

## Οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς σε καλοήθεις μικτούς όγκους των σιελογόνων αδένων. Ανοσοϊστοχημική μελέτη

A.N. Γραικού\*, Χ. Πλατανιάς, Ε. Παζαρή, Γ. Κεραμίδας, Θ. Τόλιου

---

### *Estrogen and progesterone receptors in benign mixed tumors of the salivary glands. An immunohistochemical study*

Grekou A.N., Plataniás Ch., Pazarli E., Keramidas G., Toliou Th.

Department of Pathology, "Theagenio" Cancer Hospital of Thessaloniki, Greece

**Background-Aim:** Experimental and human studies have shown a possible relation between sex steroid hormones and salivary gland tumors. In this paper we describe the immunohistochemical distribution of estrogen (ER) and progesterone receptors (PR) in human benign mixed tumors of the salivary glands.

**Materials and methods:** Twenty-five cases of benign mixed tumors of the salivary glands, 17 in women and 8 in men, aged 16-66 years old (mean 42.5 years) were studied. Immunohistochemical stains with monoclonal antibodies against estrogen and progesterone receptors were performed on formalin fixed-paraffin embedded sections. In 19 cases the surrounding normal salivary gland was also evaluated.

**Results:** Positive staining for ER was observed in 17 tumors, 13 in women and 4 in men, whereas positive staining for PR was observed in 6 cases, all in women. The staining was located in the cytoplasm of epithelial and myoepithelial cells. Normal salivary tissue showed positive staining for ER in 11 cases (9 in women and 2 in men) and for PR in 4 cases (3 in women and 1 in man). Cytoplasmic staining in interlobular striated and focally in intercalated ductal epithelium was observed.

**Conclusions:** Our findings indicate that ER and PR are detected by immunohistochemistry in the cytoplasm of benign mixed tumors of the salivary glands. The absence of nuclear staining questions salivary tumors as a possible target of steroid hormones. However, metabolism or in situ synthesis of ER and PR protein in salivary gland tissue may be possible.

**Key words:** Salivary glands, mixed tumors, estrogen receptors, progesterone receptors

**Εισαγωγή-Σκοπός:** Περιορισμένες μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους έχουν δείξει ότι πιθανόν υπάρχει σχέση των στεροειδών ορμονών του φύλου με τους σιελογόνους αδένες και τους όγκους τους. Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη της παρουσίας των οιστρογονικών (ΟΥ) και προγεστερονικών υποδοχέων (ΠΥ), με ανοσοϊστοχημική μέθοδο, σε καλοήθεις μικτούς όγκους των σιελογόνων αδένων του ανθρώπου.

**Υλικό και μέθοδοι:** Μελετήθηκαν 25 καλοήθεις μικτοί όγκοι των σιελογόνων αδένων (17 σε γυναίκες και 8 σε άνδρες), ηλικίας 16-66 ετών (Μ.Ο. 42.5 έτη), με ανοσοϊστοχημική μέθοδο σε τομές παραφίνης για την ανίχνευση των ΟΥ και ΠΥ με μονοκλωνικά αντισώματα. Παράλληλα, σε 19 περιπτώσεις μελετήθηκε η κατανομή των ΟΥ και ΠΥ στο φυσιολογικό σιελογόνο αδένα γύρω από τους όγκους.

**Αποτελέσματα:** Θετική χρώση για τους ΟΥ παρατηρήθηκε σε 17 (13 σε γυναίκες και 4 σε άνδρες) και για τους ΠΥ σε 6 (όλες γυναίκες) από τους 25 μικτούς όγκους. Η χρώση ήταν κυτταροπλασματική και εντοπιζόταν σε επιθηλιακά και μυοεπιθηλιακά κύτταρα. Στο φυσιολογικό σιελογόνο αδένα παρατηρήθηκε δετική χρώση για τους ΟΥ σε 11 (9 σε γυναίκες και 2 σε άνδρες) και για τους ΠΥ σε 4 (3 σε γυναίκες και 1 σε άνδρα) από τις 19 περιπτώσεις που μελετήθηκαν. Η χρώση εντοπιζόταν στο κυτταρόπλασμα κυρίως των γραμμωτών και μεσολόβιων πόρων και εστιακά στους εμβόλιμους πόρους.

**Συμπεράσματα:** Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι οι ΟΥ και ΠΥ ανιχνεύονται ανοσοϊστοχημικά στο κυτταρόπλασμα των καλοήθων μικτών όγκων των σιελογόνων αδένων. Η απουσία πυρηνικής εντόπισης των υποδοχέων δέτει επιφυλάξεις ως προς το εάν οι όγκοι αυτοί αποτελούν στόχο δράσης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης. Ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο του μεταβολισμού ή και της *in situ* σύνδεσης της πρωτεΐνης των ΟΥ και ΠΥ στους σιελογόνους αδένες και τους όγκους αυτών.

**Λέξεις κλειδιά:** Σιελογόνοι αδένες, μικτός όγκος, οιστρογονικοί υποδοχείς, προγεστερονικοί υποδοχείς.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Περιορισμένες μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους έχουν δείξει ότι πιθανόν υπάρχει σχέση των στεροειδών ορμονών του φύλου με τους σιελογόνους αδένες και τους όγκους τους.

Οι ενδείξεις αυτές συνοψίζονται στα εξής: α) Η εμβρυϊκή ανάπτυξη των υπογναθίων σιελογόνων αδένων σε άρρενες ποντικούς εξαρτάται από τα ανδρογόνα και έχουν ανιχνευθεί υποδοχείς ανδρογόνων με αυτοραδιογραφία σε αυτούς τους ιστούς<sup>1</sup>. β) Οι ενδογενείς στεροειδείς ορμόνες, οιστραδιόλη, προγεστερόνη και τεστοστερόνη, ανιχνεύονται στο σίελο των ανθρώπων<sup>2</sup>. γ) Οι ενδογενείς στεροειδείς ορμόνες του φύλου έχουν ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα φυσιολογικών σιελογόνων αδένων του ανθρώπου και σε όγκους των σιελογόνων αδένων<sup>3,4</sup>. δ) Υποδοχείς οιστρογόνων έχουν ανιχνευθεί με τη βιο-

χημική μέθοδο σε περιορισμένες σειρές σιελογόνων αδένων του ανθρώπου, φυσιολογικών και μη<sup>5-7</sup>. ε) Υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης έχουν ανιχνευθεί με ανοσοϊστοχημική μέθοδο σε όγκους των σιελογόνων αδένων του ανθρώπου<sup>4,8</sup>. στ) Οι σιελογόνοι αδένες εμφανίζουν ομοιότητα με το μαστό, που αποτελεί το πρότυπο ιστού-στόχου των στεροειδών ορμονών του φύλου και συχνά αναπτύσσουν παρόμοιους όγκους.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανίχνευση των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων με ανοσοϊστοχημική μέθοδο σε πρωτοπαθείς καλοήθεις μικτούς όγκους των σιελογόνων αδένων του ανθρώπου.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Μελετήθηκαν 25 πρωτοπαθείς καλοήθεις

μικτοί όγκοι των σιελογόνων αδένων, που διαγνώστηκαν στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του "Θεαγεναίου" Αντικαρκινικού Νοσοκομείου κατά τη διετία 1996-1997. Τα περιστατικά μας αφορούσαν 17 γυναίκες και 8 άνδρες, ηλικίας 16-66 ετών (μέσος όρος ηλικίας 42.5 έτη). Είκοσι δύο όγκοι εντοπιζόνταν στην παρωτίδα, δύο παραφαρυγγικά και ένας στην τραχηλική χώρα. Παράλληλα, σε 19 περιπτώσεις (13 σε γυναίκες και 6 σε άνδρες) μελετήθηκε η κατανομή των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων στο φυσιολογικό σιελογόνο αδένα γύρω από τους όγκους.

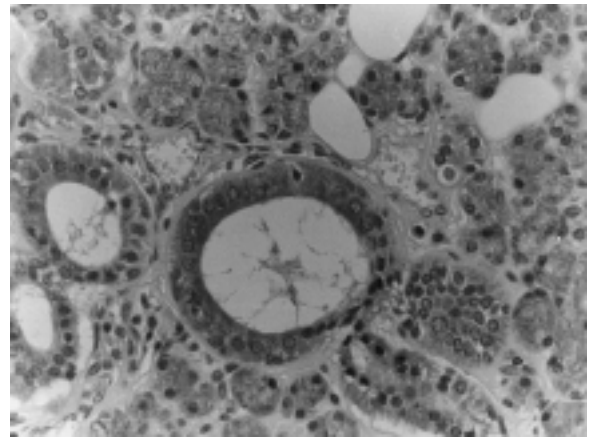
Οι οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς ανιχνεύθηκαν με ανοσοϊστοχημική μέθοδο σε τομές παραφίνης, ύστερα από κατεργασία των ιστών σε φούρνο μικροκυμάτων. Για την ανίχνευσή τους χρησιμοποιήθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα για την πρωτεΐνη των οιστρογονικών (DAKO) και προγεστερονικών υποδοχέων (NOVOCASTRA Laboratories). Εφαρμόσθηκε η μέθοδος αβιδίνης-βιοτίνης και σαν χρωμογόνο χρησιμοποιήθηκε η διαμινοβενζιδίνη (DAB). Σαν δετικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές παραφίνης από καρκινώματα του μαστού με γνωστούς έντονα δετικούς οιστρογονικούς και προγεστερονικούς υποδοχείς.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

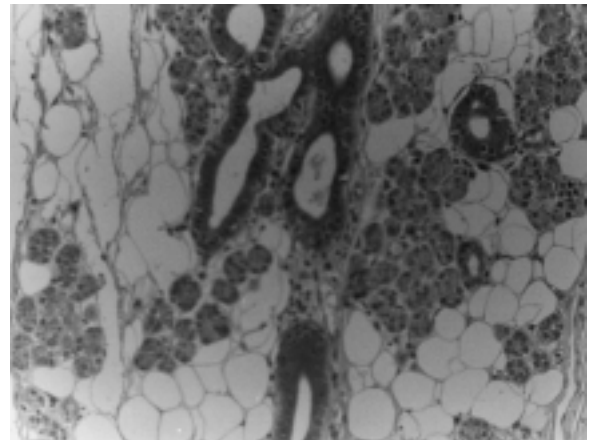
### Φυσιολογικοί σιελογόνοι αδένες

Θετική χρώση για τους οιστρογονικούς υποδοχείς παρατηρήθηκε σε 11 από τις 19 περιπτώσεις (9 σε γυναίκες και 2 σε άνδρες) και για τους προγεστερονικούς υποδοχείς σε 4 περιπτώσεις (3 σε γυναίκες και 1 σε άνδρα) με παρόμοια κατανομή (Πίνακας 1).

Η χρώση εντοπιζόταν στο κυτταρόπλασμα των γραμμωτών και μεσολόβιων πόρων και εστιακά στο κυτταρόπλασμα των εμβόλιμων πόρων (Εικ. 1, 2). Πυρηνική χρώση δεν διαπι-



**Εικόνα 1.** Θετική κυτταροπλασματική χρώση για τους οιστρογονικούς υποδοχείς σε γραμμωτό πόρο φυσιολογικού σιελογόνο αδένα (X 400).



**Εικόνα 2.** Θετική κυτταροπλασματική χρώση για τους προγεστερονικούς υποδοχείς σε γραμμωτούς πόρους φυσιολογικού σιελογόνο αδένα (X 200).

στώθηκε. Τα κύτταρα των αδενοκυψελών, όπως και τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα που περιβάλλουν τις αδενοκυψέλες, ήταν αρνητικά.

**Πίνακας 1.** Συχνότητα ανίχνευσης οιστρογονικών (OY) και προγεστερονικών υποδοχέων (ΠΥ) σε καλοήθεις μικτούς όγκους και φυσιολογικούς σιελογόνους αδένες του ανθρώπου.

|                                | N  | OY(+) | (%)   | ΠΥ(+) | (%)   |
|--------------------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Καλοήθεις μικτοί όγκοι         | 25 | 17    | (68%) | 6     | (24%) |
| Άνδρες                         | 8  | 4     | (50%) | -     |       |
| Γυναίκες                       | 17 | 13    | (76%) | 6     | (10%) |
| Φυσιολογικοί σιελογόνοι αδένες | 19 | 11    | (58%) | 4     | (8%)  |
| Άνδρες                         | 6  | 2     | (33%) | 1     | (17%) |
| Γυναίκες                       | 13 | 9     | (70%) | 3     | (23%) |

## Μικτοί όγκοι

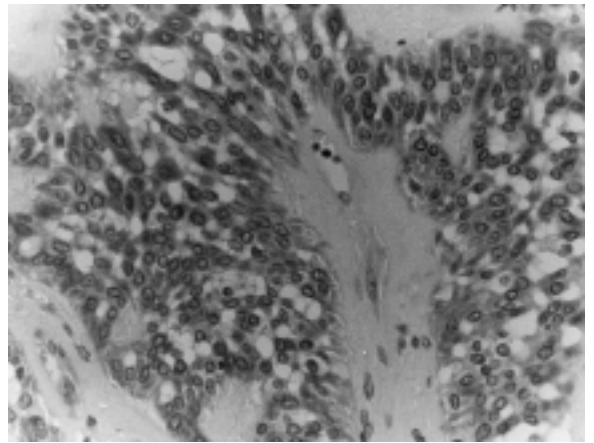
Θετική χρώση για τους οιστρογονικούς υποδοχείς παρατηρήθηκε σε 17 από τις 25 περιπτώσεις (13 σε γυναίκες και 4 σε άνδρες) (Πίνακας 1). Η χρώση ήταν κυτταροπλασματική και εντοπιζόταν τόσο σε αδενοειδείς σχηματισμούς από επιθηλιακά κύτταρα, όσο και σε χαλαρές μυξοειδείς περιοχές αποτελούμενες από μυοεπιθηλιακά κύτταρα (Εικ. 3, 4). Πυρηνική χρώση δεν παρατηρήθηκε, παρά μόνο σε δύο περιπτώσεις σε λίγα μεμονωμένα κύτταρα.

Προγεστερονικοί υποδοχείς ανιχνεύθηκαν σε 6 από τις 25 περιπτώσεις, όλες σε γυναίκες. Η ανοσοϊστοχημική χρώση ήταν επίσης κυτταροπλασματική, με κατανομή παρόμοια με εκείνη των οιστρογονικών υποδοχέων. Ιδιαίτερα έντονη ήταν η χρώση στο κυτταρόπλασμα επιθηλιακών κυττάρων με πλακώδη διαφοροποίηση (Εικ. 5). Πυρηνική χρώση για τους προγεστερονικούς υποδοχείς δεν παρατηρήθηκε. Όλες οι περιπτώσεις που ήταν θετικές στους οιστρογονικούς υποδοχείς ήταν θετικές και στους προγεστερονικούς υποδοχείς.

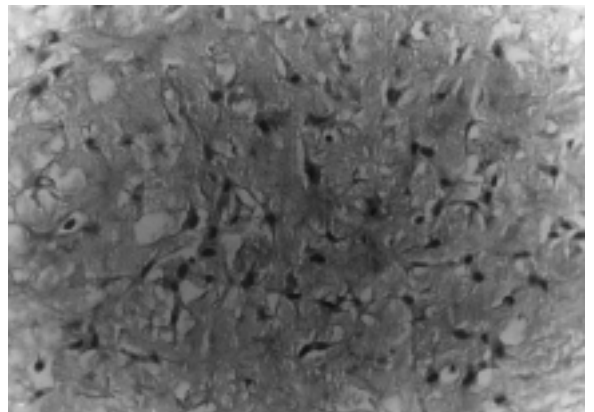
## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ρόλος των στεροειδών ορμονών του φύλου στους σιελογόνους αδένες του ανδρώπου και στους όγκους που προέρχονται από αυτούς παραμένει άγνωστος. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε θετική ανοσοαντίδραση για την πρωτεΐνη των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων στο κυτταρόπλασμα των πόρων των φυσιολογικών αδένων και στο κυτταρόπλασμα νεοπλασματικών επιθηλιακών και μυοεπιθηλιακών κυττάρων σε καλοήθεις μικτούς όγκους. Αν και το δείγμα μας είναι περιορισμένο για την εξαγωγή ασφαλών στατιστικών συμπερασμάτων, φαίνεται ότι η συχνότητα ανίχνευσης των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων δεν διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στο φυσιολογικό και νεοπλασματικό ιστό. Είναι επίσης εμφανής η συχνότερη παρουσία οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων σε δήlea άτομα.

Η εντόπιση της ανοσοαντίδρασης περιοριζόταν στο κυτταρόπλασμα και όχι στον πυρήνα των φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυττάρων, ο οποίος αποτελεί και τη δέση εκλεκτικής δέσμευσης του αντισώματος κατά των υποδοχέων. Σε άλλες μελέτες, όμως, διαπιστώθηκε πυρηνική εντόπιση των υποδοχέων<sup>4,8</sup>. Το εύρημά μας αυτό, αν και κατ'αρχήν δέτει επιφυλά-

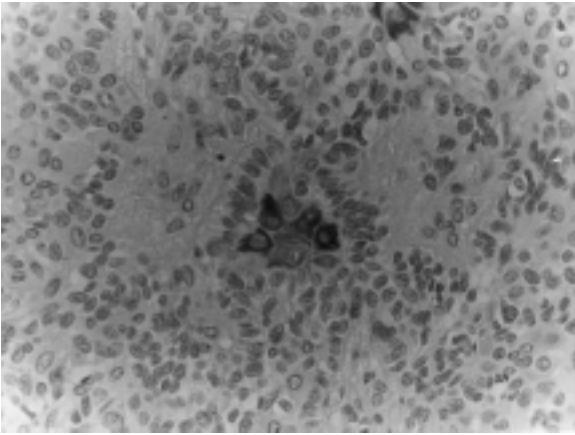


**Εικόνα 3.** Θετική κυτταροπλασματική χρώση για τους οιστρογονικούς υποδοχείς σε μυοεπιθηλιακά κύτταρα μικτού όγκου (X 200).



**Εικόνα 4.** Θετική κυτταροπλασματική χρώση για τους οιστρογονικούς υποδοχείς σε μυξοειδείς περιοχές μικτού όγκου (X 400).

ξεις για την ορμονική εξάρτηση των σιελογόνων αδένων και των όγκων τους από τις στεροειδείς ορμόνες του φύλου, είναι δυνατόν να ερμηνευθεί με τις εξής υποθέσεις. Πρώτον, ενδέχεται να οφείλεται στην ευαισθησία της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε. Δηλαδή, στην περίπτωση που τα επίπεδα των πυρηνικών υποδοχέων στους σιελογόνους αδένες είναι ιδιαίτερα χαμηλά, η ευαισθησία της μεθόδου να μην είναι αρκετή για να τους ανιχνεύσει, ενώ αρκεί για να τους ανιχνεύσει σε καρκινώματα του μαστού πλούσια σε υποδοχείς. Δεύτερον, ενδέχεται να πρόκειται για μια διασταυρούμενη μη ειδική ανοσοαντίδραση. Η εκλεκτική όμως παρουσία των υποδοχέων σε συγκεκριμένα κύτταρα με ευδιάκριτη και σαφή χρωστική αντί-



**Εικόνα 5.** Θετική κυτταροπλασματική χρώση για τους προγεστερονικούς υποδοχείς σε κύτταρα μικτού όγκου με πλακώδη διαφοροποίηση (X 400).

δραση, υποδηλώνει ότι η χρώση είναι μάλλον ειδική και εκλεκτική.

Σημειώνεται ότι παρόμοια εντόπιση και κατανομή έχει αναφερθεί και από άλλους συγγραφείς για τις ενδογενείς ορμόνες του φύλου οιστραδιόλη και προγεστερόνη<sup>3,4</sup>. Επομένως, είναι πιθανό οι στεροειδείς ορμόνες του φύλου στους σιελογόνους αδένες να διαδραματίζουν ένα διαφορετικό ρόλο. Είναι δυνατόν οι σιελογόνοι αδένες να αποτελούν τόπο παραγωγής των υποδοχέων, διότι έχει αναφερθεί *in situ* ανίχνευση mRNA για τους οιστρογονικούς υποδοχείς σε υπογνάθιους σιελογόνους αδένες ποντικών<sup>9</sup>. Είναι επίσης δυνατόν οι σιελογόνοι αδένες να συμμετέχουν στο μεταβολισμό των στεροειδών ορμονών, καθ' όσον έχει αναφερθεί δραστηριότητα της 5α-ρεντουκτάσης σε πειραματόζωα<sup>2</sup> και της C21-υδοξυλάσης σε ανθρώπους<sup>10</sup>.

Εξάλλου, παρά το δόγμα ότι οι ειδικοί ενεργοποιημένοι υποδοχείς βρίσκονται στον πυρήνα, όπου ασκείται και η ειδική δράση των στεροειδών ορμονών του φύλου, είναι βέβαιο ότι η σύνδεση ορμόνης-υποδοχέα και η ενεργοποίηση του συμπλέγματος αυτού συμβαίνει στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου-στόχου<sup>11</sup>.

Συμπερασματικά, από τα ευρήματά μας διαπιστώνεται η παρουσία οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων στους μικτούς όγκους των σιελογόνων αδένων, χωρίς όμως να διευκρινίζεται ο ρόλος τους στη φυσιολογία ή την παθογένεια των όγκων των σιελογόνων αδένων. Οι ενδείξεις παραμένουν περιορισμένες και ίσως με νεότερες και πιο εξειδικευμένες

μεθόδους μοριακής βιολογίας και ανάλυσης να διασαφηνισθεί ο πιθανός ρόλος των στεροειδών ορμονών του φύλου σε ιστούς που δεν αποτελούν παραδοσιακούς στόχους των ορμονών αυτών. Η απόδειξη μιας τέτοιας σχέσης με περαιτέρω μελέτες, και ιδιαίτερα σε κακοήθεις όγκους των σιελογόνων αδένων, θα μπορούσε να δέσει μια διαφορετική προοπτική στη θεραπευτική αντιμετώπιση των νεοπλασμάτων αυτών.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οι συγγραφείς ευχαριστούν την τεχνολόγο Γεωργία Ζουπούδη για τη βοήθειά της στην εργασία.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Morrel JI, Gresik EW, Barka T. Autoradiographic localization of dihydrotestosterone binding in the major salivary glands and other androgen-responsive organs of the mouse. *J Histochem Cytochem* 35:1053-1058, 1987.
2. Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem* 27:81-94, 1987
3. Γραϊκού AN. Ανοσοϊστοχημική μελέτη της κατανομής των γεννητικών στεροειδών ορμονών και των ισοενζύμων BB και MM της κρεατινοκινάσης σε όγκους των σιελογόνων αδένων του ανθρώπου. Διδακτορική διατριβή, Πάτρα, 1992.
4. Ozono S, Onozuka M, Sato K, Ito Y. Immunohistochemical localization of estradiol, progesterone and progesterone receptor in human salivary glands and salivary adenoid cystic carcinomas. *Cell Struct Funct* 17:169-175, 1992
5. Dimery IH, Jones LA, Verjan RP et al. Estrogen receptors in normal salivary gland and salivary gland carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 113:1082-1085, 1987
6. Lamey PJ, Leake R, Cowan SK, Soutar DS, McGregor IA. Steroid hormone receptors in human salivary gland tumors. *J Clin Pathol* 40:532-534, 1987
7. Molteni A, Warpeha RL, Brizio-Molteni L, Fors EM. Estradiol receptor-binding protein in head and neck neoplastic and normal tissue. *Arch Surg* 116:207-210, 1981
8. Kolar Z, Kodousek R, Ehrmann J, Macak I, Starek I, Kycera J. Expression of estrogen receptors and estrogen-induced proteins in tumors of "hormone non-dependent tissues". *Cs Patol* 1:12-15, 1994.

9. Ozono S, Sato K, Ito N et al. Immunohistochemical evidence that tumors elicit the synthesis of estrogen receptors in the submandibular glands of female rats. *Experientia* 51:220-222, 1995
10. Sasano H, Ohkubo T, Sasano N. Immunohistochemical demonstration of steroid C-21 Hydroxylase in normal and neoplastic salivary glands. *Cancer* 61:750-753, 1988
11. Spelsberg TC, Ruh T, Ruh M et al. Nuclear acceptor sites for steroid hormone receptors: comparisons of steroids and antisteroids. *J Steroid Biochem* 31(4B):579-592, 1988.