

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της χρωμογρανίνης-A και της α_1 -αντιχυμοδρυσίνης στα καρκινώματα του παχέος εντέρου

Θ. Βασιλακάκη, Μ. Δεσποτέλλη, Β. Παπαμιχαήλ, Α. Ζήζη-Σερμπειζόγλου

Η ανίχνευση της αντιπρωτεάσης α_1 -αντιχυμοδρυσίνης και του νευροενδοκρινικού δείκτη χρωμογρανίνη-A σε κακοήδη νεοπλασματικά κύτταρα φαίνεται σύμφωνα με ορισμένες μελέτες να σχετίζεται με την κακή βιολογική συμπεριφορά του όγκου.

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη της εκφράσεως της α_1 -αντιχυμοδρυσίνης και της χρωμογρανίνης-A σε ιστολογικές τομές παραφίνης 40 αδenoκαρκινωμάτων παχέος εντέρου και η συσχέτιση της εκφράσεως με το φύλο και την ηλικία του ασθενούς, την τοπογραφία, το μέγεθος του όγκου το βαθμό διαφοροποίησεως, την ύπαρξη νεκρώσεως και λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησεως στον όγκο, τη διηθητική ανάπτυξη, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων και την επιβίωση. Η χρωμογρανίνη-A ανιχνεύθηκε σε 16 περιπτώσεις (40%) ενώ η α_1 -αντιχυμοδρυσίνη σε 30 (75%). Θετικά και στους δύο δείκτες ήταν 12 καρκινώματα (30%) ενώ 6 ήταν αρνητικά (15%). Η στατιστική ανάλυση έγινε με το χ^2 test ενώ για τη σύγκριση των ποσοστών έκφρασης των δύο δεικτών μεταξύ τους χρησιμοποιήθηκε το test του McNemar. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης-A και της α_1 AXΘ με το φύλο (XGP $p=0.3$ και α_1 AXΘ $p=0.45$), την ηλικία (XGP $p=0.056$ και α_1 AXΘ $p=0.70$), την τοπογραφία (XGP $p=0.09$ και α_1 AXΘ $p=0.09$), τη μ. διάμετρο του όγκου (XGP $p=0.07$ και α_1 AXΘ $p=0.1$), το βάθος διήθησης (XGP $p=0.2$ και α_1 AXΘ $p=0.6$), την ύπαρξη λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης (XGP $p=0.6$ και α_1 AXΘ $p=0.27$) και την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων (XGP $p=0.9$ και α_1 AXΘ $p=0.6$). Δεν διαπιστώθηκε επίσης συσχέτιση της έκφρασης της α_1 AXΘ με την ύπαρξη νέκρωσης (α_1 AXΘ $p=0.5$).

Αντιθέτως, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με την ύπαρξη νέκρωσης ($p=0.008<0.05$) και με την επιβίωση ($p<0.009$). Το τελευταίο εύρημα συνηγορεί υπέρ του ότι η νευροενδοκρινική διαφοροποίηση είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης.

Στατιστικά σημαντική διαφορά στην επιβίωση των ασθενών μεταξύ των ομάδων των θετικών και αρνητικών στην αντιχυμοδρυσίνη νεοπλασματικών όγκων δεν διαπιστώθηκε ($p=0.07$). Οσον αφορά τη συσχέτιση στην έκφραση των δύο δεικτών η α_1 AXΘ βρέθηκε πιο αποτελεσματική ($p=0.003$).

Λέξεις κλειδιά: Καρκίνος παχέος εντέρου, χρωμογρανίνη-Α, α₁-Αντιχυμοδρυσίνη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από ορισμένες μελέτες καταδεικνύεται ότι η παρουσία σε κακοήδη νεοπλασματικά κύτταρα δεικτών όπως η αντιπροτεάση α₁-αντιχυμοδρυσίνη και ο νευροενδοκρινικός δείκτης χρωμογρανίνη-Α φαίνεται να σχετίζεται με κακή βιολογική συμπεριφορά του νεοπλάσματος. Σημειώνεται ότι ενδείξεις νευροενδοκρινικής διαφοροποίησης παρατηρήθηκαν σε ικανό αριθμό καρκινωμάτων από ποικίλες θέσεις ενώ η α₁-αντιχυμοδρυσίνη εκτός από τους ιστοκυτταρικής αρχής όγκους εκφράζεται από ποικιλία επιθηλιακών όγκων συμπεριλαμβανομένων καρκινωμάτων του γαστρεντερικού.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν η ανίχνευση με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους της α₁-αντιχυμοδρυσίνης και της χρωμογρανίνης-Α σε ιστολογικές τομές παραφίνης 40 αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου, η συσχέτιση της εκφράσεώς τους με σειρά παραμέτρων και η ενδεχόμενη προγνωστική τους αξία.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Μελετήθηκαν 40 ασθενείς (24 άνδρες και 16 γυναίκες) ηλικίας από 33 έως 85 ετών (Μ.Τ. = 68.7) με πρωτοπαδές καρκίνωμα του παχέος εντέρου. Ολοι οι μελετηθέντες όγκοι ήταν καρκινώματα μέσης διαφοροποίησης εκτός από ένα το οποίο ήταν υψηλής διαφοροποίησης. Σε όλες τις περιπτώσεις ελήφθησαν τομές πάχους 5 μm από κύβους παραφίνης στους οποίους υπήρχε εγκλεισμένη ικανή ποσότητα νεοπλασματικού ιστού. Οι τομές εγχρώσθηκαν με Η-Ε και ανοσοϊστοχημικά με τη μέθοδο STREPT-ABC για την ανίχνευση της χρωμογρανίνης Α και της α₁-αντιχυμοδρυσίνης. Σε τομές Η-Ε έγινε επανεκτίμηση του βαθμού διαφοροποίησης και του βάθους διηθητικής αναπτύξεως του νεοπλάσματος.

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των εφαρμοσθέντων δεικτών μετρήθηκε ως εκατοστιαία αναλογία των θετικώς χρωσθέντων κυττάρων. Προς το σκοπό αυτό σε τυχαία οπτικά πεδία μεγάλης μεγέθυνσης μετρήθηκαν 1000 νεοπλασματικά κύτταρα και οι περιπτώσεις ταξινομήθηκαν σε κατηγορίες όπως ακολούθως:

>76% (6), μεταξύ 51%-75% (5), μεταξύ 26%-50% (4), μεταξύ 11%-25% (3), μεταξύ 1%-10% (2) και αρνητικό (1). Ακολούθως η ανοσοϊστοχημική έκφραση των ανωτέρω δεικτών συσχετίσθηκε με τις κατωτέρω παραμέτρους: φύλο, ηλικία, τοπογραφία, μέγεθος όγκου, ύπαρξη νέκρωσης, λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, διηθητική ανάπτυξη, ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων και επιβίωση.

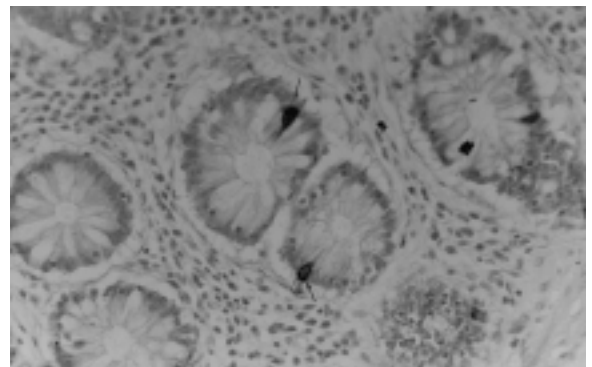
Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων μας έγινε σε δύο επίπεδα:

α) Συσχέτιση του κάθε δείκτη (χρωμογρανίνη Α και α₁-αντιχυμοδρυσίνη) ξεχωριστά με τις ανωτέρω παραμέτρους. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε το τεστ ανεξαρτησίας χ².

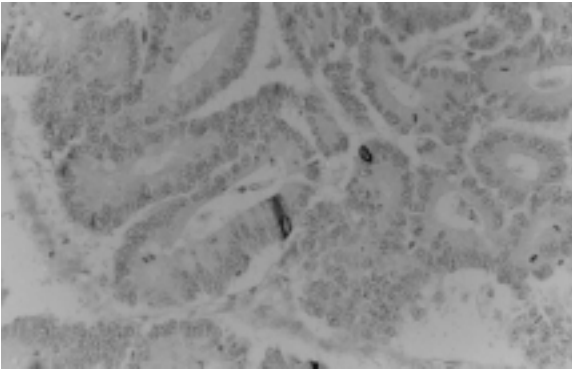
β) Σύγκριση των ποσοστών έκφρασης των δύο δεικτών μεταξύ τους. Προς το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε το τεστ του McNemar (σύγκριση των ποσοστών κατά ζεύγη).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των χρώσεων ήταν πολύ ικανοποιητικά. Η χρωστική αντίδραση και για τα δύο αντιγόνα ήταν κυτταροπλασματική και σε ορισμένα κύτταρα λεπτοκοκκιάδης (Εικ. 1 και 2). Η χρωμογρανίνη-Α ανιχνεύθηκε σε 16 περιπτώσεις (40%) ενώ η α₁-αντιχυμοδρυσίνη σε 30 (75%). Θετικά και στους δύο δείκτες ήταν 12 περιστατικά (30%) ενώ 6 ήταν αρνητικά (15%). Στους όγκους στους οποίους ανι-



Εικόνα 1. Φυσιολογικό επιθήλιο θετικό στη χρωμογρανίνη.



Εικόνα 2. Νεοπλασματικά κύτταρα δετικά στη χρωμογρανίνη.

χνεύθηκε η χρωμογρανίνη-Α το ποσοστό των δετικώς χρωσθέντων κυττάρων κυμαινόταν από 1% έως 10%. Αντιθέτως, στις περιπτώσεις στις οποίες ανιχνεύθηκε η α_1 -αντιχυμοδρυσίνη το ποσοστό των δετικώς χρωσθέντων κυττάρων κυμαινόταν από 5% έως 75%.

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης-Α και της α_1 ΑΧΘ με το

φύλο (ΧΓΡ $p=0.3$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.45$), την ηλικία (ΧΓΡ $p=0.056$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.70$), την τοπογραφία (ΧΓΡ $p=0.09$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.09$), τη μ. διάμετρο του όγκου (ΧΓΡ $p=0.07$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.1$), το βάθος διήθησης (ΧΓΡ $p=0.2$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.6$), την ύπαρξη λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης (ΧΓΡ $p=0.6$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.27$), την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων (ΧΓΡ $p=0.9$ και α_1 ΑΧΘ $p=0.6$) και την ύπαρξη νέκρωσης όσον αφορά την α_1 ΑΧΘ (α_1 ΑΧΘ $p=0.5$) (Πίνακας 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

Αντιθέτως παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της έκφρασης της χρωμογρανίνης με την ύπαρξη νέκρωσης ($p=0.008 < 0.05$) και με την επιβίωση ($p<0.009$) (Πίνακας 4 και 9).

Στατιστικά σημαντική διαφορά στην επιβίωση των ασθενών μεταξύ των δετικών και αρνητικών στην α_1 -αντιχυμοδρυσίνη, νεοπλασματικών όγκων δεν διεπιστώθηκε ($p=0.07$) (Πίνακας 9).

Ιδανικό στην προκειμένη περίπτωση θα ήταν να συγκριθούν όγκοι του ίδιου σταδίου αλλά ο περιορισμένος αριθμός των μελετηθέντων

Πίνακας 1. Συσχέτιση με το φύλο.

| Φύλο | Χρωμογρανίνη | | | Φύλο | α_1 ΑΧΘ | | |
|----------|--------------|----|--------|----------|----------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| Ανδρες | 8 | 16 | 24 | Ανδρες | 19 | 5 | 24 |
| Γυναίκες | 8 | 8 | 16 | Γυναίκες | 11 | 5 | 16 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 2. Συσχέτιση με την ηλικία.

| Ηλικία | Χρωμογρανίνη | | | Ηλικία | α_1 ΑΧΘ | | |
|--------|--------------|----|--------|--------|----------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| 31-40 | 1 | 0 | 1 | 31-40 | 1 | 0 | 1 |
| 41-50 | 2 | 2 | 4 | 41-50 | 4 | 0 | 4 |
| 51-60 | 1 | 6 | 7 | 51-60 | 6 | 1 | 7 |
| 61-70 | 7 | 8 | 15 | 61-70 | 10 | 5 | 15 |
| 71-80 | 4 | 6 | 10 | 71-80 | 7 | 3 | 10 |
| 81-90 | 1 | 2 | 3 | 81-90 | 2 | 1 | 3 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 3. Συσχέτιση με την ύπαρξη λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης.

| | Χρωμογρανίνη | | | | α_1 ΑΧΘ | | |
|--------|--------------|----|--------|--------|----------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| ΝΑΙ | 8 | 14 | 22 | ΝΑΙ | 15 | 7 | 22 |
| ΟΧΙ | 8 | 10 | 18 | ΟΧΙ | 15 | 3 | 18 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 4. Συσχέτιση με την ύπαρξη νέκρωσης.

| Νέκρωση | Χρωμογρανίνη | | | Νέκρωση | α ₁ ΑΧΘ | | |
|---------|--------------|----|--------|---------|--------------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| ΝΑΙ | 7 | 2 | 9 | ΝΑΙ | 6 | 3 | 22 |
| ΟΧΙ | 9 | 22 | 31 | ΟΧΙ | 24 | 7 | 31 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 5. Συσχέτιση με την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων.

| | Χρωμογρανίνη | | | | α ₁ ΑΧΘ | | |
|--------|--------------|----|--------|--------|--------------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| ΝΑΙ | 5 | 8 | 13 | ΝΑΙ | 9 | 4 | 13 |
| ΟΧΙ | 11 | 16 | 27 | ΟΧΙ | 21 | 6 | 27 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 6. Συσχέτιση με την τοπογραφία.

| Τοπογραφία | Χρωμογρανίνη | | | Τοπογραφία | α ₁ ΑΧΘ | | |
|------------|--------------|----|--------|------------|--------------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| Τυφλό | 3 | 4 | 7 | Τυφλό | 4 | 3 | 7 |
| Ανιόν | 0 | 0 | 0 | Ανιόν | 0 | 0 | 0 |
| Εγκάρσιο | 4 | 2 | 6 | Εγκάρσιο | 6 | 0 | 6 |
| Καπión | 1 | 0 | 1 | Καπión | 0 | 1 | 1 |
| Σιγμοειδές | 7 | 8 | 15 | Σιγμοειδές | 13 | 2 | 15 |
| Ορθό | 1 | 10 | 11 | Ορθό | 7 | 4 | 11 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 7. Συσχέτιση με τη διάμετρο του όγκου.

| Μ.Δ. όγκου | Χρωμογρανίνη | | | Μ.Δ. όγκου | α ₁ ΑΧΘ | | |
|--------------|--------------|----|--------|--------------|--------------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| < 2.5 εκ. | 0 | 4 | 4 | < 2.5 εκ. | 2 | 2 | 4 |
| 2.6 - 5 εκ. | 10 | 6 | 16 | 2.6 - 5 εκ. | 14 | 2 | 16 |
| 5.1- 7.5 εκ. | 5 | 10 | 15 | 5.1- 7.5 εκ. | 12 | 3 | 15 |
| 7.6 -10 εκ. | 1 | 4 | 5 | 7.6 -10 εκ. | 2 | 3 | 5 |
| > 10 εκ. | 0 | 0 | 0 | > 10 εκ. | 0 | 0 | 0 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 8. Συσχέτιση με το βάθος διήθησης.

| Βάθος διήθησης | Χρωμογρανίνη | | | Βάθος διήθησης | α ₁ ΑΧΘ | | |
|-------------------|--------------|----|--------|-------------------|--------------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| Βλεννογ.+Υποβλεν. | 0 | 2 | 2 | Βλεννογ.+Υποβλεν. | 2 | 0 | 2 |
| Μυϊκού | 1 | 0 | 1 | Μυϊκού | 1 | 0 | 1 |
| Ορογόνου | 15 | 22 | 37 | Ορογόνου | 27 | 10 | 37 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

όγκων δεν επιτρέπει την εξαγωγή σχετικών συμπερασμάτων.

Όσον αφορά τη συσχέτιση στην έκφραση των δύο δεικτών η α₁ ΑΧΘ βρέθηκε πιο αποτε-

λεσματική (p=0.003).

Το ίδιο τεστ εφαρμόστηκε σε κάθε υποσύνολο των περιπτώσεων ξεχωριστά (Πίνακας 10).

Συμπερασματικά η α₁ ΑΧΘ είχε υψηλότερα

| | | | |
|------------------------------------|---------------------------------|---|---------------------------------|
| ΧΓΡ + α ₁ ΑΧΘ + 12 | ΧΓΡ + α ₁ ΑΧΘ - 4 | ΧΓΡ - α ₁ ΑΧΘ + 18 | ΧΓΡ - α ₁ ΑΧΘ - 6 |
| Ποσοστό δετικών εκφράσεων ΧΓΡ: 40% | | Ποσοστό δετικών εκφράσεων α ₁ ΑΧΘ: 75% | |
| | | Διαφορά ποσοστών ΔΡ: 35% | |

Πίνακας 9. Συσχέτιση με την επιβίωση

| Επιβίωση | Χρωμογρανίνη | | | Επιβίωση | α ₁ ΑΧΘ | | |
|----------|--------------|----|--------|----------|--------------------|----|--------|
| | + | - | Σύνολο | | + | - | Σύνολο |
| 1 έτος | 2 | 2 | 4 | 1 έτος | 4 | | 4 |
| 1-3 έτη | 6 | 4 | 10 | 1-3 έτη | 6 | 4 | 10 |
| 3-5 έτη | 7 | 6 | 13 | 3-5 έτη | 11 | 1 | 12 |
| 5-10 έτη | 1 | 8 | 9 | 5-10 έτη | 7 | 3 | 10 |
| >10 έτη | | 4 | 4 | > 10 έτη | 2 | 2 | 4 |
| Σύνολο | 16 | 24 | 40 | Σύνολο | 30 | 10 | 40 |

Πίνακας 10.

| Υποσύνολο | α ₁ ΑΧΘ (%) | ΧΓΡ (%) | ΔΡ | p |
|-------------------------|------------------------|---------|--------|---------------|
| Ανδρες | 79.1% | 33.3% | 45.8% | 0.002 < 0.05 |
| Γυναίκες | 68.7% | 50.0% | 18.7% | 0.3 > 0.05* |
| 31-60 ετών | 91.7% | 33.3% | 58.4% | 0.02 < 0.05 |
| > 60 ετών | 67.9% | 42.9% | 25.0% | 0.051 > 0.05* |
| με ΛΠΚΔ ¹ | 68.2% | 36.4% | 31.8% | 0.052 > 0.05* |
| χωρίς ΛΠΚΔ ¹ | 83.3% | 44.4% | 38.9% | 0.02 < 0.05* |
| με νέκρωση | 66.7% | 77.8% | -11.1% | 0.3 > 0.05* |
| χωρίς νέκρωση | 77.4% | 29.0% | 48.4% | 0.001 < 0.05 |
| με λεμφ. μεταστ. | 69.3% | 38.5% | 30.8% | 0.04 < 0.05 |
| χωρίς λεμφ. μεταστ. | 77.8% | 40.8% | 37.0% | 0.02 < 0.05 |
| Διάμετρος < 5 | 80.0% | 50.0% | 30.0% | 0.06 > 0.05* |
| Διάμετρος > 5 | 70.0% | 30.0% | 40.0% | 0.02 < 0.05 |
| Στο σύνολο | 75.0% | 35.0% | 35.0% | 0.003 < 0.05 |

¹: Λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση.

*: Το αποτέλεσμα δεν είναι στατιστικά σημαντικό, με άλλα λόγια δεν μπορούμε να πούμε ποιος δείκτης εκφράστηκε καλύτερα.

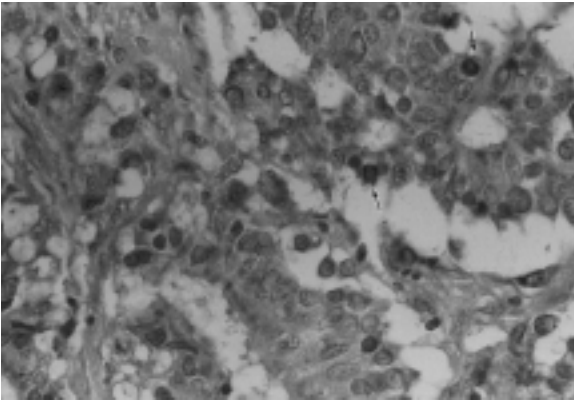
ποσοστά έκφρασης και συνολικά και σε κάθε υποπερίπτωση. Μόνο σε μία περίπτωση το ποσοστό της χρωμογρανίνης ήταν υψηλότερο αλλά το αποτέλεσμα δεν είναι αξιόπιστο (p=0.3).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

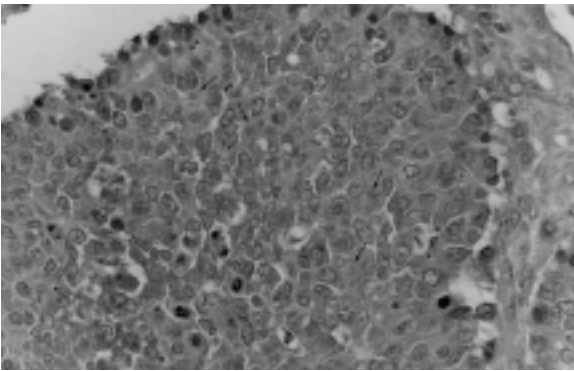
Η παρουσία νεοπλασματικών κυττάρων με νευροενδοκρινική διαφοροποίηση εντός αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου τεκμηριώθηκε από πολλούς ερευνητές. Για την αναγνώριση των εν λόγω κυττάρων η εφαρμογή ανοσοϊστοχημείας (δετικότητας στη χρώση για χρωμογρανίνη) θεωρείται από αρκετούς ερευνητές ως αξιόπιστη και ευαίσθητη μέθοδος. Αντικείμενο πολλών συζητήσεων αποτέλεσε και η προέλευσή τους για την εξήγηση της οποίας διατυ-

πώδησαν διάφορες θεωρίες επικρατέστερη των οποίων είναι αυτή που υποστηρίζει ότι τα εντερικά ενδοκρινικά κύτταρα προέρχονται από τα ίδια ενδοδερμικά προδρομικά κύτταρα όπως και τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου^{4,6}. Κατεδείχθει επίσης σε πρόσφατες ανοσοϊστοχημικές μελέτες ότι τα δετικά στη χρωμογρανίνη κύτταρα των καρκινωμάτων του παχέος εντέρου έχουν μορφολογικά χαρακτηριστικά κακοηθείας όπως πυρηνικό πολυμορφισμό και υπερχρωματισμό ενώ η κατανομή της χρωμογρανίνης εκτός αυτών διαφέρει από αυτή των φυσιολογικών ενδοκρινικών κυττάρων του εντερικού βλεννογόνου^{7,8}.

Το ποσοστό των δετικών στη χρωμογρανίνη κυττάρων εκτός των καρκινωμάτων ποικίλει σε διάφορες ανακοινώσεις.



Εικόνα 3. Νεοπλασματικά κύτταρα δετικά στην α_1 -αντιχυμοδρυψίνη x 400.



Εικόνα 4. Νεοπλασματικά κύτταρα δετικά στην α_1 -αντιχυμοδρυψίνη x 250.

Εγινε προσπάθεια συσχετισμού του αριθμού των νευροενδοκρινικών κυττάρων με την τοπογραφία, το βαθμό διαφοροποίησεως και το στάδιο της νόσου, σχέση όμως στατιστικά σημαντική δεν διεπιστώθη προς το παρόν. Αμφιλεγόμενη είναι και η προγνωστική αξία των νευροενδοκρινικών κυττάρων. Αρκετοί πάντως ερευνητές συμφωνούν ότι η παρουσία μικρού αριθμού διάσπαρτων νευροενδοκρινικών κυττάρων εντός ενός κατά τα άλλα τυπικού καρκινώματος δεν επηρεάζει την πρόγνωση. Οι ίδιοι ερευνητές δέχονται ότι η πρόγνωση καρκινωμάτων αποτελούμενων κατ' εξοχήν από νευροενδοκρινικά κύτταρα ή καρκινωμάτων τα οποία περιέχουν μεγάλους αριθμούς νευροενδοκρινικών κυττάρων είναι χειρότερη σε σύγκριση με καρκινώματα περιέχοντα λίγα ή καθόλου νευροενδοκρινικά κύτταρα^{1-3,17-19}.

Στην παρούσα εργασία δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της χρωμογρανίνης

με το φύλο, την ηλικία, την τοπογραφία, τη διάμετρο του όγκου, το βάθος διήθησης, την λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση στον όγκο, και την ύπαρξη ή όχι λεμφαδενικών μεταστάσεων. Αντιθέτως παρατηρήθηκε συσχέτιση της νευροενδοκρινικής διαφοροποίησης τόσο με την ύπαρξη νέκρωσης στον όγκο όσο και με χειρότερη πρόγνωση. Τα αποτελέσματά μας συνηγορούν στο ότι η νευροενδοκρινική διαφοροποίηση είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης και η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της χρωμογρανίνης είναι χρήσιμη για την κατάδειξη μιας ομάδας ασθενών με χειρότερη πρόγνωση μεταξύ των πασχόντων από αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου.

Η α_1 -αντιχυμοδρυψίνη είναι ένας από τους αναστολείς των διαφόρων πρωτεασών του πλάσματος και διαδραματίζει ρόλο στην πήξη του αίματος, στην ινωδόλυση, στο μεταβολισμό του συνδετικού ιστού, στις διάφορες φλεγμονώδεις διεργασίες. α_1 -αντιχυμοδρυψίνη ανιχνεύθηκε σε αρκετά είδη κυττάρων μεταξύ των οποίων και επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα⁹⁻¹¹.

Αναφορικά με την επίδραση της ανωτέρω αντιπρωτεάσης στα νεοπλασματικά κύτταρα πιθανολογείται ότι αυτή ευνοεί την ανάπτυξη του όγκου καθιστώντας ανενεργές τις πρωτεάσες των T-λεμφοκυττάρων¹⁴. Επίσης, φαίνεται να έχει ανασταλτική επίδραση στη σύνδεση του DNA των νεοπλασματικών κυττάρων και η ενσωμάτωσή της στους πυρήνες των κυττάρων πιθανόν να επηρεάζει την κυτταρική διαίρεση^{15,16}.

Στον ορό ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου τα επίπεδα της α_1 -αντιχυμοδρυψίνης είναι αυξημένα και μάλιστα παρουσιάζουν σύμφωνα με ορισμένες μελέτες θετική συσχέτιση με το βαθμό κακοηθείας και το στάδιο του νεοπλάσματος^{12,13}.

Από μελέτες μεγάλου αριθμού καρκινωμάτων των πνευμόνων και του παχέος εντέρου προέκυψε ότι η α_1 -αντιχυμοδρυψίνη εκφράζεται συχνότερα σε προχωρημένα στάδια της νόσου και φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένη διηθητική και μεταστατική ικανότητα του νεοπλάσματος^{20,21}. Θα μπορούσε ως εκ τούτου να χρησιμοποιηθεί η έκφραση της α_1 -αντιχυμοδρυψίνης σε πρώιμα στάδια της νόσου ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας.

Στην εργασία μας δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση της έκφρασης της α_1 -αντιχυμοδρυψίνης με τις διάφορες παραμέτρους που εξετάσθηκαν.

Δεν παρατηρήθηκε επίσης συσχέτιση της έκφρασης της α_1 -αντιχυμοδρυψίνης με την πρόγνωση της νόσου.

SUMMARY

Immunohistochemical study of the expression of chromogranin-A and α_1 -antichymotrypsin in human colorectal adenocarcinoma.

Th. Vasilakaki, M. Despoteli, V. Papamichael, A. Zizi-Serbetzoglou

Department of Pathology, Tzanion Hospital, Piraeus.

Forty cases of adenocarcinoma of the large intestine were studied immunohistochemically for chromogranin-A and α_1 -antichymotrypsin on histological sections, 5 μ m thick from paraffin embedded tissues.

Chromogranin was present in 40% and α_1 ACT in 75% of the tumors. There weren't any relationships between the expression of chromogranin and α_1 -ACT and the age of the patient (CRM $p=0.056$ and α_1 ACT $p=0.70$), the size of the tumor (CRM $p=0.07$ and α_1 ACT $p=0.1$), the location of the tumor (CRM $p=0.09$ and α_1 ACT $p=0.09$), the lymphocytic response (CRM $p=0.6$ and α_1 ACT $p=0.27$), the sex (CRM $p=0.3$ and α_1 ACT $p=0.45$), the depth of invasion (CRM $p=0.2$ and α_1 ACT $p=0.6$), grading of the neoplasm and the status of the lymph nodes (CRM $p=0.9$ and α_1 ACT $p=0.6$). α_1 -antichymotrypsin index was also independent of the tumor necrosis ($p=0.5$) and the survival of the patient too ($p=0.07$).

Statistically significant differences were found at the expression of chromogranin and the tumor necrosis ($p=0.008$) and the survival of the patient ($p<0.009$).

Conclusion: We consider neuroendocrine differentiation as an independent prognostic factor and chromogranin immunoreactivity as a useful method or way for detecting a subgroup with a worse prognosis among patients with colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer, chromogranin A, α_1 -antichymotrypsin.

BΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wiggers TH, Arends JW, Schutte B, Volovics L, Bosman F: A multivariate Analysis of Pathologic Prognostic Indicators in Large Bowel Cancer. *Cancer* 61:386-396, 1988.
2. Chen PH: Immunocytochemical study of enterochromaffin cells in carcinoma of the large intestine. *Chinese Journal of Pathology* 19(2):86-9, 1990.
3. Oishi A: Immunohistochemical and clinicopathological studies of chromogranin immunoreactive cells in large bowel carcinoma. *Journal of Japanese Surgical Society* 90 (10):1742-51, 1989.
4. Pagani A, Papatti M, Abbona GC, Bussolati G: Chromogranin Gene Expressions in Colorectal Adenocarcinomas. *Modern Pathology*, 8(6):626-632, 1995.
5. Park JG, Choe GY, Helman LJ, Gazdar AF, Yang HK, Kim JP, Park SH, Kim Y: Chromogranin-A expression in gastric and colon cancer tissues. *Int J Cancer* 51:189, 1992.
6. Finley GG, Koski RA, Melhem MF, Pipas JM, Meisler AI: Expression of the gastrin gene in the normal colon and colorectal adenocarcinoma. *Cancer Res* 53:2919, 1993.
7. Hamada Y, Oishi A, Shoji T, Takada H, Yamamura M, Hioki K, Yamamoto M: Endocrine Cells and Prognosis in Patients with Colorectal Carcinoma. *Cancer* 69:2641-2646, 1992.
8. Kirkland SC: Clonal origin of columnar, mucous and endocrine cell lineages in human colorectal epithelium. *Cancer* 61:1359-1363, 1988.
9. Travis J, Salvesen GS: Human plasma proteinase inhibitors. *Annu Rev Biochem* 52:655-709, 1983.
10. Permanetter W, Meister P: Distribution of lysozyme and α_1 -antichymotrypsin in normal and neoplastic epithelial tissue: A survey: *Acta Histochem* 74:173-179, 1984.

11. Kittas C, Aroni K, Kotsis L, Papadimitriou CS: Distribution of lysozyme, α_1 -antichymotrypsin and α_1 -antitrypsin in adenocarcinomas of the stomach and large intestine. An immunohistochemical study. *Virchov Arch* 398:139-147, 1982.
12. Kelly UL, Cooper EH, Alexander C, Stone J: The assessment of antichymotrypsin in cancer monitoring. *Biomedicine* 28:209-215, 1978.
13. Bemacka K, Kurylczyn-Moskal A, Sierakowski S: The levels of alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin in the sera of patients with gastrointestinal cancer during diagnosis. *Cancer* 62:1188-1193, 1988.
14. Redelman D, Huding D: The mechanism of cell mediated cytotoxicity: Killing by murine cytotoxic T lymphocytes requires all surface thiols and activated proteases. *J Immunol* 124:870-878, 1980.
15. Tsuda M, Umezawa Y, Masugama M, Nozaki SF, Yamaguchi K, Katsumuma T: Inhibition of DNA synthesis by alpha-I-antichymotrypsin. *Tokai J Exp Clin Med* 13:329-336, 1988.
16. Takada S, Tsuda M, Matsumoto M, Fujinami S, Yamamura M, Katsunuma T: Incorporation of alpha-1-antichymotrypsin into human stomach adenocarcinoma cell nuclei and inhibition of DNA primase activity. *Tokai J Exp Clin Med* 13:321-327, 1988.
17. Lloyd VR, Schroeder G, Bauman DM, Krook EJ, Jin L, Goldberg R, Farr E: Prevalence and Prognostic Significance of Neuroendocrine Differentiation in Colorectal Carcinomas. *Endocrine Pathology*, Vol 9, 1:35-42, 1998.
18. Gaffey MJ, Mills SE, Lack EE: Neuroendocrine carcinoma of the colon and rectum. A clinicopathologic ultrastructural and immunohistochemical study of 24 cases. *Am J Surg Pathol* 14:1010-1023, 1996.
19. Foley E, Gaffey M, Frierson H: The frequency and Clinical Significance of Neuroendocrine Cells within Stage III Adenocarcinomas of the Colon. *Arch Pathol Lab Med* Vol 122, 912-914, 1998.
20. Karashima S, Kataoka H, Itoh H, Marugama R, Koono M: Prognostic Significance of Alpha-1-antitrypsin in early stage of colorectal carcinomas. *Int J Cancer* 45:244-250, 1990.
21. Higashiyama M, Doi O, Yokouchi H, Kodama K, Nakamori S, Tateishi R: Alpha-1-Antichymotrypsin Expression in Lung Adenocarcinoma and its Possible Association with tumor Progression. *Cancer* vol. 76, n. 8, p. 1368-1376, 1995.