал гистологический и ИГХ методы исследования. Материал фиксировали в 10% растворе формалина, затем заливали в парафин по обычной методике. Срезы депарафинировали по стандартной схеме и окрашивали гематоксилином и эозином. Для ИГХ-исследования серийные срезы толщиной 3–5 мкм наносили на предметные стекла с адгезивным покрытием, ИГХ-реакцию проводили с использованием автоматических систем закрытого (Ventana

**Таблица 2.** Характеристика спектра нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы у пациентов разного возраста без наследственных синдромов или с синдромом множественных эндокринных неоплазий 1-го типа

Тип опухоли	Всего, абс.	Количество, % (абс.)	Пациенты в возрасте до 30 лет, % (абс.)	Пациенты с МЭН-1, % (абс.)	Пациенты с МЭН-1 до 30 лет, % (абс.)
Все НЭО ПЖ	472		16,5 (78/472)	11,9 (56/472)	30,8 (24/78)
Инсулиномы	299	63,3 (299/472)	18,4 (55/299)	13 (39/299)	25,4 (14/55)
Гастроинномы	28	5,9 (28/472)	17,9 (5/28)	28,6 (8/27)	25 (2/8)
Соматостатиномы	3	0,6 (3/472)	0	0	0
«Кальцитониномы»	3	0,6 (3/472)	0	0	0
АКТГ-продуцирующие	3	0,6 (3/472)	0	0	0
Нефункционирующие	134	28,4 (134/472)	12,7 (17/134)	9,7 (13/134)	47,1 (8/17)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, МЭН-1 – синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа, АКТГ – адренкортикотропный гормон

BenchMark Ultra, Roche) или открытого типа (Thermo Fisher, Великобритания) по стандартным протоколам, а в отдельных случаях (при малом объеме материала в диагностических биопсиях) ручным методом. При использовании автостейнера открытого типа депарафинирование срезов и восстановление антигенности проводили в буфере pH 9.0 в PT Module (Thermo Scientific, Великобритания). Для ИГХ-исследования использовали спектр антител: готовые к использованию (RTU) – к хромогранину А (клон LK2H10), синаптофизину (SP11), CD56 (MRQ-42), гормонам – инсулину, глюкагону, соматостатину, гастрину, кальцитонину, АКТГ, цитокератинам (ЦК) широкого спектра (клон AE1/AE3 + PCK26), ЦК7 (клон SP52), ЦК19 (клон A53-B/A2.26), p53 (клон DO7); концентрированные антитела – к серотонину (клон 5HT-H209, Cell Marque), панкреатическому полипептиду (поликлон, Abcam, разведение 1:500), Ki-67 (мышинный моноклон MIB1, DAKO, или кроличий моноклон, RTU, 30-9, Roshe), ССР 2 (кроличьи моноклональные антитела, клон ID-EPR3340, Epitomics, США, разведение 1:100), ССР 5 (кроличьи моноклональные антитела, клон UMB4, Abcam, разведение 1:100), PDX-1 (клон EP-139, Epitomics, США, разведение 1:100), Isl-1 (клон IH9, GeneTex, разведение 1:100), NESP-55 (клон C2C3, GeneTex, разведение 1:100).

Экспрессию цитоплазматических маркеров учитывали полуколичественным методом по стандартным методикам: положительной считали экспрессию более чем в 20% опухолевых клеток, очаговой – менее чем в 20% клеток; подсчет индекса пролиферации Ki-67 проводили по стандартной методике как процент (%) клеток, ядра которых метятся этим маркером, на 100 опухолевых

клеток при большом увеличении микроскопа (× 400), при учете 500–2000 опухолевых клеток в наиболее активно пролиферирующих участках, так называемых горячих точках. Учет экспрессии ССР проводили по методу M. Volante и соавт. [10]: для ССР 2 положительной реакцией считали мембранную экспрессию, для ССР 5 учитывали мембранно-цитоплазматическую экспрессию. Клинически значимой считали положительную реакцию 50–75% (2+) и 75–100% опухолевых клеток (3+), слабо выраженную или очаговую реакцию (1+) оценивали как отрицательную.

Результаты

Клинико-морфологическая характеристика нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы

Нами были проанализированы 472 случая НЭО ПЖ (табл. 2). Эти опухоли встречались в 2,3 раза чаще у женщин, чем у мужчин: у 332 женщин и 140 мужчин (2,3:1), возраст пациентов варьировал от 2 месяцев до 80 лет. После ИГХ-исследования были верифицированы 299 (63,3%) инсулином с синдромом гипогликемии, 134 (28,4%) клинически НФ НЭО, 28 (5,9%) гастрином с синдромом Золлингера – Эллисона, а на более редкие типы опухолей (соматостатиномы, «кальцитониномы» и АКТГ-продуцирующие) в сумме пришлось до 2% (по 0,6%).

Метастазы НЭО ПЖ были выявлены в 78 (16,5%) случаях, из них в печень – в 47 (60,2%), в лимфатические узлы – в 16 (29,5%), множественные, в том числе отдаленные метастазы (в желудок, головной мозг, кожу, кости) – в 15 (19,2%) наблюдениях. У одних пациентов метастазы имелись уже на момент постановки диагноза НЭО

**Таблица 3.** Экспрессия цитокератина 19 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы различных типов

Тип опухоли	Количество, абс.	Всего НЭО с метастазами, абс. (%)	ЦК19-позитивные опухоли, абс.	ЦК19-позитивные опухоли с метастазами, абс. (%)
Все НЭО ПЖ	472	16,5 (78/472)		
из них с известным статусом ЦК19	233	28,3 (66/233)	102	54,4 (55/102)
Инсулиномы	299	5,7 (17/299)	17	41,2 (7/17)
Гастроинномы	27	70,4 (19/27)	27	85,2 (23/27)
Соматостатиномы	3	100 (3/3)	3	100 (3/3)
«Кальцитониномы»	3	66,7 (2/3)	2	66,7 (2/3)
Кортикотропиномы	3	100 (3/3)	2	66,7 (2/3)
Нефункционирующие	134	33,6 (45/134)	61	47,5 (29/61)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, ЦК19 – цитокератин 19

ПЖ, у других были выявлены через 1–19 лет после операции или служили первой манифестацией НЭО без известного первичного очага. Тринадцать человек с метастазами на момент установления диагноза умерли в течение 1–9 лет от прогрессирования заболевания, 12 пациентов живы в течение 1–6 лет после операции на фоне прогрессирования и диссеминации процесса, судьба остальных 53 в настоящее время неизвестна. Следует пояснить, что появление метастазов и особенности клинического течения НЭО ПЖ удалось проследить только у тех пациентов, о которых имелась достоверная и полноценная информация или если они в течение ряда лет наблюдались в одном лечебном учреждении. Таким образом, очевидно, что данные о прогрессировании НЭО ПЖ, приведенные в настоящей работе, не отражают реальной картины. Основная причина – отсутствие в Российской Федерации государственного регистра пациентов с НЭО, в том числе с НЭО ПЖ. Сейчас под эгидой Медицинского общества по лечению нейроэндокринных опухолей (МОЛНЭО) предпринята попытка создать такой регистр. Вероятно, в ближайшее время мы сможем получить более объективные данные по особенностям клинического течения заболевания и выживаемости пациентов с НЭО различной локализации.

Синдром МЭН-1 был клинически и/или генетически подтвержден у 56 (11,9%) из 472 пациентов с НЭО ПЖ (см. табл. 2). Как известно, среди молодых пациентов число носителей наследственных синдромов, ассоциированных с НЭО ПЖ, существенно выше. В нашей выборке пациентов в возрасте до 30 лет было 78 (16,5%)

человек, из которых у 24 (30,8%) был поставлен диагноз синдрома МЭН-1. Это почти втрое чаще, чем в общей группе пациентов с НЭО ПЖ. У молодых пациентов с синдромом МЭН-1 наиболее часто встречались НФ НЭО ПЖ (47,1%), которые не давали никаких гиперфункциональных эндокринных синдромов. Еще у 2 пациенток был установлен диагноз наследственного синдрома Гиппеля – Линдау (девочки 14 и 16 лет), у 1 – туберозный склероз (девочка 12 лет). Поскольку до сих пор пациентов с НЭО ПЖ редко целенаправленно обследуют на наличие у них наследственных синдромов, приведенные выше цифры явно занижены. В частности, у 4 из наших пациентов, которые умерли от послеоперационных осложнений или от другой патологии, синдром МЭН-1 с поражением сразу нескольких эндокринных органов был впервые установлен на аутопсии.

Множественные опухоли были обнаружены у 32 пациентов, у 24 из них в рамках синдрома МЭН-1, еще у 8 этот синдром при генетическом исследовании не подтвердился или это исследование по разным причинам не проводилось. Множественные опухоли (от 2 до 12) у одних пациентов имелись уже на момент установления диагноза, у других новые опухоли возникали через 7–18 лет после операции. В 10 случаях у пациентов с синдромом МЭН-1 поражение характерной триады органов (паращитовидных желез, гипофиза и ПЖ) сочеталось с НЭО двенадцатиперстной кишки, желудка и легких, а также с нейроэндокринными опухолями – папиллярным раком щитовидной железы (3 случая), гастроинтестинальной стромальной опухолью желудка и двенадцатиперстной кишки (3 случая), раком

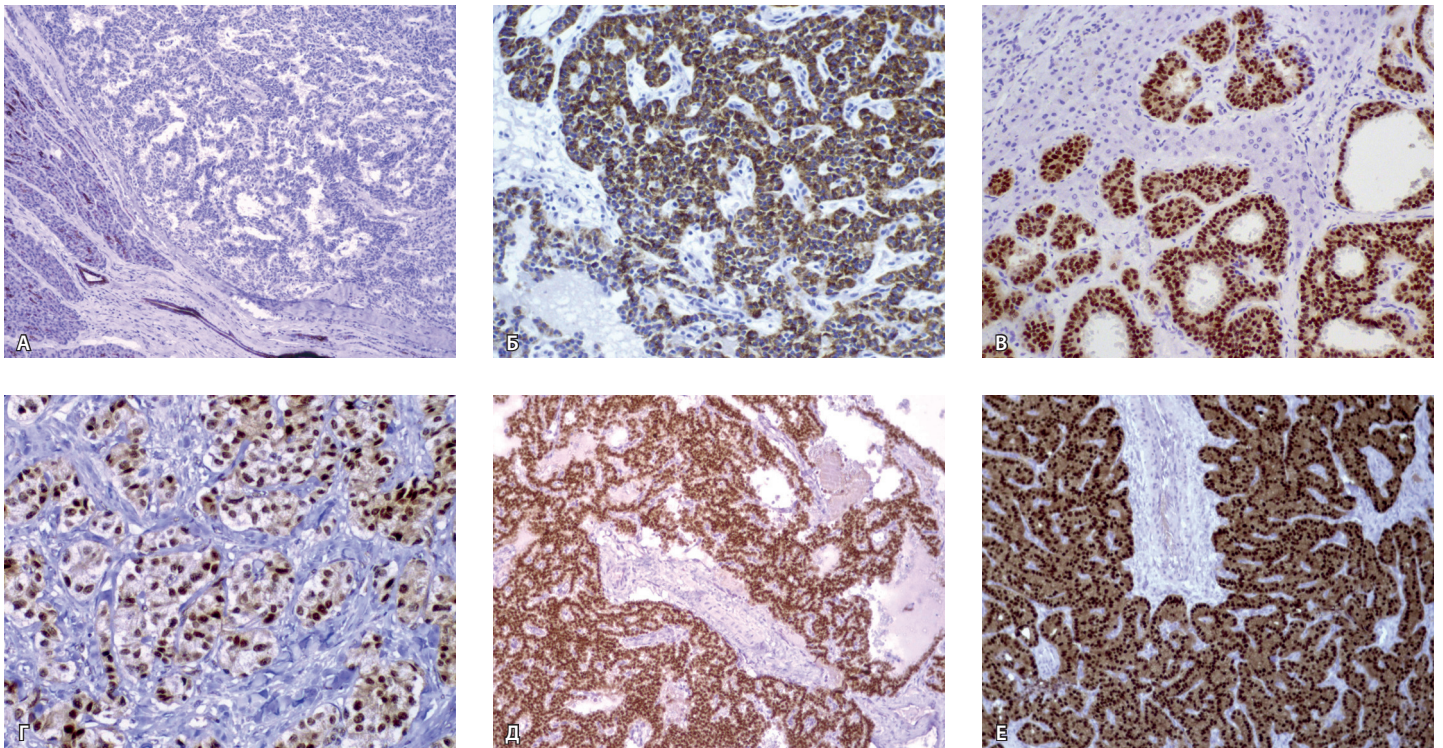


Рис. 2. Экспрессия маркеров в нейроэндокринных опухолях (НЭО) поджелудочной железы (ПЖ) различных типов: **А** – цитокератин19-негативная инсулинома: экспрессия маркера в клетках опухоли отсутствует (×125); **Б** – цитокератин19-позитивная нефункционирующая НЭО, экспрессия цитокератина 19 в цитоплазме опухолевых клеток (×250); **В** – экспрессия PDX-1 в ядрах клеток метастаза в печень гастриномы ПЖ (×250); **Г** – экспрессия PDX-1 в ядрах и цитоплазме клеток инсулиномы ПЖ (×250); **Д** – экспрессия Isl-1 в ядрах клеток инсулиномы (×400); **Е** – экспрессия NESP-55 в ядрах клеток нефункционирующей НЭО ПЖ (×250); микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич

желудка (1 случай). У пациенток с синдромом Гиппеля – Линдау, кроме НЭО ПЖ, были обнаружены феохромоцитомы надпочечников.

Проследить дальнейшую судьбу большинства пациентов, оперированных в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского и других клиниках Москвы и Российской Федерации, чаще всего не представляется возможным. По имеющимся у нас данным, рецидивы с появлением новых опухолей у 9 пациентов с МЭН-1 наблюдались через 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12 и 20 лет после первой операции.

Особенности иммунофенотипа нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, имеющие прогностическое значение

В более ранних работах мы описали значение выявления экспрессии ЦК19 непосредственно в цитоплазме клеток НЭО ПЖ как фактора прогноза менее благоприятного клинического течения заболевания [11, 12]. В настоящей работе мы обобщили значительно более обширный материал и за более длительный период наблюдения. Как видно из табл. 3, НЭО ПЖ с метастазами в общей

группе составили 16,5%. Из НЭО ПЖ, в которых определялся статус экспрессии ЦК19 (233 случая), ЦК19-позитивными были 28,3% опухолей, при этом 54,4% из них составили опухоли с метастазами (по сравнению с 15,5% в общей группе) (рис. 2 А, Б). Наиболее редко метастазы (как правило, в печень) выявлялись при инсулиномах (в 5,7% случаев), 41,2% из которых были ЦК19-позитивными. Чаще всего метастазировали НЭО ПЖ, которые продуцировали эктопические для ПЖ гормоны – гастриномы, «кальцитониномы», АКГГ-продуцирующие опухоли, а также соматостатиномы (хотя этот тип опухолей продуцирует островковый гормон) – в 70,4, 66,7, 100 и 100% соответственно, из них ЦК19-позитивными были 85,2, 66,7, 66,7 и 100% исследованных опухолей. Среди НФ НЭО ПЖ, куда вошли как опухоли без выявленного гормона, так и клинически нефункционирующие «глюкагономы» и «пипомы», метастазы были выявлены в 33,6% случаев, 45,5% из которых были ЦК19-позитивными (см. рис. 2 Б).

Как упоминалось выше, обычно проследить дальнейшую судьбу пациентов после удаления



Таблица 4. Экспрессия цитокератина 19 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы различной степени злокачественности (Grade)

Тип опухоли	ВД НЭО G1	ВД НЭО G2A	ВД НЭО G2B	ВД НЭО G3
Всего	127	87	34	13
НЭО ПЖ с метастазами	1,4 (1/73)	30,7(23/75)	84,4 (27/33)	92,3 (12/13)
НЭО ПЖ с известным ЦК19-статусом	73	75	33	13
ЦК19-позитивные НЭО ПЖ с метастазами	5,2 (1/19)	46,7 (21/45)	83,3 (25/30)	92,3 (12/13)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, ЦК19 – цитокератин 19, ВД НЭО – высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли, ВД НЭО – высокодифференцированные нейроэндокринные карциномы

Таблица 5. Экспрессия рецепторов к соматостатину 2 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

Функциональные типы НЭО ПЖ	ССР 2, абс. (%)	ССР 5, абс. (%)
Инсулиномы (n = 87)	48,3 (42/87)	23,8 (19/80)
Гастриномы (n = 12)	100 (12/12)	63 (7/11)
«Кальцитониномы» (n = 2)	100 (2/2)	0 (0/2)
Соматостатиномы (n = 3)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3)
«Глюкагономы» нефункционирующие (n = 21)	90,5 (19/21)	52,4 (11/21)
«Пипомы» (n = 7)	85,7 (6/7)	25 (1/4)
Нефункционирующие (n = 73)	58,9 (43/73)	24,2 (15/62)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, ССР 2 – рецепторы к соматостатину 2-го типа, ССР 5 – рецепторы к соматостатину 5-го типа

НЭО ПЖ без выявленных метастазов не удаётся. Имеется информация о 9 пациентах с установленным ЦК19-позитивным статусом опухоли, но без выявленных на момент операции метастазов. У них метастазы в печень диагностировали через 2–6 лет после операции. Наши данные свидетельствуют о том, что иммунофенотип НЭО ПЖ с ко-экспрессией в одних и тех же клетках маркеров нейроэндокринной дифференцировки и маркера протоковой дифференцировки ЦК19 является фактором неблагоприятного прогноза и высокого риска метастазирования. Опухоли с подобным иммунофенотипом обладают более злокачественным биологическим потенциалом, чем ЦК19-негативные, поскольку они происходят от менее дифференцированных полипотентных предшественников. Важно отметить, что в НЭО ПЖ никогда не наблюдалось ко-экспрессии

нейроэндокринных маркеров с другим маркером эпителия протоков ПЖ – ЦК7, который характеризует иммунофенотип опухолей ПЖ протокового происхождения (аденокарцином, серозно-кистозных, муцинозно-кистозных и внутрипротоковых папиллярно-муцинозных).

Мы также провели сравнительный анализ экспрессии ЦК19 в НЭО ПЖ разной степени злокачественности (Grade) (табл. 4). Часть случаев в нашей выборке относились к тому периоду времени, когда еще не применяли современную систему градирования с обязательным определением индекса Ki-67, поэтому они были исключены из анализа. По нашему мнению, группа ВД НЭО ПЖ G2 в классификации ВОЗ, 2017 [4] слишком обширная и включает разные по прогнозу и клиническому течению опухоли с очень широким интервалом пороговых значений индекса Ki-67 – от 3 до 20%. Мы условно разделили ее на 2 подгруппы: ВД G2A с Ki-67 до 10% и ВД G2B с Ki-67 от 10 до 20%. Из табл. 4 видно, что метастазы были выявлены в 1,4% ВД НЭО ПЖ G1, в 30,7% ВД НЭО G2A, но уже в 84,4% ВД НЭО G2B и в 92,3% ВД НЭО G3.

Обобщая полученные в этом разделе данные, можно сделать следующие выводы:

1) ЦК19-позитивный статус НЭО ПЖ обычно ассоциируется с более злокачественным биологическим потенциалом (Grade) опухоли, что позволяет рассматривать его как фактор прогноза неблагоприятного клинического течения заболевания с высокой вероятностью наличия метастазов, даже если они не были выявлены на момент удаления опухоли;

2) фактором неблагоприятного прогноза клинического течения НЭО ПЖ является продукция опухолью эктопических для ПЖ гормонов – гастрин, кальцитонин, АКТГ, а также соматостатин;

3) исследование иммунофенотипа опухолевых клеток позволяет значительно более точно определять степень дифференцировки НЭО ПЖ, чем это возможно при рутинном гистологическом исследовании препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином.

Экспрессии рецепторов к соматостатину 2 и 5-го типа в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

Установлено, что выявление экспрессии ССР 2 и ССР 5 на мембране клеток НЭО, в том числе НЭО ПЖ, тесно коррелирует с терапевтическим эффектом от применения аналогов соматостатина, которые блокируют эти рецепторы



на опухолевых клетках. Данные табл. 5 указывают на то, что гастриномы, «кальцитониномы», «глюкагономы», «пипомы» и соматостатиномы характеризуются высоким статусом экспрессии рецепторов ССР 2 (100, 100, 90,5, 85,7, 66,7% соответственно) (см. рис. 1 Ж). Реже ССР 2 экспрессировали клетки НФ НЭО, еще реже инсулином (58,9 и 48,3% соответственно). Экспрессия ССР 5 в НЭО ПЖ наблюдалась реже, чем ССР 2, преимущественно в соматостатиномах, гастриномах и «глюкагономах» (66,7, 63 и 52,4% соответственно) и редко в других типах опухолей (25% и менее). Таким образом, определение статуса экспрессии ССР 2 и ССР 5 – значимый параметр для выбора адекватной терапии, особенно в случае прогрессирующих опухолей с метастатическим поражением печени и отдаленными метастазами, когда нельзя выполнить радикальную операцию. Такие пациенты, с позитивным статусом ССР, получают аналоги соматостатина. Это позволяет продлить им жизнь и существенно улучшить ее качество на годы. Ранее мы опубликовали данные, согласно которым интенсивная экспрессия ССР 2 наиболее часто наблюдалась в менее дифференцированных вариантах НЭО ПЖ – G2B и G3 [13] (см. рис. 1 Ж). Следовательно, с увеличением степени злокачественности ВД НЭО ПЖ экспрессия этих рецепторов не уменьшалась, а во многих случаях даже увеличивалась, что очень важно учитывать при разработке тактики лечения пациентов с такими опухолями.

Экспрессия тканеспецифических маркеров PDX-1, Isl-1 и NESP-55 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

В последнее время в качестве тканеспецифических маркеров НЭО ПЖ предложен целый набор маркеров, в том числе PDX-1, Isl-1 и NESP-55. В нашей работе PDX-1-позитивными были 86,3% (82/95) исследованных НЭО ПЖ, в том числе все соматостатиномы (3/3, 100%), большинство инсулином (37/38, 97,4%) (рис. 2 Г), гастрином (12/13, 92,3%) (рис. 2 В), «пипом» (5/6, 83,3%) и НФ НЭО (20/25, 80%). PDX-1-негативными были все «кальцитониномы» (2/2, 100%) и больше половины «глюкагоном» (4/7, 57,1%). Учитывая достаточно высокую специфичность PDX-1 для НЭО ПЖ, выявление его экспрессии в метастазах НЭО без известного первичного очага позволяло с большой вероятностью предположить происхождение первичной опухоли из ПЖ. В 13 из 28 случаев наше предположение подтвердилось, и у пациентов были верифицированы 3 гастриномы, 3 инсулиномы, 1 соматостатинома,

1 «пипома» и 5 НФ НЭО ПЖ. Экспрессию Isl-1 и NESP-55 мы изучали на более ограниченном материале. Иммунореактивными к этим маркерам были 83,3% (15/18) и 90,9% (10/11) исследованных НЭО ПЖ соответственно (рис. 2 Д, Е). Экспрессия всех трех исследованных маркеров обычно имела ядерную локализацию, только в инсулиномах экспрессия PDX-1 чаще всего была ядерно-цитоплазматической (рис. 2 Г).

Таким образом, все три маркера обладают достаточно высокой специфичностью для НЭО ПЖ и могут быть включены в расширенную ИГХ-панель для дифференциальной диагностики при определении локализации первичной опухоли по метастазам НЭО без выявленного первичного очага.

Обсуждение

По нашим данным, НЭО ПЖ в 2,3 раза чаще встречались у женщин, чем у мужчин (2,3:1). Исследователи обычно публикуют анализ встречаемости НЭО вне зависимости от их локализации, одни авторы отмечают небольшое преобладание женщин (52,7%), у других пропорция между женщинами и мужчинами равная [2, 6]. Возраст манифестации НЭО ПЖ обычно варьирует в широком диапазоне: у нас – от 2 месяцев до 80 лет, в работе L.H. Tang и соавт. [6] – от 13 до 81 года.

Частота клинически выявляемых НЭО ПЖ составляет 4–12 на 1 млн, но как случайные находки на аутопсиях они обнаруживаются значительно чаще – до 1% случаев [4]. На редкие типы НЭО ПЖ – випомы, соматостатиномы, АКГТ-продуцирующие, «кальцитониномы», карциноиды приходится по 1–2% всех НЭО ПЖ [14], что мало отличается от наших данных (по 0,6%). По данным J.Y. Kim и соавт. [15], на НФ НЭО ПЖ приходится 55,3% НЭО этого органа, в их число входят опухоли, секретирующие панкреатический полипептид, кальцитонин, нейротензин и некоторые другие, которые обычно не вызывают явно выраженных эндокринных синдромов. В нашей работе доля НФ НЭО ПЖ составила 31,5%, в том числе опухоли без выявленного гормона – 28,5%, еще 0,6% – «кальцитониномы». Вместе с тем в большинстве исследований НФ НЭО ПЖ составили более половины всех НЭО этого органа. Это представляется весомым основанием, чтобы сделать вывод о том, что часть НФ НЭО ПЖ вообще не диагностируется или при их выявлении ставится ошибочный диагноз, в частности аденокарциномы, с чем мы постоянно сталкиваемся в своей повседневной консультативной практике.



В 10–30% случаев ВД НЭО ПЖ возникают в рамках наследственного синдрома МЭН-1 [3, 4], среди них преобладают клинически нефункционирующие опухоли. Вероятность возникновения рецидивов с образованием новых опухолей особенно высока у пациентов с МЭН-1, а у 15–30% из них развиваются синхронные и метасинхронные опухоли разных типов [14]. Согласно нашим данным, в общей группе пациентов синдром МЭН-1 был клинически и/или генетически подтвержден в 11,9% случаев, а среди молодых пациентов (до 30 лет) – в 30,8% случаев, то есть почти втрое чаще. У этих пациентов чаще встречались и множественные опухоли, которые у них либо уже имелись на момент операции, либо возникли через 7–18 лет после нее. Кроме поражения характерной триады органов (паращитовидных желез, гипофиза и ПЖ) у них встречались НЭО двенадцатиперстной кишки, желудка и легких, а также опухоли иного гистогенетического происхождения – папиллярный рак щитовидной железы, гастроинтестинальная стромальная опухоль желудка и двенадцатиперстной кишки, рак желудка. В настоящее время пациентов с НЭО ПЖ редко целенаправленно обследуют на наличие у них наследственных синдромов, поэтому частота МЭН-1 в популяции, особенно среди молодых пациентов, недооценена.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что НЭО ПЖ, продуцирующие эктопические для этого органа гормоны (гастрин, кальцитонин, АКТГ), являются менее дифференцированными опухолями с более агрессивным клиническим течением, чем те, которые продуцируют гормоны, в норме присутствующие в клетках эндокринных островков. Это согласуется с работами других авторов, которые делают вывод о том, что большинство редких НЭО ПЖ обладают более злокачественным потенциалом, чем, например, инсулиномы, они обычно метастазируют в печень, а пятилетняя выживаемость пациентов с подобными локализованными опухолями составляет 60–100%, с регионарными – 40%, а с отдаленными метастазами – не более 29% [14]. Исключение из правила о НЭО ПЖ с «эктопической» продукцией гормонов – соматостатиномы, высокий злокачественный потенциал которых еще требует своего объяснения.

Большинство НЭО ПЖ относятся к G1 и G2 с очень медленным ростом и достаточно благоприятным прогнозом. Но многолетний опыт наблюдения пациентов с подобными опухолями говорит о том, что, несмотря на их медленный рост, метастазы могут проявляться через

многие годы и даже десятилетия после операции. Низкодифференцированные варианты НЭК ПЖ (мелкоклеточные и крупноклеточные) встречаются сравнительно редко [8, 16]. В исследовании L.H. Tang и соавт. [6] среди них преобладает крупноклеточный вариант (61%). По клиническому течению эти два типа НЭК ПЖ практически не отличаются от соответствующих аналогов в легких, где они встречаются значительно чаще. По подходам к лечению НЭК ПЖ консенсуса в настоящее время не существует, а выживаемость при этих типах опухолей низкая. Так, есть публикации, где выживаемость 75% пациентов с мелкоклеточными НЭК и 50% с крупноклеточными НЭК ПЖ не превышает 12 месяцев [17], составляет $18,6 \pm 35$ месяцев (от 1 до 120 месяцев) [6]. Другие авторы пишут о том, что пятилетняя выживаемость пациентов с НЭК ПЖ на разных стадиях заболевания не превышает 60 месяцев с момента установления диагноза, а основным фактором ее увеличения является радикальность выполненной операции [14]. Эти опухоли, как правило, нечувствительны к любой известной в наши дни терапии, большинство пациентов погибают от прогрессирования заболевания и/или обширного метастазирования. Сегодня деление НЭК ПЖ на мелкоклеточные и крупноклеточные не имеет важного клинического значения, но активно проводимые молекулярно-генетические исследования без сомнения позволят в ближайшем будущем разработать новые и более успешные лечебные подходы к ведению таких пациентов.

Важный аспект изучения НЭО ПЖ – морфологическое исследование с определением степени злокачественности опухолей и прогнозированием клинического течения заболевания. Решающим параметром при определении степени злокачественности опухоли является ее биологический потенциал, то есть степень дифференцировки опухолевых клеток. Источником возникновения большинства опухолей становятся недифференцированные полипотентные клетки, идентифицированные во многих тканях организма взрослого человека. Выделяют два типа полипотентных клеток: немногочисленную популяцию долгоживущих элементов с высоким потенциалом пролиферации и дифференцировки (истинные стволовые клетки) и более многочисленную популяцию короткоживущих элементов (коммитированные тканевые предшественники), которые происходят от первых и способны к дифференцировке в зрелые клеточные элементы со специфическими тканевыми



функциями. В ПЖ эту функцию выполняет эпителий протоков [18]. Эндокринные клетки в эмбриогенезе ПЖ происходят от тканевых предшественников. В них сочетаются признаки протоковой и эндокринной дифференцировки. Доказано, что эти предшественники эндокринных клеток способны продуцировать сразу несколько гормонов, включая не свойственные в норме островковым клеткам ПЖ: гастрин, АКТГ, кальцитонин и ряд других [19]. На конечных стадиях дифференцировки эндокринные клетки ПЖ становятся моногормональными, то есть могут продуцировать только один островковый гормон. Тканевые полипотентные клетки играют ключевую роль в процессах физиологической и репаративной регенерации, но при определенных условиях они могут направляться по пути неопластической трансформации. Полипотентные клетки ПЖ под воздействием микроокружения и посредством клеточно-клеточных и клеточно-матриксных взаимодействий могут дифференцироваться в различных направлениях, и все этапы этого процесса четко координируются клеточным геномом.

К ключевым механизмам такой координации и дифференцировки в разные типы эпителия относятся перестройку промежуточных филаментов цитоскелета эпителиальных клеток – цитокератинов. У эмбрионов человека вплоть до 28-й недели внутриутробного развития ЦК7 и 19 экспрессируют все клетки ПЖ, а на более поздних стадиях развития и во взрослом организме – только клетки протокового эпителия [18]. На различных экспериментальных моделях было доказано, что на определенных этапах дифференцировки полипотентных клеток в эндокринные клетки в них наблюдается ко-экспрессия ЦК19 и нейроэндокринных маркеров. Логично было бы предположить, что НЭО ПЖ, в иммунофенотипе которых наблюдается ко-экспрессия ЦК19 и нейроэндокринных маркеров, являются менее дифференцированными, чем опухоли с ЦК19-негативным иммунофенотипом. В настоящей работе ЦК19-позитивными были 28,3% опухолей, 54,4% из них составили опухоли с метастазами (по сравнению с 15,5% в общей группе). Наиболее редко метастазы в печень выявлялись при инсулиномах (в 5,7% случаев), но 41,2% из них были ЦК19-позитивными. Наиболее часто метастазировали НЭО ПЖ, продуцировавшие «эктопические» для ПЖ гормоны – гастриномы, «кальцитониномы», АКТГ-продуцирующие опухоли, а также соматостатиномы, – в 70,4, 66,7, 100 и 100% соответственно, из них ЦК19-позитивными были

85,2, 66,7, 66,7 и 100% исследованных опухолей. Наши данные указывают на то, что иммунофенотип НЭО ПЖ с ко-экспрессией в одних и тех же клетках маркеров нейроэндокринной дифференцировки и маркера протоковой дифференцировки ЦК19 является фактором неблагоприятного прогноза и высокого риска метастазирования. Метастазы были выявлены в 1,4% ВД НЭО ПЖ G1, в 30,7% ВД НЭО G2A, но уже в 84,4% ВД НЭО G2B и в 92,3% НД НЭК G3. По мнению R. Jain и соавт. [20], экспрессия ЦК19 – независимый фактор прогноза НЭО ПЖ. Данные, ранее опубликованные нами [11, 12], и данные, представленные в настоящей работе, убедительно доказывают, что экспрессия ЦК19 в НЭО ПЖ – фактор менее благоприятного прогноза и высокого риска метастазирования. Это позволяет сформулировать очень важный вывод: ИГХ-характеристика иммунофенотипа опухоли значительно точнее отражает степень ее дифференцировки, позволяет выявить менее дифференцированные варианты НЭО ПЖ и более объективно сформулировать прогноз клинического течения заболевания, чем это возможно определить при рутинном гистологическом исследовании.

К самым значимым факторам прогноза НЭО ПЖ относятся TNM стадия, нерадикальность выполненной операции, наличие метастазов, особенно в печень, а при прочих равных условиях – биологический потенциал опухоли, или Grade, который определяется по величине индекса митотического деления клеток и индекса пролиферации Ki-67. Определение этих индексов в НЭО ЖКТ и ПЖ в соответствии с классификацией ВОЗ признано золотым стандартом при оценке риска прогрессирования НЭО ПЖ, выборе тактики лечения и оценке эффективности химиотерапии. В связи со сказанным не вызывает сомнения, насколько важно правильно дифференцировать ВД НЭО G3 от НД НЭК G3. Проблемы, возникающие при диагностике этих двух типов опухолей, прежде всего обусловлены тем, что для них установлены почти одинаковые пороговые значения индекса пролиферации Ki-67 [6, 8], хотя они существенно отличаются по прогнозу и клиническому течению заболевания. Тактика дальнейшего ведения пациентов с НЭО G3 и НЭК G3 все больше становится индивидуализированной и зависит от наличия в каждой конкретной опухоли специфических клеточных мишеней, спектр которых с каждым днем становится все шире. Данные, полученные в настоящем исследовании, говорят о том, что клетки большинства «кальцитонином», «глюкагоном»,



«пипом» и соматостатином характеризуются высоким статусом экспрессии ССР 2 (100, 90,5, 85,7, 66,7% соответственно), реже эти рецепторы экспрессировали клетки НФ НЭО и инсулиномы (58,9 и 48,3% соответственно). Как мы показали ранее [13], в большинстве менее дифференцированных вариантов ВД НЭО ПЖ G2B и НЭО G3 (66,7 и 83,3% соответственно) с увеличенным индексом пролиферации (с Ki-67 более 10%) также имеется достаточно высокий уровень экспрессии ССР 2. Следовательно, с возрастанием степени злокачественности ВД НЭО ПЖ экспрессия этих рецепторов во многих случаях увеличивалась, что чрезвычайно важно учитывать при разработке тактики лечения пациентов с такими опухолями. Это служит серьезным обоснованием эффективности использования аналогов соматостатина для лечения пациентов с подобными опухолями.

В настоящее время целенаправленная терапия четко адаптирована к соответствующей локализации НЭО, поэтому определение происхождения метастазов НЭО без известного первичного очага становится все более важной и актуальной задачей. Установление морфологического диагноза ВД и НД НЭО ПЖ на небольшом материале диагностической биопсии из ПЖ или из метастатического очага НЭО без известной первичной локализации часто связано с большими сложностями. Для решения этой задачи необходимо использовать самый современный алгоритм ИГХ-исследования, который обычно позволяет не только подтвердить нейроэндокринную дифференцировку метастазов, но и определить локализацию первичной опухоли [21]. Это имеет большое значение для определения объема оперативного вмешательства и для выбора оптимальной схемы терапии в неоперабельных случаях.

Для включения в ИГХ-алгоритм дифференциальной диагностики метастазов НЭО ПЖ от НЭО других локализаций были предложены различные панели маркеров: Isl-1, PAX8, NESP-55, NKX2.2, PDX-1, TTF1, CDX2. J. Коо и соавт. [22] рекомендовали четырехмаркерную панель: Isl-1, NKX6-1, PAX8, TTF1 и CDX2, где в качестве специфических для диагностики НЭО ПЖ выступали Isl-1 и PAX8. Транскрипционный фактор Isl-1 (Islet-1, инсулинсвязывающий протеин) участвует в дифференцировке нейроэндокринных клеток ПЖ. По разным данным, его экспрессия наблюдалась в 77 [23], 78,4 [24] и 82% [22] НЭО ПЖ. В работе G. Hermann и соавт. [25] экспрессия Isl-1 отмечена во всех исследованных

инсулиномах, «гликоагономах», соматостатинамах и большинстве гастрином (78%). Позже исключительная гипотетическая ценность Isl-1 как маркера, специфичного только для НЭО ПЖ, не подтвердилась, а его экспрессия была выявлена в некоторых типах НЭО вне панкреатической локализации – карциномах Меркеля, медуллярном раке щитовидной железы, мелкоклеточной НЭК легких, парагангиомах/феохромоцитомах и нейробластомах надпочечников, а также в некоторых других типах опухолей [26]. I.C. Tseng и соавт. [27] для выявления метастазов НЭО ПЖ предложили другую панель – NKX6-1, CDX2, TTF1 и Isl-1. Здесь в качестве маркера НЭО ПЖ выступал транскрипционный фактор NKX6-1, поскольку он играет критическую роль в дифференцировке бета-клеток эндокринных островков ПЖ. Экспрессия этого маркера наблюдалась в 82% ВД НЭО ПЖ и в 67% НЭО двенадцатиперстной кишки, но почти не встречалась в НЭО других локализаций. Для диагностики ВД НЭО ПЖ был предложен еще один маркер – секреторный нейроэндокринный протеин-55 (NESP-55), один из членов семейства хромогранinov. A. Srivastava и соавт. [28] показали, что экспрессия этого маркера наблюдалась в большинстве НЭО ПЖ и во всех исследованных феохромоцитомах надпочечников. Экспрессию Isl-1 и NESP-55 мы изучали на более ограниченном материале. Мы получили выраженную иммунореактивность к Isl-1 и NESP-55 в 83,3 и 90,9% исследованных НЭО ПЖ соответственно.

В последнее время очень перспективным маркером НЭО ПЖ считают фактор транскрипции PDX-1 (панкреатодуоденальный гомеобокс 1, или инсулинпромоторный фактор 1). Значение PDX-1 впервые было установлено на мышиных эмбрионах, а позже было доказано, что этот фактор – один из ключевых регуляторов дифференцировки тканей ПЖ в эмбриогенезе человека, а мутации, возникающие в гене, кодирующем этот фактор, приводят к грубым функциональным нарушениям работы данного органа. PDX-1 играет очень важную роль в регуляции экспрессии генов, ответственных за секрецию инсулина, а также в дифференцировке эндокринной и экзокринной ткани ПЖ. Это один из самых ранних из известных транскрипционных факторов, маркер «стволовых» клеток-предшественниц ПЖ [29]. В нашей группе исследованных опухолей PDX-1-позитивными были 86,3% НЭО ПЖ, в том числе все соматостатиномы (100%), большинство инсулином (97,4%), гастрином (92,3%), «пипом» (83,3%) и НФ НЭО (80%), а PDX-1-негативными – все «кальцитонинины» и больше половины



«глюкагоном» (57,1%). Учитывая такую высокую специфичность PDX-1 для НЭО ПЖ, выявление его экспрессии в метастазах НЭО без известного первичного очага позволяет с большой вероятностью предположить происхождение первичной опухоли из ПЖ. В исследовании G. Hermann и соавт. [25] PDX-1-позитивными были 90% инсулином, 17 из 18 гастрином, 3 из 9 соматостатином, но все «глюкагономы» были к нему негативными. Yang Z. и соавт. [23], напротив, показали, что экспрессия PDX-1 наблюдалась лишь в небольшом числе НЭО ПЖ, поэтому авторы не рекомендуют использовать этот маркер для дифференцировки метастазов НЭО ПЖ. Полученные нами результаты противоречат этим выводам и свидетельствуют о высокой специфичности данного маркера для дифференциальной диагностики как НЭО ПЖ, так и их метастазов. Расхождения в результатах, полученных в разных исследованиях, часто объясняются целым рядом причин: неоднородными выборками опухолей (по нашим данным, «глюкагономы», «кальцитониномы» и некоторые НФ НЭО ПЖ также могут быть негативными к этому маркеру), использованием различных по чувствительности и специфичности антител.

Одним из самых перспективных направлений в лечении НЭО считается выявление в их клетках новых молекулярных мишеней и маркеров лекарственной чувствительности. В ряду специфических рецепторов и ферментов, отражающих чувствительность опухоли к лекарственному лечению (биотерапии, химиотерапии и таргетным препаратам), активно изучаются тимилактатсинтетазы (TS), mTOR, ген *MGMT* и некоторые другие. Данные о зависимости между молекулярным профилем опухоли и ответом на лечение сегодня только накапливаются, но очевидно, что в ближайшем будущем эта информация приобретет важное практическое значение. Все больше внимания уделяется разработке так называемой молекулярной классификации НЭО.

Она дополнит и уточнит гистологическую классификацию и тем самым поможет выбрать оптимальную терапевтическую стратегию.

Выводы и практические рекомендации

1. Только комплексное морфологическое и ИГХ-исследование НЭО ПЖ с анализом клинических данных и анамнеза пациентов может позволить в большинстве случаев правильно поставить диагноз, оценить прогноз и правильно выбрать наиболее эффективное лечение. Это особенно важно, поскольку большинство пациентов – люди моложе 50 лет, при этом многие – моложе 30. При своевременно поставленном диагнозе эти пациенты живут долго, а подавляющее большинство из них после радикальной операции полностью излечиваются.
2. Злокачественный потенциал НЭО ПЖ (Grade) в большой степени зависит от иммунофенотипа клеток, и он выше при ко-экспрессии в них нейроэндокринных маркеров и ЦК19, а также при эктопической продукции гормонов, не свойственных островковым клеткам ПЖ (гастрина, АКТГ и других).
3. В большинстве НЭО ПЖ наблюдается выраженная экспрессия ССР 2, а по мере увеличения степени злокачественности опухолей экспрессия этих рецепторов часто даже возрастает, что очень важно учитывать при разработке тактики лечения пациентов.
4. В настоящее время выбор терапии НЭО ПЖ зависит от локализации НЭО, поэтому определение происхождения метастазов НЭО без известного первичного очага становится все более значимой и актуальной задачей. Для ее решения необходимо использовать самый современный алгоритм ИГХ-исследования, который обычно позволяет не только подтвердить нейроэндокринную дифференцировку метастазов, но и с помощью тканеспецифических маркеров определить локализацию первичной опухоли. ☺

Конфликт интересов

Л.Е. Гуревич за прошедшие до публикации 36 месяцев выступала с лекциями от компании «Ипсен». И.А. Казанцева декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с написанием данной статьи.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Литература

1. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26(18):3063–72. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4377.
2. Dasari A, Shen C, Halperin D, Zhao B, Zhou S, Xu Y, Shih T, Yao JC. Trends in the incidence, prevalence, and survival outcomes in patients with neuroendocrine tumors in the United States. *JAMA Oncol.* 2017;3(10):1335–42. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.0589.
3. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. In: World Health Organization classification of tumours. 4th edition. Vol. 3. Lyon: IARC Press; 2010. 417 p.
4. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. World Health Organization classification of tumours of endocrine organs. In: World Health Organization classification of tumours. 4th edition. Vol. 10. Lyon: IARC Press; 2017. 355 p.
5. Nasir A, Coppola D, editors. Neuroendocrine tumors: review of pathology, molecular and therapeutic advances. New York: Springer-Verlag; 2016. 543 p. doi: 10.1007/978-1-4939-3426-3.
6. Tang LH, Basturk O, Sue JJ, Klimstra DS. A practical approach to the classification of WHO Grade 3 (G3) well-differentiated neuroendocrine tumor (WD-NET) and poorly differentiat-



- ed neuroendocrine carcinoma (PD-NEC) of the pancreas. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(9):1192–202. doi: 10.1097/PAS.0000000000000662.
7. Konukiewicz B, Schlitter AM, Jesinghaus M, Pfister D, Steiger K, Segler A, Agaimy A, Sipos B, Zamboni G, Weichert W, Esposito I, Pfarr N, Klöppel G. Somatostatin receptor expression related to TP53 and RB1 alterations in pancreatic and extrapancreatic neuroendocrine neoplasms with a Ki67-index above 20. *Mod Pathol.* 2017;30(4):587–98. doi: 10.1038/modpathol.2016.217.
 8. Basturk O, Yang Z, Tang LH, Hruban RH, Adsay V, McCall CM, Krasinskas AM, Jang KT, Frankel WL, Balci S, Sigel C, Klimstra DS. The high-grade (WHO G3) pancreatic neuroendocrine tumor category is morphologically and biologically heterogeneous and includes both well differentiated and poorly differentiated neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):683–90. doi: 10.1097/PAS.0000000000000408.
 9. de Wilde RF, Heaphy CM, Maitra A, Meeker AK, Edil BH, Wolfgang CL, Ellison TA, Schulick RD, Molenaar IQ, Valk GD, Vriens MR, Borel Rinkes IH, Offerhaus GJ, Hruban RH, Matsukuma KE. Loss of ATRX or DAXX expression and concomitant acquisition of the alternative lengthening of telomeres phenotype are late events in a small subset of MEN-1 syndrome pancreatic neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 2012;25(7):1033–9. doi: 10.1038/modpathol.2012.53.
 10. 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.
 11. Гуревич ЛЕ, Казанцева ИА, Калинин АП, Егоров АВ, Богатырев ОП, Бородастая ЕВ, Бритвин ТА, Лобаков АП, Кубышкин ВА, Кочатков АВ, Майстренко НА, Басос СФ, Евменова ТД. Морфологические критерии злокачественности нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы (30-летний опыт). *Анналы хирургии.* 2007;(3):41–6.
 12. Gurevich L, Kazantseva I, Isakov VA, Korsakova N, Egorov A, Kubishkin V, Bulgakov G. The analysis of immunophenotype of gastrin-producing tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Cancer.* 2003;98(9):1967–76. doi: 10.1002/cncr.11739.
 13. Гуревич ЛЕ, Корсакова НА, Воронкова ИА, Ашевская ВЕ, Титов АГ, Когония ЛМ, Егоров АВ, Бритвин ТА, Васильев ИА. Иммуногистохимическое определение экспрессии рецепторов к соматостатину 1, 2А, 3 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях различной локализации и степени злокачественности. *Альманах клинической медицины.* 2016;44(4):378–90. doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-378-390.
 14. O'Toole D, Salazar R, Falconi M, Kaltsas G, Couvelard A, de Herder WW, Hyrdel R, Nikou G, Krenning E, Vullierme MP, Caplin M, Jensen R, Eriksson B; Frascati Consensus Conference; European Neuroendocrine Tumor Society. Rare functioning pancreatic endocrine tumors. *Neuroendocrinology.* 2006;84(3):189–95. doi: 10.1159/000098011.
 15. Kim JY, Kim MS, Kim KS, Song KB, Lee SH, Hwang DW, Kim KP, Kim HJ, Yu E, Kim SC, Jang HJ, Hong SM. Clinicopathologic and prognostic significance of multiple hormone expression in pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):592–601. doi: 10.1097/PAS.0000000000000383.
 16. Brenner B, Shah MA, Gonen M, Klimstra DS, Shia J, Kelsen DP. Small-cell carcinoma of the gastrointestinal tract: a retrospective study of 64 cases. *Br J Cancer.* 2004;90(9):1720–6. doi: 10.1038/sj.bjc.6601758.
 17. Yachida S, Vakiani E, White CM, Zhong Y, Saunders T, Morgan R, de Wilde RF, Maitra A, Hicks J, Demarzo AM, Shi C, Sharma R, Laheru D, Edil BH, Wolfgang CL, Schulick RD, Hruban RH, Tang LH, Klimstra DS, Iacobuzio-Donahue CA. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):173–84. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182417d36.
 18. Bouwens L. Cytokeratins and cell differentiation in the pancreas. *J Pathol.* 1998;184(3):234–9. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199803)184:3<234::AID-PATH28>3.0.CO;2-D.
 19. Teitelman G, Alpert S, Polak JM, Martinez A, Hannah D. Precursor cells of mouse endocrine pancreas coexpress insulin, glucagon and the neuronal proteins tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y, but not pancreatic polypeptide. *Development.* 1993;118(4):1031–9.
 20. Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(1):9–15. doi: 10.1097/PAI.0b013e3181ad36ea.
 21. Bellizzi AM. Assigning site of origin in metastatic neuroendocrine neoplasms: a clinically significant application of diagnostic immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol.* 2013;20(5):285–314. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182a2dc67.
 22. Koo J, Mertens RB, Mirocha JM, Wang HL, Dhall D. Value of Islet 1 and PAX8 in identifying metastatic neuroendocrine tumors of pancreatic origin. *Mod Pathol.* 2012;25(6):893–901. doi: 10.1038/modpathol.2012.34.
 23. Yang Z, Klimstra DS, Hruban RH, Tang LH. Immunohistochemical characterization of the origins of metastatic well-differentiated neuroendocrine tumors to the liver. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(7):915–22. doi: 10.1097/PAS.0000000000000876.
 24. Schmitt AM, Riniker F, Anlauf M, Schmid S, Soltermann A, Moch H, Heitz PU, Klöppel G, Komminoth P, Perren A. Islet 1 (Isl1) expression is a reliable marker for pancreatic endocrine tumors and their metastases. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(3):420–5. doi: 10.1097/PAS.0b013e318158a397.
 25. Hermann G, Konukiewicz B, Schmitt A, Perren A, Klöppel G. Hormonally defined pancreatic and duodenal neuroendocrine tumors differ in their transcription factor signatures: expression of ISL1, PDX1, NGN3, and CDX2. *Virchows Arch.* 2011;459(2):147–54. doi: 10.1007/s00428-011-1118-6.
 26. Agaimy A, Erlenbach-Wünsch K, Konukiewicz B, Schmitt AM, Rieker RJ, Vieth M, Kiewewetter F, Hartmann A, Zamboni G, Perren A, Klöppel G. ISL1 expression is not restricted to pancreatic well-differentiated neuroendocrine neoplasms, but is also commonly found in well and poorly differentiated neuroendocrine neoplasms of extrapancreatic origin. *Mod Pathol.* 2013;26(7):995–1003. doi: 10.1038/modpathol.2013.40.
 27. Tseng IC, Yeh MM, Yang CY, Jeng YM. NKX6-1 Is a Novel Immunohistochemical Marker for Pancreatic and Duodenal Neuroendocrine Tumors. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(6):850–7. doi: 10.1097/PAS.0000000000000435.
 28. Srivastava A, Padilla O, Fischer-Colbrie R, Tischler AS, Dayal Y. Neuroendocrine secretory protein-55 (NESP-55) expression discriminates pancreatic endocrine tumors and pheochromocytomas from gastrointestinal and pulmonary carcinoids. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(10):1371–8.
 29. Ma J, Chen M, Wang J, Xia HH, Zhu S, Liang Y, Gu Q, Qiao L, Dai Y, Zou B, Li Z, Zhang Y, Lan H, Wong BC. Pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX1) functions as a tumor suppressor in gastric cancer. *Carcinogenesis.* 2008;29(7):1327–33. doi: 10.1093/carcin/bgn112.

References

1. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26(18):3063–72. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4377.
2. Dasari A, Shen C, Halperin D, Zhao B, Zhou S, Xu Y, Shih T, Yao JC. Trends in the incidence, prevalence, and survival outcomes in patients with neuroendocrine tumors in the United



- States. *JAMA Oncol.* 2017;3(10):1335–42. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.0589.
3. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. In: World Health Organization classification of tumours. 4th edition. Vol. 3. Lyon: IARC Press; 2010. 417 p.
4. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. World Health Organization classification of tumours of endocrine organs. In: World Health Organization classification of tumours. 4th edition. Vol. 10. Lyon: IARC Press; 2017. 355 p.
5. Nasir A, Coppola D, editors. Neuroendocrine tumors: review of pathology, molecular and therapeutic advances. New York: Springer-Verlag; 2016. 543 p. doi: 10.1007/978-1-4939-3426-3.
6. Tang LH, Basturk O, Sue JJ, Klimstra DS. A practical approach to the classification of WHO Grade 3 (G3) well-differentiated neuroendocrine tumor (WD-NET) and poorly differentiated neuroendocrine carcinoma (PD-NEC) of the pancreas. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(9):1192–202. doi: 10.1097/PAS.0000000000000662.
7. Konukiewitz B, Schlitler AM, Jesinghaus M, Pfister D, Steiger K, Segler A, Agaimy A, Sipos B, Zamboni G, Weichert W, Esposito I, Pfarr N, Klöppel G. Somatostatin receptor expression related to TP53 and RB1 alterations in pancreatic and extrapancreatic neuroendocrine neoplasms with a Ki67-index above 20. *Mod Pathol.* 2017;30(4):587–98. doi: 10.1038/modpathol.2016.217.
8. Basturk O, Yang Z, Tang LH, Hruban RH, Adsay V, McCall CM, Krasinskas AM, Jang KT, Frankel WL, Balci S, Sigel C, Klimstra DS. The high-grade (WHO G3) pancreatic neuroendocrine tumor category is morphologically and biologically heterogeneous and includes both well differentiated and poorly differentiated neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):683–90. doi: 10.1097/PAS.0000000000000408.
9. de Wilde RF, Heaphy CM, Maitra A, Meeker AK, Edil BH, Wolfgang CL, Ellison TA, Schulick RD, Molenaar IQ, Valk GD, Vriens MR, Borel Rinkes IH, Offerhaus GJ, Hruban RH, Matsukuma KE. Loss of ATRX or DAXX expression and concomitant acquisition of the alternative lengthening of telomeres phenotype are late events in a small subset of MEN-1 syndrome pancreatic neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 2012;25(7):1033–9. doi: 10.1038/modpathol.2012.53.
10. 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.
11. Gurevich LE, Kazantseva IA, Kalinin AP, Egorov AV, Bogatyrev OP, Borodataya EV, Britvin TA, Lobakov AP, Kubyshev VA, Kochatkov AV, Maystrenko NA, Basos SF, Evmenova TD. Morphological criteria of malignancy grade in pancreatic neuroendocrine tumors: a 30-years' experience. *Annaly Khirurgii.* 2007;(3):41–6. Russian.
12. Gurevich L, Kazantseva I, Isakov VA, Korsakova N, Egorov A, Kubishkin V, Bulgakov G. The analysis of immunophenotype of gastrin-producing tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Cancer.* 2003;98(9):1967–76. doi: 10.1002/cncr.11739.
13. Gurevich L, Korsakova NA, Voronkova IA, Ashevskaya VE, Titov AG, Kogoniya LM, Egorov AV, Britvin TA, Vasil'ev IA. Immunohistochemical determination of expression of somatostatin receptors types 1, 2A, 3 and 5 in neuroendocrine tumors of various localization and grade. *Almanac of Clinical Medicine.* 2016;44(4):378–90. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-378-390.
14. O'Toole D, Salazar R, Falconi M, Kaltsas G, Couvelard A, de Herder WW, Hyrdel R, Nikou G, Krenning E, Vullierme MP, Caplin M, Jensen R, Eriksson B; Frascati Consensus Conference; European Neuroendocrine Tumor Society. Rare functioning pancreatic endocrine tumors. *Neuroendocrinology.* 2006;84(3):189–95. doi: 10.1159/000098011.
15. Kim JY, Kim MS, Kim KS, Song KB, Lee SH, Hwang DW, Kim KP, Kim HJ, Yu E, Kim SC, Jang HJ, Hong SM. Clinicopathologic and prognostic significance of multiple hormone expression in pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):592–601. doi: 10.1097/PAS.0000000000000383.
16. Brenner B, Shah MA, Gonen M, Klimstra DS, Shia J, Kelsen DP. Small-cell carcinoma of the gastrointestinal tract: a retrospective study of 64 cases. *Br J Cancer.* 2004;90(9):1720–6. doi: 10.1038/sj.bjc.6601758.
17. Yachida S, Vakiani E, White CM, Zhong Y, Saunders T, Morgan R, de Wilde RF, Maitra A, Hicks J, Demarzo AM, Shi C, Sharma R, Laheru D, Edil BH, Wolfgang CL, Schulick RD, Hruban RH, Tang LH, Klimstra DS, Iacobuzio-Donahue CA. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):173–84. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182417d36.
18. Bouwens L. Cytokeratins and cell differentiation in the pancreas. *J Pathol.* 1998;184(3):234–9. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199803)184:3<234::AID-PATH28>3.0.CO;2-D.
19. Teitelman G, Alpert S, Polak JM, Martinez A, Hanahan D. Precursor cells of mouse endocrine pancreas coexpress insulin, glucagon and the neuronal proteins tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y, but not pancreatic polypeptide. *Development.* 1993;118(4):1031–9.
20. Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(1):9–15. doi: 10.1097/PAL.0b013e3181ad36ea.
21. Bellizzi AM. Assigning site of origin in metastatic neuroendocrine neoplasms: a clinically significant application of diagnostic immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol.* 2013;20(5):285–314. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182a2dc67.
22. Koo J, Mertens RB, Mirocha JM, Wang HL, Dhall D. Value of Islet 1 and PAX8 in identifying metastatic neuroendocrine tumors of pancreatic origin. *Mod Pathol.* 2012;25(6):893–901. doi: 10.1038/modpathol.2012.34.
23. Yang Z, Klimstra DS, Hruban RH, Tang LH. Immunohistochemical characterization of the origins of metastatic well-differentiated neuroendocrine tumors to the liver. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(7):915–22. doi: 10.1097/PAS.0000000000000876.
24. Schmitt AM, Riniker F, Anlauf M, Schmid S, Soltermann A, Moch H, Heitz PU, Klöppel G, Komminoth P, Perren A. Islet 1 (Isl1) expression is a reliable marker for pancreatic endocrine tumors and their metastases. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(3):420–5. doi: 10.1097/PAS.0b013e318158a397.
25. Hermann G, Konukiewitz B, Schmitt A, Perren A, Klöppel G. Hormonally defined pancreatic and duodenal neuroendocrine tumors differ in their transcription factor signatures: expression of ISL1, PDX1, NGN3, and CDX2. *Virchows Arch.* 2011;459(2):147–54. doi: 10.1007/s00428-011-1118-6.
26. Agaimy A, Erlenbach-Wünsch K, Konukiewitz B, Schmitt AM, Rieker RJ, Vieth M, Kiewewetter F, Hartmann A, Zamboni G, Perren A, Klöppel G. ISL1 expression is not restricted to pancreatic well-differentiated neuroendocrine neoplasms, but is also commonly found in well and poorly differentiated neuroendocrine neoplasms of extrapancreatic origin. *Mod Pathol.* 2013;26(7):995–1003. doi: 10.1038/modpathol.2013.40.
27. Tseng IC, Yeh MM, Yang CY, Jeng YM. NKX6-1 Is a Novel Immunohistochemical Marker for



Pancreatic and Duodenal Neuroendocrine Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(6):850–7. doi: 10.1097/PAS.0000000000000435.

28. Srivastava A, Padilla O, Fischer-Colbrie R, Tischler AS, Dayal Y. Neuroendocrine secre-

tory protein-55 (NESP-55) expression discriminates pancreatic endocrine tumors and pheochromocytomas from gastrointestinal and pulmonary carcinoids. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(10):1371–8.

29. Ma J, Chen M, Wang J, Xia HH, Zhu S, Liang Y, Gu Q, Qiao L, Dai Y, Zou B, Li Z, Zhang Y, Lan H, Wong BC. Pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX1) functions as a tumor suppressor in gastric cancer. *Carcinogenesis*. 2008;29(7):1327–33. doi: 10.1093/carcin/bgn112.

Current approaches to the morphological diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and prediction of their clinical course based on the analysis of our own database

L.E. Gurevich¹ • I.A. Kazantseva¹

Aim: Combined clinical and morphological analysis of the pancreatic neuroendocrine tumor (pNET) spectrum according to the new World Health Organization classification: patient distribution, hormonal status, morphological grading, somatostatin receptor 2 (SSR2) and 5 (SSR5) expression, the choice of tissue-specific markers for the differential diagnosis of primary NET in the pancreas based on metastases with unknown primary tumor. **Materials and methods:** The study was performed with 472 tissue samples from pNETs taken from patients. Morphological analysis consisted of histological and immunohistochemical examination with a panel of antibodies to chromogranin A, synaptophysin, CD56, insulin, glucagon, somatostatin, gastrin, calcitonin, adrenocorticotropic hormone (ACTH), serotonin, pancreatic polypeptide, cytokeratins (CK) of a wide spectrum, CK7 and CK19, p53, Ki-67, SSR 2 and SSR5, PDX-1, Isl-1, and NESP-55. **Results:** In women, the prevalence of pNETs was 2.3 higher than in men (2.3:1). We were able to identify 299 (63.3%) insulinomas, 134 (28.4%) non-functioning NETs, 28 (5.9%) gastrinomas and 1.8% rare tumors (somatostatinomas, "calcitoninomas" and ACTH-producing). Metastatic tumors were found in 16.5% of the cases. Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1 was confirmed in 11.9% of the pNET patients, and in 30.8% of those aged below 30 years. Multiple tumors (2 to 10) were found in 32 patients by the time of the diagnosis or occurred at 7 to 18 years after initial surgery. 28.3% of the tumors were CK19-positive, with 54.4% of them being metastatic. Insulinomas were least prone to metastasizing (5.7% of the cases), with 41.2% of them being CK19-positive. Metastases were found in 70.4, 66.7,

100, and 100% of gastrinomas, "calcitoninomas", ACTH-producing, and somatostatinomas, respectively, with CK19-positivity found in 85.2, 66.7, 66.7, and 100% of these tumors. SSR2 expression was observed in all gastrinomas and "calcitoninomas", in 90.5% of "glucagonomas", 85.7% of PPomas, and 66.7% of somatostatinomas. SSR5 expression was significantly less frequent. 86.3% of the studied tumors were PDX-1-positive: all somatostatinomas, 97.4% of insulinomas, 92.3% of gastrinomas, 83.3% of PPomas, 80% of the non-functioning NETs. PDX-1-negativity was identified in all "calcitoninomas" and in 57.1% of the non-functioning "glucagonomas". 83.3% and 90.9% of the pNETs were Isl-1 and NESP-55-positive, respectively. **Conclusion:** Combined morphological and immunohistochemical examination of pNETs allows for the correct diagnosis, assessment of their prognosis and choice of the most effective treatment. The malignancy grade of pNETs depends on the cell immunophenotype and is higher in the cases with co-expression of the markers of neuroendocrine and ductal differentiation (CK19), as well as with ectopic hormonal production.

Key words: pancreatic neuroendocrine tumor, malignancy grade, cytokeratin 19, somatostatin receptors, tissue-specific markers

For citation: Gurevich LE, Kazantseva IA. Current approaches to the morphological diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and prediction of their clinical course based on the analysis of our own database. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):298–313. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-298-313.

Received 5 March 2018; accepted 13 June 2018

Larisa E. Gurevich – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy¹

✉ 61/2–13 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 631 74 22. E-mail: larisgur@mail.ru

Irina A. Kazantseva – MD, PhD, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy¹

Conflict of interests

L.E. Gurevich reports that she has read lectures for Ipsen. I.A. Kazantseva reports no conflict of interest relevant to this article.

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