

Διερεύνηση υποδοχέων σωματοστατίνης σε νευροενδοκρινή καρκινώματα μαστού

Κοντογεώργος Γ., Χορευτάκη Θ., Θώδου Ε., Πατεράκη Μ.

Investigation of somatostatin receptors in neuroendocrine carcinomas of the breast

Kontogeorgos G., Horeftaki Th., Thodou E., Pateraki M.

Department of Pathology, G. Gennimatas Athens General Hospital, Athens, Greece

Neuroendocrine carcinomas of the breast are rare primary neoplasms positive for neuroendocrine markers. Well-differentiated tumors are similar to neuroendocrine tumor of other sites, whereas, poorly differentiated neuroendocrine carcinomas are morphologically analogous to small cells carcinomas of the lung. Ten breast carcinomas with histological and immunohistochemical neuroendocrine features were studied. They were separated into two categories: Six of them were classified as neuroendocrine carcinomas containing more than 50% cell positive for neuroendocrine markers and the remaining four as NOS carcinomas with neuroendocrine differentiation showing 10-50% neuroendocrine cells. For immunohistochemistry polyclonal antisera specific for each sstr were used. The standard ABC method combined with the tyramide signal amplification technique was applied with polyclonal antibodies specific for each sstr type. To assess the membranous immunoreactivity, a four-scale scoring system according to the one used for the Her-2/neu in breast carcinomas was utilized. All sstr were detected except for sstr1. They demonstrated heterogeneity regarding the distribution, staining intensity and complete membranous staining pattern. The predominant receptors were sst2B and sst5, followed by sst2A, sst3 and sst4. The score of the membranous immunoreactivity was 1+ in 11 sstr, 3+ in 7 sstr and 2+ in 3 sstr immunostains. In the present study we demonstrated sstr expression in neuroendocrine carcinomas of the breast. Immunohistochemistry for sst is an important tool, mainly for the detection for sstr2 and sstr5, which show high affinity to somatostatin analogs. According to our findings, application of targeted therapy with somatostatin analogs may contribute to achieve the maximum therapeutic goal, particularly in neuroendocrine breast carcinomas with score 3+.

Key words: immunohistochemistry, tumor markers, breast carcinoma, neuroendocrine differentiation, somatostatin receptors

Τα νευροενδοκρινή καρκινώματα του μαστού αποτελούν σπάνια πρωτοπαθή νεοπλάσματα θετικά για νευροενδοκρινείς δείκτες. Οι διαφοροποιημένοι όγκοι έχουν μορφολογία ανάλογη με άλλους νευροενδοκρινείς όγκους, όπως τους γαστρεντεροπαγκρεατικούς, ενώ τα χαμηλής διαφοροποίησεως νευροενδοκρινή καρκινώματα προσομοιάζουν με τα μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα. Μελετήθηκαν 10 καρκινώματα μαστού με νευροενδοκρινή μορφολογικά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά και διαχωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες με βάση το ποσοστό των κυττάρων που ήταν ανοσοθετικά για νευροενδοκρινείς δείκτες. Έξι ταξινομήθηκαν ως νευροενδοκρινή καρκινώματα και τα λοιπά τέσσερα ως καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση. Για την ανοσοϊστοχημική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν πολυκλωνικοί αντιορροί έναντι όλων των τύπων των υποδοχέων σωματοστατίνης (*sstr*). Ανιχνεύθηκαν όλοι οι *sstr* εκτός από τον *sstr1*. Παρουσίαζαν ετερογένεια στην κατανομή, ένταση και συνέχεια της μεμβρανικής εντοπίσεως. Οι συχνότερα εμφανιζόμενοι υποδοχείς ήταν οι *sstr2B* και *sstr5*, ακολουθούμενοι από τους *sstr2A*, *sstr3* και *sstr4*. Η έκφραση των υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη ήταν κυρίως βαθμού 1+ σε 11 από τους 21 συνολικά θετικούς *sstr*, ενώ ήταν 3+ σε 7 *sstr* και 2+ σε 3 *sstr*. Στην παρούσα μελέτη, η οποία είναι πρωτότυπη χωρίς ανάλογη αναφορά στη διεθνή βιβλιογραφία, δείξαμε ότι οι *sstr* εκφράζονται συχνά σε νευροενδοκρινείς όγκους του μαστού, ιδιαίτερα οι *sstr2* και *sstr5* με τους οποίους συνδέονται τα ανάλογα σωματοστατίνης. Η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την ανίχνευση των *sstr* και μπορεί να συμβάλει στην εφαρμογή στοχεύουσας θεραπείας με ανάλογα σωματοστατίνης για την επίτευξη του μείζονος θεραπευτικού αποτελέσματος, κυρίως σε νευροενδοκρινείς όγκους του μαστού με διαβάθμιση 3+ των *sstr2* και *sstr5*.

Λέξεις-κλειδιά: ανοσοϊστοχημεία, νεοπλασματικοί δείκτες, καρκίνωμα μαστού, νευροενδοκρινής διαφοροποίηση, υποδοχείς σωματοστατίνης

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα νευροενδοκρινή καρκινώματα αποτελούν σπάνια πρωτοπαθή νεοπλάσματα του μαστού¹. Σύμφωνα με αυστηρά διαγνωστικά κριτήρια, η ταξινόμηση νευροενδοκρινούς καρκινώματος του μαστού είναι αποδεκτή όταν περισσότερα του 50% των κυττάρων του όγκου είναι ανοσοθετικά για νευροενδοκρινείς δείκτες. Ο όρος NOS καρκινώματα με εστιακή νευροενδοκρινή διαφοροποίηση, προσδιορίζει όγκους που περιέχουν 10-50% κύτταρα θετικά για νευροενδοκρινείς δείκτες είτε στο διηθητικό ή στο *in situ* στοιχείο τους. Η ομάδα αυτή αποτελεί το 10-18% των καρκινωμάτων μαστού στους ανθρώπους^{2,3}. Η φύση των νευροενδοκρινών καρκινωμάτων του μαστού εκτός από ειδικές ιστοχημικές και ανοσοϊστοχημικές τεχνικές, έχει τεκμηριωθεί με μελέτες σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, *in situ* υβριδισμό και RT-PCR.

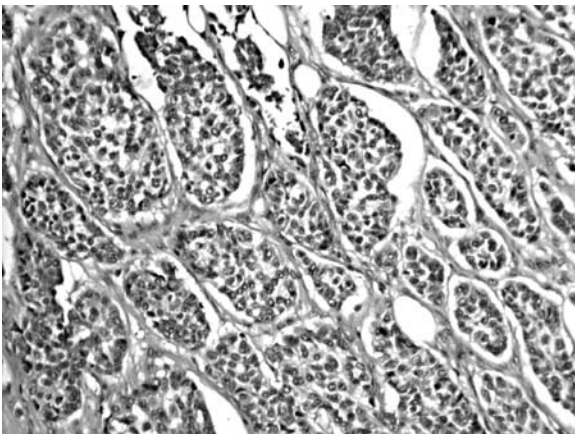
Οι υποδοχείς σωματοστατίνης (*sstr*) είναι ειδικές πρωτεΐνες που εντοπίζονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Έχουν απομονωθεί πέντε τύποι που κωδικοποιούνται από ισάριθμα διαφορετικά γονίδια, ενώ ο *sstr2* έχει δύο διακριτές μορφές τον *sstr2A* και τον *sstr2B*, οπότε το σύνολο των υποδοχέων ανέρχεται σε έξι. Οι *sstr* αντιπροσωπεύουν θέσεις συνδέσεως της σωματοστατίνης που αποτελεί το φυσικό προσδέτη, καθώς και των αναλόγων της. Τα τελευταία αντιστοιχούν σε μόρια με ισχυρή κατασταλτική δράση στην έκκριση των νευροενδοκρινών κυττάρων και έχουν σημαντικές θεραπευτικές και διαγνωστικές εφαρμογές. Μελέτες διάφορων νευροενδοκρινών όγκων έχουν δείξει ότι το οκρεοτίδιο, το πλέον αντιπροσωπευτικό από τα ανάλογα σωματοστατίνης, συνδέεται με τους *sstr 2* και *5*, και μόνο με τους *sstr2* στο *octreoscan*.

Στη μελέτη μας ανιχνεύθηκαν ανοσοϊστοχημικά οι διάφοροι *sstr* σε ενδοκρινή καρ-

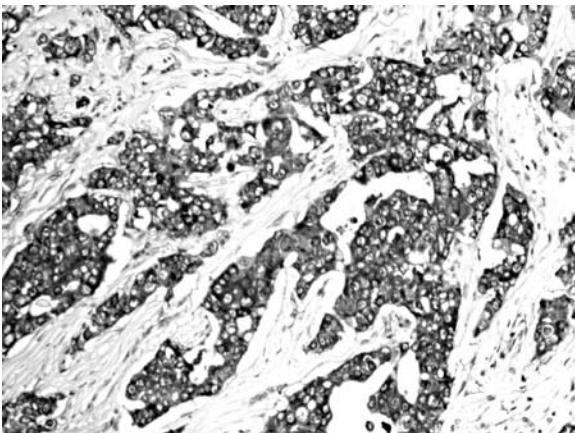
κινώματα και σε καρκινώματα με ενδοκρινή διαφοροποίηση του μαστού. Η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας έδειξε ότι μέχρι σήμερα δεν έχει παρουσιασθεί καμία συστηματική ανοσοϊστοχημική μελέτη της παρουσίας και του τύπου των sstr σε νευροενδοκρινή καρκινώματα του μαστού.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Μελετήθηκαν 10 καρκινώματα μαστού με νευροενδοκρινή μορφολογικά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά και διαχωρίστηκαν σε



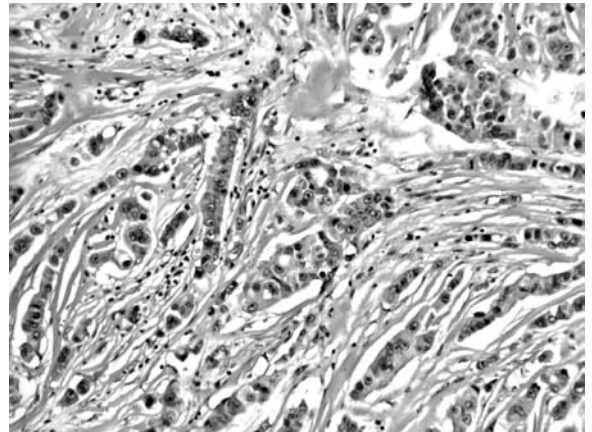
Εικόνα 1. Τυπική υφή νευροενδοκρινούς όγκου που συγκροτείται από πυκνά διατεταγμένες σφαιροειδείς νησίδες νεοπλασματικών κυττάρων με ήπια ατυπία (Αιματοξυλίνη-Ηωσίνη 10X).



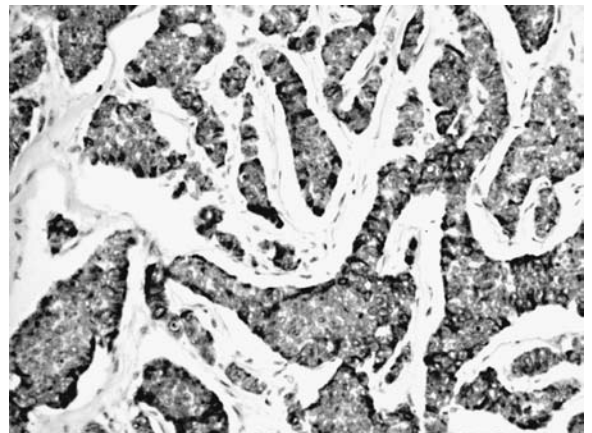
Εικόνα 3. Εκτεταμένη ανοσοθετικότητα των κυττάρων του καρκινώματος για συναπτοφυσίνη (ABC 20X).

δύο κατηγορίες με βάση την ανοσοθετικότητα για τους δείκτες νευροενδοκρινών κυττάρων χρωμογρανίνη, συναπτοφυσίνη και ειδική ενολάση των νευρώνων (NSE). Όγκοι με περισσότερα από 50% κύτταρα θετικά ταξινομήθηκαν ως νευροενδοκρινή καρκινώματα, ενώ όγκοι με 10-50% νευροενδοκρινή κύτταρα εντάχθηκαν στην κατηγορία των καρκινωμάτων με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση.

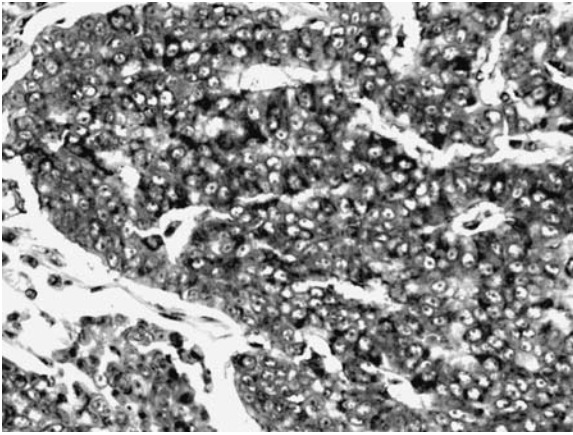
Ανοσοϊστοχημικά, όλοι οι όγκοι ελέγχθηκαν με χρωμογρανίνη (αραίωση 1:50, Zymed,



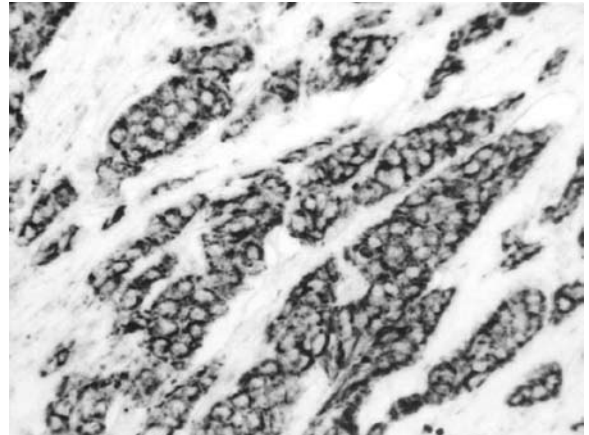
Εικόνα 2. Νευροενδοκρινές καρκίνωμα αποτελούμενο από λεπτές δοκιδώδεις βλάστες. Τα νεοπλασματικά κύτταρα εμφανίζουν αποκρινή χαρακτηριστικά. Εμφανίζουν οξύφιλο κοκκιδώδες κυτταρόπλασμα και ευμεγέθεις πυρήνες με έντονο πυρήνιο (Αιματοξυλίνη-Ηωσίνη 10X).



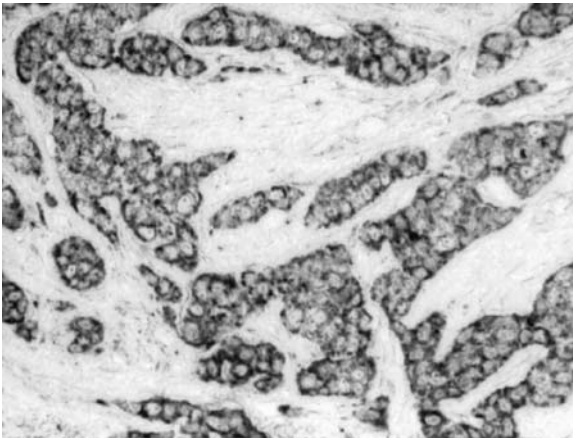
Εικόνα 4. Εστιακή ανοσοθετικότητα των νευροενδοκρινών κυττάρων του καρκινώματος για χρωμογρανίνη (ABC 20X).



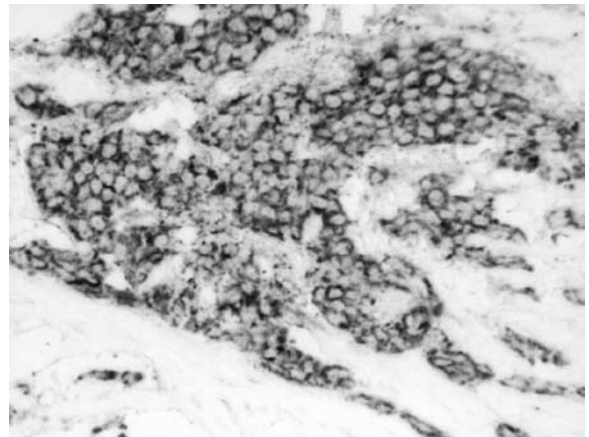
Εικόνα 5. Εκλεκτικά θετικό αποτέλεσμα για NSE σε νευροενδοκρινές καρκίνωμα μαστού (ABC 20X).



Εικόνα 6. Έντονη ανοσοθετικότητα για sstr2A (3+) σε νευροενδοκρινές καρκίνωμα μαστού με έντονη και συνεχή μεμβρανική κατανομή (ABC-TSA, 20X).



Εικόνα 7. Έντονη ανοσοθετικότητα για sstr2B (3+) σε νευροενδοκρινές καρκίνωμα μαστού με συνεχή μεμβρανική κατανομή (ABC-TSA, 20X).

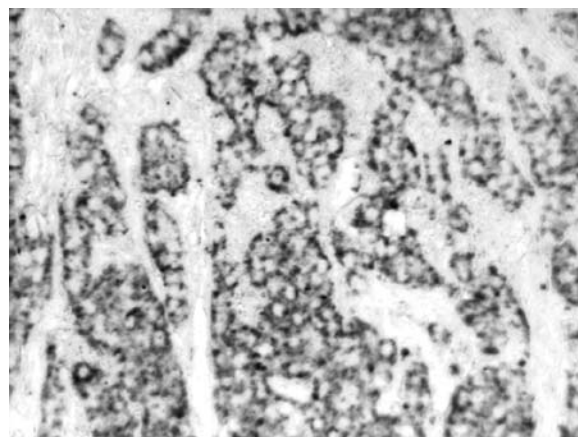
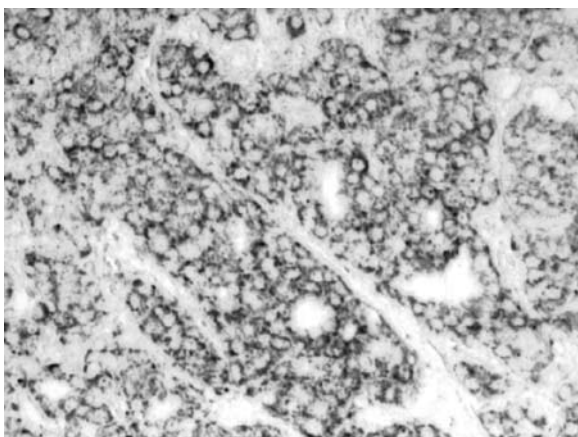


Εικόνα 8. Έντονη έκφραση sstr3 (3+) με συνεχή κατανομή κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης (ABC-TSA, 20X).

San Francisco, CA, USA), συναπτοφυσίνη (αραίωση 1:50, Zymed) και NSE (αραίωση 1:500, Dako A/S, Glostrup Denmark). Χρησιμοποιήθηκε η τυπική τεχνική της αβιδίνης-βιοτίνης-συμπλέγματος υπεροξειδάσης (ABC) (Vector Laboratories, Inc., Burlingame CA). Η διαμινοβενζιδίνη (DAB) χρησιμοποιήθηκε ως χρωμογόνο με αντίχρωση αιματοξυλίνης.

Για τους sstr χρησιμοποιήθηκαν πολυκλωνικοί αντιορροί ειδικοί για κάθε ένα από τους έξι διαφόρους τύπους (sstr1, sstr2A, sstr2B, sstr3, sstr4 και sstr5) σε αραιώση 1:3000 (Gramsch Lab, Schwabhausen, Germany). Για την ανάδειξη των θέσεων συνδέσεως χρησιμοποιήθηκε

επίσης το σύστημα ABC με ενίσχυση του σήματος με την τεχνική της τυραμίδης: Tyramide Signal Amplification TSA (Catalyzed Signal Amplification kit, Dako Carpinteria, CA, USA) όπως περιγράφηκε σε προηγούμενη μελέτη⁴. Οι τομές επώασθησαν με το πρωτοταγές αντίσωμα για 18 ώρες σε θερμοκρασία 4° C. Ως θετικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν αδενώματα υποφύσεως, μυελοειδή καρκινώματα θυρεοειδούς και καρκινώματα μαστού⁵. Τομές με υποκατάσταση του αντιορρού με ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκαν ως αρνητικοί μάρτυρες. Η διαβάθμιση της ανοσοθετικότητας των sstr στη μεμβράνη των κυττάρων του



Εικόνα 9. Μέτρια έντονη έκφραση sstr4 (2+) στη μεγαλύτερη έκταση με ασυνεχή κατανομή στην κυτταρική μεμβράνη (ABC-TSA, 20X).

Εικόνα 10. Έντονη εστιακά έκφραση sstr5 (3+) με εκλεκτική μεμβρανική κατανομή (ABC-TSA, 20X).

καρκινώματος βασίσθηκε στο τετραβάθμιο σύστημα αξιολογήσεως του Her-2/neu που χρησιμοποιείται ευρέως στα καρκινώματα μαστού (Πίνακας 1).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Έξι από τους όγκους ταξινομήθηκαν ως νευροενδοκρινή καρκινώματα και οι λοιποί τέσσερις ως καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση (Πίνακας 2). Οι περισσότεροι όγκοι ήταν βαθμού κακοήθειας II, δύο βαθμού III και ένας βαθμού I. Επτά ασθενείς ήταν θήλεις και τρεις άρρενες. Η ηλικία των ασθενών κυμαίνονταν από 46 έως 80 έτη. Τρία νευροενδοκρινή καρκινώματα και ένα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση είχαν μορφολογικά χαρακτηριστικά βλεννώδους τύπου, με παρουσία εκτεταμένων λιμνών βλέννης. Μόνο ένα καρκίνωμα είχε τυπική ιστολογική εικόνα καλά διαφοροποιημένου ενδοκρινούς τύπου. Στους λοιπούς όγκους ετέθη υποψία νευροενδοκρινούς καρκινώματος, λόγω της παρουσίας περιοχών με μονόμορφο κυττα-

ρικό πληθυσμό με συμπαγή διαμόρφωση, ή λόγω απουσίας έκδηλης πυρηνικής πολυμορφίας. Στους όγκους αυτούς η αρχική υποψία επιβεβαιώθηκε ανοσοϊστοχημικά με δείκτες νευροενδοκρινών κυττάρων. Τέσσερα από τα έξι νευροενδοκρινή και ένα καρκίνωμα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση ήταν θετικά για όλους τους νευροενδοκρινείς δείκτες. Η χρωμογρανίνη εμφάνιζε τη μεγαλύτερη ετερογένεια κατανομής, ιδιαίτερα στα καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση.

Η παρουσία sstr στα νευροενδοκρινή καρκινώματα και στα καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση ήταν ποικίλη. Ανιχνεύθηκαν σε πέντε από τα έξι νευροενδοκρινή καρκινώματα και σε δύο από τα τέσσερα καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση. Ετερογένεια στην κατανομή, ένταση και συνέχεια της μεμβρανικής εντοπίσεως παρουσίαζαν όλοι οι sstr. Η ετερογένειά ήταν εντονότερη στα καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση. Συχνότερα εμφανιζόμενοι υποδοχείς ήταν οι sstr2B και sstr5, ακολουθούμενοι από τους sstr2A, sstr3 και sstr4 (Πίνακας 2). Σε κανέναν

Πίνακας 1. Σύστημα διαβαθμίσεως για την εκτίμηση της ανοσοσθετικότητας των sstr ανάλογο με το χρησιμοποιούμενο για το Her-2/neu στα καρκινώματα του μαστού

Βαθμός	Αποτέλεσμα	Αριθμός κυττάρων	Τύπος μεμβρανικής χρώσεως
0	Αρνητικό ή θετικό	<10%	—
1+	Θετικό	>10%	Αβλυχή ή ασυνεχής
2+	Θετικό	>10%	Ήπια έως μέτρια, συνεχής
3+	Θετικό	>10%	Έντονη, συνεχής

Πίνακας 2. Παρουσίαση των ιστολογικών, καθώς και των ανοσοϊστοχημικών χαρακτηριστικών των όγκων μαστού για δείκτες νευροενδοκρινών κυττάρων και για sstr.

A/A	Φύλ/ Ηλ.	Grade	NE Τύπος	Άλλα Χαρακτηριστικά	Συν.	Χρωμ.	NSE	sstr1	sstr2A	sstr2B	sstr3	sstr4	sstr5
1	Θ/54	III	NEK	ΠΔΚ	+	+	+	0	3+	3+	3+	0	3+
2	A/76	III	NEK	Βλεννώδεις	+	+	+	0	0	0	0	0	0
3	Θ/70	II	NEK	Βλεννώδεις	+	+	+	0	0	1+	3+	0	0
4	Θ/80	II	NEK	ΠΔΚ	+	+	-	0	0	1+	2+	1+	1+
5	Θ/75	II	NEK	Βλεννώδεις	+	+	+	0	1+	1+	0	1+	1+
6	A/79	I	NEK	Τυπικός ΝΕΟ	-	-	+	0	0	0	0	0	0
7	Θ/46	II	NEΔ	ΠΔΚ	+	+	+	0	0	0	0	0	0
8	Θ/80	II	NEΔ	ΠΔΚ	-	+	+	0	3+	0	0	2+	3+
9	A/75	II	NEΔ	ΠΔΚ	+	-	+	0	0	0	0	0	0
10	Θ/74	II	NEΔ	Βλεννώδεις	+	+	-	0	1+	2+	1+	0	1+

NE: Νευροενδοκρινής, Συν.: Συναπτοφυσίνη, Χρωμ.: Χρωμογρανίνη, NSE: Ειδική ενολάση των νευρώνων, sstr: Υποδοχέας σωματοστατίνης, NEK: Νευροενδοκρινές καρκίνωμα, NEΔ: Νευροενδοκρινής διαφοροποίηση, ΝΕΟ: Νευροενδοκρινής όγκος, ΠΔΚ: Πορογενές διηθητικό καρκίνωμα

από τους όγκους δεν ανιχνεύθηκε ο sstr1.

Η έκφραση των υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη ήταν κυρίως βαθμού 1+ σε 11 από τους 21 συνολικά θετικούς sstr, ενώ ήταν 3+ σε 7 sstr και 2+ σε 3 sstr. Διαφόρου βαθμού ανοσοθετικότητα των sstr, αλλά σαφώς ηπιότερη της μεμβρανικής παρατηρήθηκε στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων του καρκινώματος.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα νευροενδοκρινή ή ενδοκρινή καρκινώματα, παλαιότερα αναφερόμενα ως «καρκινοειδή», προέρχονται από κύτταρα του συστήματος των διασπάρτων ενδοκρινών κυττάρων. Αποτελούν ετερογενή ομάδα νεοπλασμάτων με κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά. Τα αμιγή νευροενδοκρινή καρκινώματα του μαστού είναι σπάνια νεοπλάσματα, ενώ μέχρι 8% του συνόλου των καρκινωμάτων του μαστού εμφανίζουν στοιχεία νευροενδοκρινούς διαφοροποίησης¹. Εντούτοις, η συχνότητα αυτή είναι αμφισβητήσιμη, δεδομένου ότι ένα μέρος τους δεν εμφανίζει έκδηλα νευροενδοκρινή χαρακτηριστικά στις κοινές ιστολογικές χρώσεις και επειδή δεν εφαρμόζονται δείκτες νευροενδοκρινών κυττάρων στην τρέχουσα διαγνωστική. Επομένως, μέρος των νευροενδοκρινών καρκινωμάτων του μαστού παραμένει ανεξιχνίαστο⁶.

Ιστολογικά, τα καρκινώματα αυτά χαρακτηρίζονται από αναστομούμενες συμπαγείς ή

δοκιδώδεις βλάστες. Διαφοροποιημένοι όγκοι συγκροτούνται από μικρού ή μέσου μεγέθους κύτταρα, ενίοτε πλασματοκυτταροειδή, ατρακτόμορφα ή τύπου σφραγιστήρος δακτυλίου. Τυπικά εμφανίζουν κοκκιώδεις κυτταρόπλασμα και περιλαμβάνουν υποστρόγγυλους πυρήνες με κοκκιώδη χρωματίνη. Τα χαμηλής διαφοροποίησης νευροενδοκρινή καρκινώματα έχουν μορφολογικά χαρακτηριστικά ανάλογα με τα μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα². Άλλα παρουσιάζουν ενδιάμεσα χαρακτηριστικά και μόνο θέσεις κυτταρικής ομοιομορφίας μπορεί να εγείρουν υποψία νευροενδοκρινούς τύπου. Συχνά εμφανίζουν βλεννώδη διαφοροποίηση και προσλαμβάνουν χαρακτηριστικά βλεννώδους καρκινώματος όπως οι τέσσερις από τις περιπτώσεις μας, ενώ άλλοτε παρουσιάζουν αποκρινή κυτταρική μορφολογία.

Η παρουσία νευροενδοκρινών κυττάρων στο φυσιολογικό μαστό, σε μαστό γαλουχίας και σε καλοήθεις παθήσεις δεν έχει αποδειχθεί με βεβαιότητα, παρ' ότι η ανοσοϊστοχημεία έχει αναδείξει κύτταρα θετικά για χρωμογρανίνη A, ενώ σε μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχουν αναγνωρισθεί κύτταρα με αδρά κοκκία^{7,8}. Η διπλή κυτταρική διαφοροποίηση των φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυττάρων του μαστού προς αδενικό και νευροενδοκρινή τύπο αποδίδεται στην ύπαρξη πολυδυνάμων αρχηγόνων κυττάρων (stem cells)⁹.

Είναι γνωστό ότι τα καρκινώματα αυτά έχουν υποδοχείς στεροειδών ορμονών, όπως

οιστρογόνων, προγεστερόνης και ανδρογόνων¹⁰. Είναι γνωστό επίσης ότι μέχρι 85% των NOS καρκινωμάτων του μαστού εμφανίζουν θετικούς sstr2A ή/και sstr2B⁴. Στη μελέτη μας δείξαμε ότι τα νευροενδοκρινή καρκινώματα εκφράζουν συχνά sstr.

Η σωματοστατίνη ανιχνεύτηκε προ 30ετίας στον υποθάλαμο των θηλαστικών και προσδιορίστηκε βιοχημικά ως δεκατετραπεπτίδιο με ανασταλτική δράση στην έκλυση της αυξητικής ορμόνης¹¹. Φυσιολογικά υπάρχουν δύο βιολογικά ενεργά πεπτίδια, SST-14 και η SST-28, που σήμερα γνωρίζουμε ότι παράγονται από νευρώνες, ή από ενδοκρινή κύτταρα σε πολλά όργανα του ανθρώπινου σώματος¹². Η σωματοστατίνη έχει παρακρινή και αυτοκρινή δράση, καθώς και δράση ορμόνης μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας σε απομακρυσμένα όργανα στόχους. Οι δράσεις της είναι ποικίλες: προκαλεί αναστολή της εκκρίσεως των ενδοκρινών και εξωκρινών αδενικών κυττάρων, καθώς και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Καταστέλλει επίσης την κινητικότητα των οργάνων του γαστρεντερικού σωλήνα και προκαλεί αγγειοσύσπαση στα σπλαχνικά αγγεία¹².

Η σωματοστατίνη δρα μέσω ειδικών πρωτεϊνικών υποδοχέων που εντοπίζονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των κυττάρων στόχων¹³⁻¹⁵.

Στην παρούσα μελέτη οι sstr2B και sstr5 ανιχνεύθηκαν συχνότερα, ακολουθούμενοι από τους, sstr2A, sstr3 και sstr4. Σε κανέναν από τους όγκους δεν ανιχνεύθηκε ο sstr1. Ανάλογες ανοσοϊστοχημικές μελέτες γαστρεντεροπαγκρεατικών νευροενδοκρινών όγκων έχουν δείξει μεγαλύτερη συχνότητα των sstr2 (68,2%) και sstr5 (63,6%), και σε μικρότερο βαθμό sstr3 (36,4%)^{16,17}. Παρομοίως, σε μελέτη που περιέλαβε 14 τυπικά και άτυπα «καρκινοειδή» του πνεύμονα οι sstr2, sstr3 και sstr5 ανιχνεύθηκαν σε 11, σε 3 και σε 2 όγκους αντίστοιχα. Σε λειτουργικά αδενώματα υποφύσεως που παράγουν αυξητική ορμόνη ο sstr5 ανιχνεύθηκε σε όλους τους όγκους, ο sstr2A στο 96,5% των αδενωμάτων και σε μικρότερη συχνότητα οι sstr2B, sstr4, sstr3 και sstr1. Στα αδενώματα με παραγωγή προλακτίνης, επικρατέστερος ήταν ο sstr5 (85,3%), ακολουθούμενος από τον sstr2A και sstr1 και από μικρότερα ποσοστά οι sstr3 και sstr 4, ενώ ο sstr2B δεν ανιχνεύθηκε. Τέλος, στα γαλακτοσωματοτρόπα αδενώματα, επικρατέστεροι υποδοχείς ήταν οι sstr5 και sstr2A (95,6%), ακολουθούμενοι από τους

sstr4, sstr 1, sstr 3 και sstr2B. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τις περισσότερες προηγούμενες μελέτες διερευνησεως των sstr που βασίσθηκαν σε μοριακές και τεχνικές ραδιοϊστοτοπικής συνδέσεως⁵. Οι μέθοδοι αυτές απαιτούν εξειδικευμένα εργαστήρια και εκπαιδευμένο προσωπικό, είναι χρονοβόρες, εφαρμόζονται συνήθως σε νωπό υλικό και τα αποτελέσματά τους δεν έχουν καλή συσχέτιση με την κυτταρική μορφολογία¹⁸. Αντίθετα, η ανοσοϊστοχημεία, όχι μόνο μπορεί να εφαρμοσθεί σε κάθε σύγχρονο εργαστήριο, αλλά και να ανιχνεύσει τους sstr σε μονιμοποιημένους ιστούς ή ακόμα και σε υλικό αρχείου.

Η διαβάθμιση της εκφράσεως των υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη ήταν κυρίως 1+ σε 11 από τους 21 συνολικά θετικούς sstr, ενώ ήταν 3+ σε 7 sstr και 2+ σε 3 sstr. Η παρατηρηθείσα κυτταροπλασματική χρώση δεν αποτελεί τεχνικό σφάλμα. Αποδίδεται στην ενδοκύτωση των sstr που προκαλείται από τη σύνδεση με τη σωματοστατίνη, μηχανισμός απαραίτητος για να επιτευχθεί η δράση της¹⁸. Επίσης sstr που δεν έχουν συνδεθεί με σωματοστατίνη μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα και αποδομούνται. Η διαδικασία αυτή ερμηνεύει την ταχυφύλαξη που παρατηρείται σε θεραπευτική αντίσταση μετά από παρατεταμένη χορήγηση αναλόγων σωματοστατίνης¹⁹. Δεδομένου ότι οι ενδοκυττωμένοι υποδοχείς καθίστανται πλέον ανενεργείς, μόνο η μεμβρανική ανοσοθετικότητα του υποδοχέα αντανακλά τη λειτουργική του κατάσταση. Επομένως, η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της πρωτεΐνης του υποδοχέα και η εκτίμηση της πυκνότητάς της στην κυτταρική μεμβράνη έχει ουσιαστική σημασία για την αποτελεσματικότητα της θεραπευτικής δράσεως των αναλόγων σωματοστατίνης²⁰.

Στην παρούσα μελέτη, δείξαμε ότι η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την ανίχνευση των sstr στους νευροενδοκρινείς όγκους του μαστού. Ιδιαίτερη σημασία έχουν οι sstr2 και sstr5 με τους οποίους συνδέονται τα ανάλογα σωματοστατίνης, και ο sstr2 για την ανίχνευση υπολειμματικής εστίας και μεταστάσεων με το octreoscan. Η παρουσία νευροενδοκρινούς φαινοτύπου σε καρκινώματα μαστού υποδηλώνει ένδειξη συνδυασμένης χημειοθεραπείας και ορμονοθεραπείας²¹. Κατά μείζονα λόγο, σύμφωνα με τα ευρήματά μας, η εφαρμογή στοχεύουσας θεραπείας με ανάλογα σωματοστατίνης μπορεί να συμβάλλει στην επίτευξη του μείζονος θεραπευτικού αποτελέ-

σματος. Ειδικά, νευροενδοκρινή καρκινώματα με διαβάθμιση 3+ αναμένεται να παρουσιάσουν μεγαλύτερη ανταπόκριση στη χορήγηση αναλόγων σωματοστατίνης.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η μελέτη τιμήθηκε το 2006 με το Έπαθλο “Ουρανία Αναστασιάδου” στα πλαίσια του 10^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Παθολογικής Ανατομικής, Ιωάννινα. Οι συγγραφείς ευχαριστούν το Ελληνικό Τμήμα της International Academy of Pathology για την αθλοθέτηση και το Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Γ. Γεννηματάς για τη χρηματοδότηση του Επάθλου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Papotti M, Gherardi G, Eusebi V, Pagani A, Bussolati G. Primary oat cell (neuroendocrine) carcinoma of the breast. Report of four cases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 420:103-108, 1992.
- Sapino A, Bussolati G. Is detection of endocrine cells in breast adenocarcinoma of diagnostic and clinical significance? *Histopathology* 40:211-214, 2002.
- Miremadi A, Pinder SE, Lee AHS, Bell JA, Paish EC, Wencyck P, et al. Neuroendocrine differentiation and prognosis in breast carcinoma. *Histopathology* 40:215-222, 2002.
- Schultz S, Schmitt J, Wiborny D, Schmidt H, Olbricht S, Weise W, et al. Immunocytochemical detection of somatostatin receptors sst1, sst2A, sst2B and sst3 in paraffin-embedded breast cancer tissue using subtype-specific antibodies. *Clin Cancer Res* 2047-2052, 1998.
- Thodou E, Kontogeorgos G, Theodossiou D, Pateraki M. Mapping of somatostatin receptor types in GH or/and PRL- producing pituitary adenomas. *J Clin Pathol* 59:274-279, 2006.
- Makretsov N, Gilks CB, Coldman AJ, Hayes M, Huntsman D. Tissue microarray analysis of neuroendocrine differentiation and its prognostic significance in breast cancer. *Hum Pathol* 34:1001-1008, 2003.
- Bussolati G, Gugliotta P, Sapino A, Eusebi V, Lloyd RV. Chromogranin-reactive endocrine cells in argyrophilic carcinomas (“carcinoids”) and normal tissue of the breast. *Am J Pathol* 120:186-92, 1985.
- Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Rivier J, Guillemain R. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone *Science* 129:77-79, 1972.
- Ferguson DJP, Anderson TJ. Distribution of dense core granules in normal, benign and malignant breast tissue. *J Pathol* 147:59-65, 1985.
- Maluf HM, Koerner FC. Carcinomas of the breast with endocrine differentiation: A review. *Virchows Arch* 425:449-457, 1994.
- Bofin AM, Qvigstad G, Waldum C, Waldum HL. Neuroendocrine differentiation in carcinoma of the breast. Tyramide signal amplification discloses chromogranin A-positive tumour cells in more breast tumours that previously realized. *APMJS* 110:658-664, 2002.
- Reichlin S. Somatostatin. *N Engl J Med* 309:1495-501, 1983.
- Patel YC. Molecular pharmacology of somatostatin receptor subtypes. *J Endocrinol Invest* 20:348-67, 1997.
- Reubi JC, Schaer JC, Waser B, Mengod G. Expression and localization of somatostatin receptor SSTR1, SSTR2, and SSTR3 messenger RNAs in primary human tumors using in situ hybridization. *Cancer Res* 54:3455-3459, 1994.
- Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol* 20:157-198, 1999.
- Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, et al. Expression of somatostatin receptors 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic tumors. A correlative immunohistochemical and reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Virchows Arch* 440:461-475, 2002.
- Papotti M, Croce S, Bello M, Bongiovanni M, Allia E, Schindler M, et al. Expression of somatostatin receptor 2,3 and 5 in biopsy and surgical specimens of human lung tumors. Correlation with preoperative octreotide scintigraphy. *Virch Arch*, 439:787-797, 2001.
- Reubi JC. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev* 24:389-427, 2003.
- Hofland LJ, Lamberts SW. The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev* 24:28-47, 2003.
- Oda Y, Tanaka Y, Naruse T, Sasanabe R, Tsubamoto M, Funahashi H. Expression of somatostatin receptor and effects of somatostatin analog on pancreatic endocrine tumors. *Surg Today* 36:690-694, 2002.
- Berruti A, Saini E, Leonardo S, Cappia P, Borasio L, Dogliotti L. Management of neuroendocrine differentiated breast carcinoma. *Breast* 13:527-529, 2004.

Corresponding author:

George Kontogeorgos
Παθολογοανατομικό Τμήμα, General Hospital “G. Gennimatas”
Messogion 154, 115 27 Athens
Tel./Fax: 210-7784302

Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Γιώργος Κοντογεώργος
Παθολογοανατομικό Τμήμα, Γ.Ν.Α. “Γ. Γεννηματάς
Μεσογείων 154, 115 27 Αθήνα
Τηλ./Fax: 210-7784302