

Η διαγνωστική χρησιμότητα της έκφρασης του θυρεοειδικού παράγοντα μεταγραφής (TTF1) σε πλευριτικά υγρά

Νέπκα Χ.¹, Καρατάνα Μ.¹, Μπαρμπάνης Σ.¹, Μακρής Δ.²,
Καρασαββίδου Φ.¹, Γουργουλιάνης Κ.², Κουκούλης Γ.¹

Diagnostic utility of thyroid transcription factor (TTF1) expression in pleural effusion specimens

Nepka C.¹, Karadana M.¹, Barbanis S.¹, Makris D.², Karasavvidou F.¹,
Gourgoulianis K.², Koukoulis G.¹

¹Pathology Dept and ²Respiratory Dept of University Hospital of Larisa

Aim The aim of this study was to examine the clinical utility of thyroid transcription factor (TTF1) expression in pleural effusions with positive cytologic diagnosis. We studied the usefulness of the immunostain in supporting the diagnosis of adenocarcinoma of pulmonary origin as well as its utility in the detection of single neoplastic cells in the evaluation of metastatic disease in pleural effusions. Finally, we studied the applicability of the immunostain in cytologic material by comparative analysis of the immunocytochemical expression of TTF1, both quantitatively and qualitatively, on cell block material and on the corresponding direct smears prepared from the sediment of the pleural effusion. **Materials and Methods** We studied 39 cases of positive pleural effusions. In 14 the primary site was unknown at the time of cytologic diagnosis while in 25 cases the clinical question was related to the presence of metastatic disease in pleural cavity from patients with a known primary neoplasm. Immunocytochemical stains were performed on cell block material as well as on direct smears from the pellet of pleural effusion. **Results** From the 14 effusions with unknown primary lesion, 7 were positive for TTF1. This information in relation with other clinical and laboratory findings supported the diagnosis of adenocarcinoma of pulmonary origin, except for one case of a primary lung cancer where the immunostain was negative. From the 25 effusions with a known primary site cytology was positive in 2 lung small cell carcinomas and 7 lung adenocarcinomas all of them positive for TTF1 except for one adenocarcinoma. The immunostain was helpful in two cases where the neoplastic cells were few and dispersed. In addition, in one case with known primary breast cancer, TTF1 was positive indicating a second primary tumor in the lung. **Conclusions** TTF1 im-

munostain is a very useful marker in the diagnostic approach of positive pleural effusions. It can reliably support the diagnosis of a primary lesion of pulmonary origin. It is also helpful in the detection of single, dispersed neoplastic cells in the pleural cavity. Finally, TTF1 is applicable to cytologic smears and the expression of the stain in smears gives comparable results with cell block material.

Key words: TTF1, pleural effusion, immunocytochemistry

Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετηθεί η διαγνωστική χρησιμότητα της ανοσοκυτταροχημικής έκφρασης του θυρεοειδικού παράγοντα μεταγραφής (TTF1) σε πλευριτικά υγρά με θετική κυτταρολογική απάντηση. Μελετήθηκε η συμβολή της ανοσοχρώσης στην κατάδειξη της πρωτοπαθούς εστίας καθώς και στην αναγνώριση μεμονωμένων νεοπλασματικών κυττάρων κατά τη διερεύνηση μεταστατικής νόσου στο πλευριτικό υγρό. Τέλος, μελετήθηκε η εφαρμογή της χρώσης σε κυτταρολογικό υλικό κατόπιν συγκριτικής μελέτης της ανοσοκυτταροχημικής έκφρασης της χρώσης, ποσοτικά και ποιοτικά, στα πλακίδια που προέκυψαν μετά από διαφορετική επεξεργασία του πλευριτικού υγρού με την παρασκευή cell blocks και με την άμεση επίστρωση του ιζήματος. **Υλικό και μέθοδος** Μελετήθηκαν 39 περιπτώσεις πλευριτικών υγρών κυτταρολογικά θετικών για κακοήθεια. Από αυτά σε 14 η πρωτοπαθής εστία ήταν άγνωστη την στιγμή της κυτταρολογικής διάγνωσης ενώ σε 25 περιπτώσεις το κλινικό ερώτημα αφορούσε στην πιθανή διάγνωση μετάστασης από γνωστό πρωτοπαθές νεόπλασμα. Οι ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις εφαρμόστηκαν σε υλικό cell block που παρασκευάζονταν από το ίζημα του πλευριτικού υγρού καθώς και σε πλακίδια κατόπιν άμεσης επίστρωσης του ιζήματος. **Αποτελέσματα** Από τα 14 υγρά ασθενών με άγνωστη πρωτοπαθή εστία τα 7 αποδείχθηκαν θετικά στην χρώση TTF1. Η πληροφορία αυτή σε σχέση και με τα υπόλοιπα κλινικοεργαστηριακά δεδομένα κατηύθυνε τη διάγνωση προς πρωτοπαθές καρκίνωμα του πνεύμονα. Μόνο σε μία περίπτωση με αρνητική ανοσοχρώση ο έλεγχος έδειξε αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα. Από τα 25 υγρά γνωστής πρωτοπαθούς εστίας διαγνώστηκαν 2 μικροκυτταρικά καρκινώματα και 7 αδενοκαρκινώματα του πνεύμονα όλα θετικά στην ανοσοχρώση εκτός από ένα αδενοκαρκίνωμα. Σημαντική βοήθεια προσέφερε η χρώση σε δύο περιπτώσεις όπου τα νεοπλασματικά κύτταρα ήταν λίγα και μεμονωμένα. Επίσης σε μία περίπτωση με γνωστό ιστορικό καρκινώματος μαστού, η χρώση ήταν θετική συμβάλλοντας έτσι στη διάγνωση δεύτερου πρωτοπαθούς νεοπλάσματος στον πνεύμονα. **Συμπεράσματα** Η ανοσοκυτταροχημική χρώση TTF1 είναι εξαιρετικά χρήσιμος δείκτης στη διαγνωστική προσέγγιση των θετικών πλευριτικών υγρών. Μπορεί με αξιοπιστία να στηρίζει την αναγνώριση της πρωτοπαθούς εστίας από τον πνεύμονα και επίσης να αναδείξει μεμονωμένα νεοπλασματικά κύτταρα ταυτοποιώντας την παρουσία μεταστατικής νόσου. Τέλος, η εφαρμογή της χρώσης σε επιχρίσματα έχει εξίσου καλά αποτελέσματα σε σχέση με το cell block όσον αφορά στην έκφραση του TTF1.

Λέξεις κλειδιά: TTF1, πλευριτικό υγρό, ανοσοκυτταροχημεία

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο θυρεοειδικός παράγοντας μεταγραφής (TTF1) είναι μια πυρηνική πρωτεΐνη που φυ-

σιολογικά εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα, των θυλακίων του θυρεοειδούς και σε περιοχές του εμβρυϊκού εγκεφάλου¹. Ο TTF1 παίζει σημαντικό ρόλο στη μορφογέ-

νεση του πνεύμονα². Επίσης, συνδέεται και ενεργοποιεί γονίδια που σχετίζονται με τον επιφανειοδραστικό παράγοντα (surfactant) καθώς και τις πρωτεΐνες που εκκρίνονται από τα κύτταρα Clara³. Η διαγνωστική αξία του TTF1 μελετήθηκε εκτεταμένα σε ιστολογικές τομές από νεοπλάσματα του πνεύμονα και φαίνεται ότι είναι ένας δείκτης με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για συγκεκριμένους τύπους πρωτοπαθούς καρκίνου του πνεύμονα⁴⁻⁸. Οι μελέτες σε κυτταρολογικά υλικά δεν είναι πολλές και αφορούν στην πλειονότητά τους σε υλικό cell block⁹⁻¹³. Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετηθεί η διαγνωστική χρησιμότητα της ανοσοκυτταροχημικής έκφρασης του θυρεοειδικού παράγοντα μεταγραφής (TTF1) σε πλευριτικά υγρά με θετική κυτταρολογική διάγνωση. Μελετήθηκε η συμβολή της χρώσης όσον αφορά στην κατάδειξη της πρωτοπαθούς εστίας καθώς και στη συμβολή της στην αναγνώριση της μεταστατικής νόσου στο πλευριτικό υγρό. Επίσης, στην εργασία έγινε συγκριτική μελέτη της ανοσοκυτταροχημικής έκφρασης του TTF1, ποσοτικά και ποιοτικά, στα πλακίδια που προέκυψαν μετά από διαφορετική επεξεργασία του πλευριτικού υγρού είτε με την παρασκευή cell block ή με την άμεση επίστρωση του ιζήματος σε πλακίδια.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μελέτη έγινε στα πλαίσια κλινικής διαγνωστικής διερεύνησης (audit study) πλευριτικών συλλογών. Μελετήθηκαν 39 περιπτώσεις κυτταρολογικά θετικών πλευριτικών υγρών στις οποίες υπήρξε η δυνατότητα παρασκευής υλικού cell block, καθώς επίσης πλήρης κλινικός και εργαστηριακός έλεγχος των ασθενών. Η μελέτη αφορούσε σε διάστημα 10 μηνών. Από τις περιπτώσεις μας σε 14 η πρωτοπαθής εστία ήταν άγνωστη την στιγμή της κυτταρολογικής διάγνωσης ενώ σε 25 περιπτώσεις το κλινικό ερώτημα αφορούσε στην πιθανή διάγνωση μετάστασης από γνωστό πρωτοπαθές νεόπλασμα. Τα υγρά φυγοκεντρήθηκαν και το ίζημα επιστρώθηκε σε πλακίδια με τη συμβατική μέθοδο επεξεργασίας. Ακολούθησε χρώση των πλακιδίων κατά Παπανικολάου και Giemsa. Από το ίζημα παρασκευάστηκαν επίσης πλακίδια που μονιμοποιήθηκαν σε αλκοόλη 96⁰ και στα οποία αργότερα εφαρμόστηκαν ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις. Η παρασκευή των cell blocks πραγματοποιού-

νταν με τη μέθοδο θρομβίνης-πλάσματος. Σε όλες τις περιπτώσεις η ανοσοκυτταροχημική χρώση για TTF1 διενεργήθηκε παράλληλα στα πλακίδια που προέκυψαν και με τους δύο τρόπους επεξεργασίας του υλικού. Τέλος, η κυτταρολογική διερεύνηση των περιστατικών στις περιπτώσεις με άγνωστη πρωτοπαθή εστία περιελάμβανε ένα panel αντισωμάτων που αποτελείτο από τις ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις για κυτταροκερατίνες CK7 και CK20 (σε συνδυασμό) και Calretinin και στη συνέχεια σε ορισμένες περιπτώσεις τις ανοσοχρώσεις για WT-1, p63 και cdx-2.

Ανοσοκυτταροχημεία: Η ανοσοκυτταροχημική χρώση για TTF1 έγινε με το αντίσωμα της Novocastra (κλώνος SPT24 και αραιώση 1:100) στο αυτόματο μηχάνημα Bond, Vision Biosystems. Για τα cell blocks η διαδικασία περιλάμβανε αποπαραφίνωση των τομών και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων με βρασμό για 30 λεπτά στο ειδικό διάλυμα Bond Epitope Retrieval Solution 1 (pH 8). Για τα επιχρίσματα η διαδικασία περιελάμβανε τοποθέτηση σε κρύο διάλυμα αποτελούμενο από ένα μέρος μεθανόλης και ένα μέρος διαλύματος 30% υπεροξειδίου του υδρογόνου για 20 λεπτά και ακολουθούσε αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων με βρασμό στο ανωτέρω περιγραφόμενο διάλυμα για 20 λεπτά. Τα πλακίδια από αυτό το σημείο ακολουθούσαν το ίδιο πρωτόκολλο: επώαση με το πρωτογενές αντίσωμα για 20 λεπτά και στη συνέχεια επώαση με το ειδικό σύστημα ανίχνευσης Bond Polymer Refine detection system. Η αντίδραση υπεροξειδάσης ανιχνευόταν με την 3,3'-diaminobenzidine (DAB) ως χρωμογόνο υπόστρωμα και ακολουθούσε χρώση με αιματοξυλίνη.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τις 14 περιπτώσεις πλευριτικών υγρών ασθενών με άγνωστη πρωτοπαθή εστία τα 7 έδειξαν θετικότητα στην χρώση TTF1 (πίνακας 1). Η χρώση ήταν πάντα πυρηνική, συνήθως έντονη, αναδεικνύοντας το νεοπλασματικό πληθυσμό με μεγάλη ευκρίνεια (Εικόνα 1). Σε κάθε μια από τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν τα νεοπλασματικά κύτταρα στην πλειονότητά τους ήταν θετικά στη χρώση, εκτός από δύο περιπτώσεις όπου οι ομάδες των νεοπλασματικών κυττάρων εμφάνιζαν ποσοτική διακύμανση στην έκφραση της ανοσοχρώσης. Η θετικότητα της ανοσοκυτταροχημικής χρώσης

Πίνακας Ι. Έκφραση της ανοσοχρώσης TTF1 στο πλευριτικό υγρό ασθενών με γνωστή και άγνωστη πρωτοπαθή εστία κατά το χρόνο της εξέτασης. Στην αριστερή στήλη φαίνεται ο ιστολογικός τύπος του αντίστοιχου πρωτοπαθούς καρκινώματος.

Τύπος καρκινώματος	Αριθμός περιστατικών με άγνωστη πρωτοπαθή εστία		Αριθμός περιστατικών με γνωστή πρωτοπαθή εστία	
	Αριθμός περιστατικών με άγνωστη πρωτοπαθή εστία	TTF-1 θετικότητα	Αριθμός περιστατικών με γνωστή πρωτοπαθή εστία	TTF-1 θετικότητα
Σύνολο	14		25	
Αδενοκαρκίνωμα				
Πνεύμονα	8	7	7**	6
Μαστού	1*	-	7	-
Ωοθηκών	1	-	3	-
Γαστρεντερικού	1	-	1	-
Άγνωστη πρωτοπαθής εστία	3	-		
Μικροκυτταρικό πνεύμονα			2	2
Πλακώδες πνεύμονα			2	-
Πλακώδες τραχήλου μήτρας			1	-
Ουροθηλιακό καρκίνωμα			2	-

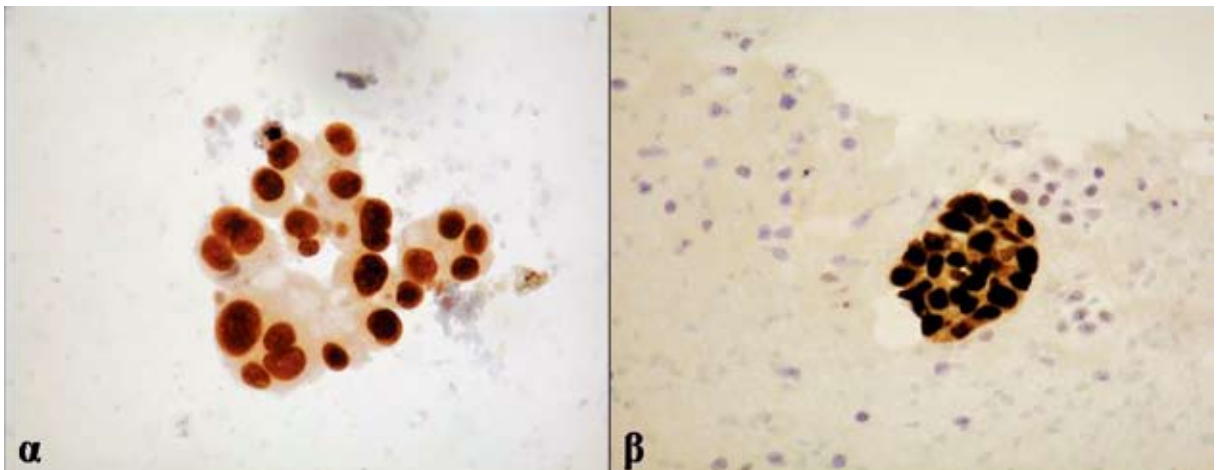
*Σε άνδρα

** Σε μια περίπτωση υπήρχε γνωστό ιστορικό καρκινώματος μαστού, ωστόσο ο κλινικοεργαστηριακός έλεγχος έδειξε δεύτερο πρωτοπαθές καρκίνωμα πνεύμονα.

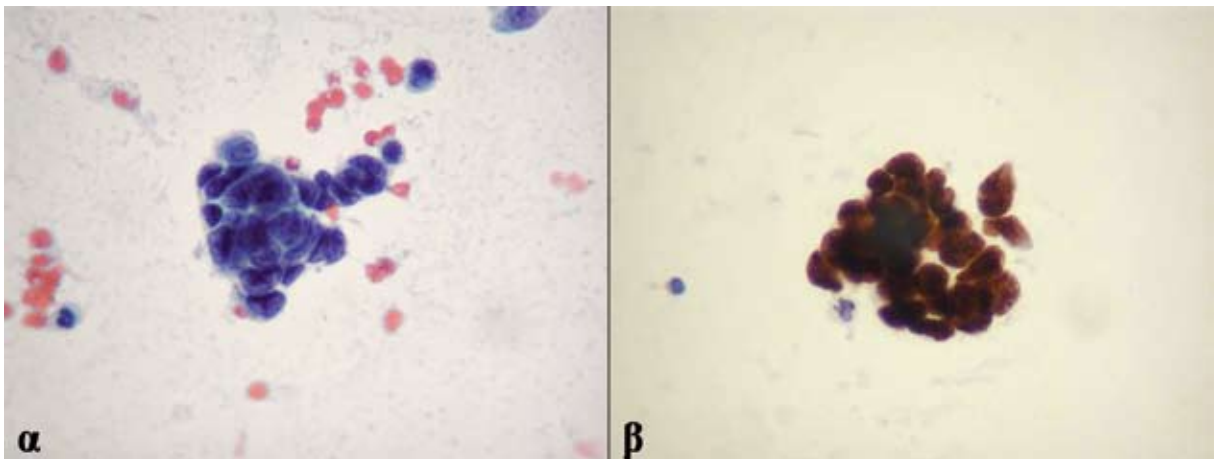
TTF1, πάντα σε συσχετισμό και με τα υπόλοιπα κλινικοεργαστηριακά δεδομένα, κατηύθυνε τη διάγνωση προς πρωτοπαθές καρκίνωμα του πνεύμονα που επιβεβαιώθηκε από τον υπόλοιπο κλινικοεργαστηριακό έλεγχο σε όλες τις περιπτώσεις. Η διερεύνηση της πρωτοπαθούς εστίας στις υπόλοιπες περιπτώσεις με αρνητικό TTF1 έδειξε την παρουσία δύο καρκινωμάτων ωοθηκών, ενός καρκινώματος του γαστρεντερικού και ενός καρκινώματος του μαστού σε άνδρα, ενώ σε τρεις περιπτώσεις δεν ήταν δυνατόν να ανευρεθεί η πρωτοπαθής εστία. Μόνο σε μία περίπτωση όπου η ανοσοκυτταροχημική χρώση για TTF1 ήταν αρνητική, ο έλεγχος που ακολούθησε έδειξε πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα. Από τις 25 περιπτώσεις ασθενών με πλευριτική συλλογή και γνωστή πρωτοπαθή εστία (Πίνακας Ι) διαγνώστηκαν 2 μικροκυτταρικά καρκινώματα (Εικόνα 2) και 6 αδενοκαρκινώματα του πνεύμονα, όλα θετικά στη χρώση TTF1 πλην ενός αδενοκαρκινώματος. Σημαντική βοήθεια προσέφερε η χρώση σε δύο περιπτώσεις όπου τα νεοπλασματικά κύτταρα ήταν λίγα και μεμονωμένα (Εικόνα 3). Επίσης σε μία περίπτωση με γνωστό ιστορικό καρκινώματος μαστού, η χρώση ήταν θετική, συμβάλλοντας έτσι στη διάγνωση δεύτερου πρωτοπαθούς νεοπλασματος στον πνεύμονα. Σε όλες τις υπόλοιπες περιπτώσεις ο ανοσοδείκτης TTF1 ήταν αρνητικός. Σύμφωνα με πα-

ρατηρήσεις μας από τη εφαρμογή της χρώσης TTF1 σε διαφορετικά υλικά, μόνο μία περίπτωση καρκινώματος εξωπνευμονικής προέλευσης και συγκεκριμένα κυσταδενοκαρκινώματος της ωοθήκης, ήταν θετική στη χρώση TTF1. Η περίπτωση αυτή αφορούσε σε μετάσταση σε ασκίτικό υγρό και δεν περιλαμβάνεται στα αποτελέσματά μας.

Σε όλες τις περιπτώσεις η χρώση TTF1 εφαρμόστηκε σε πλακίδια που παρασκευάστηκαν και με τους δύο τρόπους επεξεργασίας του πλευριτικού υγρού (cell blocks και επιχρίσματα). Η συγκριτική μελέτη των πλακιδίων έδειξε ότι υπήρχε σταθερή συσχέτιση της έκφρασης του TTF1 ποσοτικά (ποσοστό θετικών πυρήνων) και ποιοτικά (ένταση χρώσης) μεταξύ των δύο τρόπων παρασκευής του υλικού. Συγκεκριμένα, στις 2 περιπτώσεις μετάστασης από μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα η θετικότητα στον TTF1 ήταν το ίδιο έντονη (+++) και αφορούσε στο σύνολο των νεοπλασματικών πυρήνων (100%). Ομοίως, από τις 13 περιπτώσεις μετάστασης από αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα στις 11 η θετικότητα στον TTF1 ήταν έντονη (+++) και αφορούσε σε ποσοστό >80% των νεοπλασματικών πυρήνων. Ωστόσο, στις υπόλοιπες 2 περιπτώσεις μετάστασης από αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα οι νεοπλασματικοί πυρήνες στο υλικό των επιχρισμάτων εμφάνιζαν κατά θέσεις



Εικόνα 1. Έντονη πυρηνική ανοσοχρώση για TTF1 σε μεταστατικό αδενοκαρκίνωμα από τον πνεύμονα στο πλευριτικό υγρό σε επιχρίσματα (α) και στο αντίστοιχο υλικό cell block (β) [$\times 200$].



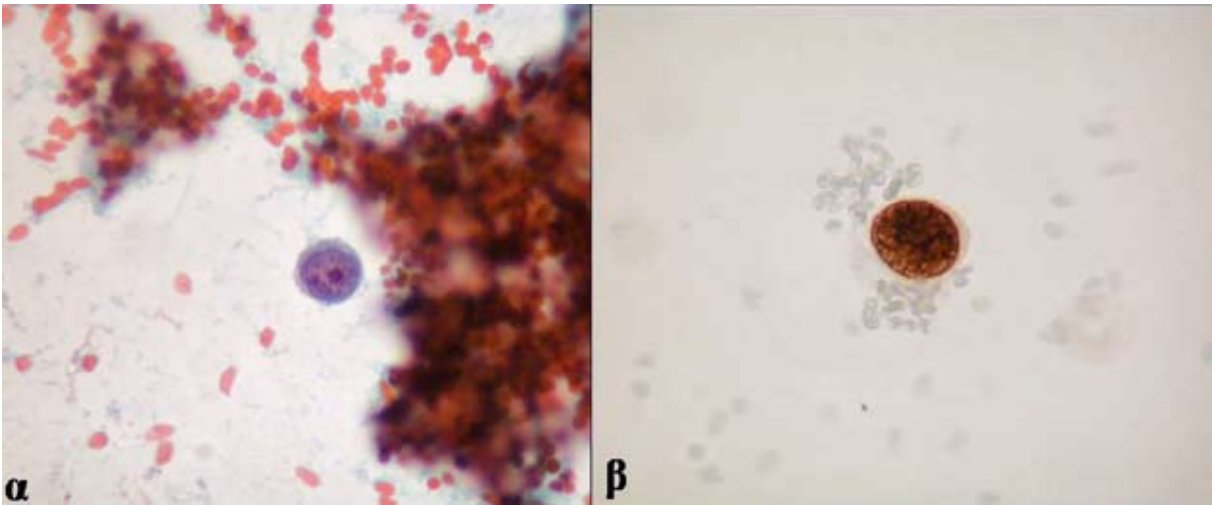
Εικόνα 2. Μικροκυτταρικό καρκίνωμα μεταστατικό από τον πνεύμονα σε πλευριτικό υγρό. Υλικό επιχρισμάτων. (α) Χρώση κατά Παπανικολάου, $\times 200$ (β) Έντονη πυρηνική ανοσοχρώση για TTF1, $\times 200$.

διακύμανση στην ένταση της χρώσης γεγονός που πιθανά αποδίδεται στην ανομοιόμορφη κατανομή του αντισώματος στη μεγάλη έκταση του πλακιδίου από άμεση επίστρωση.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί το πιο συχνό αίτιο κακοήθους πλευριτικής συλλογής. Μορφολογικά σε περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος, τα νεοπλασματικά κύτταρα έχουν συνήθως μέτριο αμφίφιλο ή βασίφιλο και συχνά κενοτοπιώδες κυτταρόπλασμα, φυσαλιδώδεις (vesicular) πυρήνες με εμφανές

πυρήνιο, πυρηνική πολυμορφία, αδροκοκκώδη χρωματίνη και ανώμαλη πυρηνική μεμβράνη. Διατάσσονται συνήθως σε συμπαγείς σφαιρικές αθροίσεις (cell balls), εκτριωτικές θηλές ή και μεμονωμένα¹⁴. Ωστόσο οι μορφολογικοί αυτοί χαρακτήρες δεν είναι ειδικοί για τον πνεύμονα. Έτσι, η χρήση ανοσοκυτταροχημικών δεικτών ειδικών για το αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα θα προσέφερε πολύ σημαντικές πληροφορίες για τον καθορισμό της πρωτοπαθούς εστίας. Πολύ λίγα αντισώματα φαίνεται να είναι ειδικά για συγκεκριμένα όργανα όπως το PSA για τον προστάτη και η θυρεοσφαιρίνη για το θυρεοειδή. Η ανοσοκυτταροχημική χρώση



Εικόνα 3. Μετάσταση στο πλευριτικό υγρό από γνωστό πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα υπό τη μορφή σπάνιων μεμονωμένων νεοπλασματικών κυττάρων. (α) Χρώση κατά Παπανικολάου, $\times 200$. (β) Έντονη πυρηνική ανοσοχρώση για TTF1, $\times 200$.

για τον TTF1, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία εμφανίζει υψηλή ειδικότητα και είναι θετική στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα, τα νεοπλάσματα του θυρεοειδούς (θυλακιοκυτταρικά και μυελοειδή) και τα μικροκυτταρικά καρκινώματα (πνευμονικής κυρίως αλλά και εξωπνευμονικής προέλευσης)^{4-8,15}. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η έκφραση του TTF1 δεν φαίνεται να σχετίζεται με τη διαφοροποίηση του νεοπλάσματος⁶, γεγονός που αποκτά ιδιαίτερη σημασία στη διάγνωση μεταστάσεων στο πλευριτικό υγρό διότι συνήθως πρόκειται για νεοπλάσματα χαμηλής διαφοροποίησης. Τέλος, μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στη διαφορική διάγνωση μεταστατικού αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα από κακώθες μεσοθηλίωμα καθώς είναι αρνητική στο τελευταίο^{16,17}. Μέσα σε αυτά τα πλαίσια η χρήση του TTF1, όπως φαίνεται από τα αποτελέσματά μας, πράγματι παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση της πρωτοπαθούς εστίας καθώς ήταν θετική στα 13 από τα 15 αδενοκαρκινώματα και στα 2 από τα 2 μικροκυτταρικά καρκινώματα με προέλευση τον πνεύμονα (ευαισθησία για τα αδενοκαρκινώματα 86,6% και συνολική ευαισθησία 88,2%). Τα ποσοστά ευαισθησίας στη διεθνή βιβλιογραφία στα υγρά κυμαίνονται από 54 έως 88%^{9-13,18}. Η διακύμανση αυτή φαίνεται να σχετίζεται με τεχνικές δυσκολίες στην εφαρμογή της χρώσης στα κυτταρολογικά υλικά. Από τα αποτελέσματά μας αποδεικνύεται ότι η συμβολή του TTF1 στην αναγνώριση της

μεταστατικής νόσου στο πλευριτικό υγρό είχε διαγνωστική και κλινική σημασία καθώς αναδείκνυε το νεοπλασματικό πληθυσμό, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις όπου τα νεοπλασματικά κύτταρα ήταν λίγα και μεμονωμένα. Η χρώση δεν ήταν θετική στα εξωπνευμονικά νεοπλάσματα γεγονός που ανεβάζει το ποσοστό ειδικότητας σε 100%. Ωστόσο, σύμφωνα με τελευταίες δημοσιεύσεις^{19,20} το αποτέλεσμα της ανοσοχρώσης θα πρέπει να συσχετίζεται με τα υπόλοιπα μορφολογικά και κλινικοεργαστηριακά ευρήματα καθώς παρατηρήθηκαν σπάνιες περιπτώσεις θετικής ανοσοχρώσης για τον TTF1 σε αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου και σε καρκινώματα ωοθηκών όπως και στην προαναφερθείσα περίπτωση μας μεταστατικού καρκινώματος ωοθήκης σε ασκίτικο υγρό.

Παρόλο που η επεξεργασία των υγρών με τη μέθοδο πλάσματος-θρομβίνης οδηγεί συνήθως στην παρασκευή cell blocks, υπάρχουν περιορισμοί στην εφαρμογή της όπως τεχνικές δυσκολίες ή μικρή ποσότητα υγρού. Τέλος, σε περιπτώσεις όπου τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι σαφώς περισσότερα στο υλικό της άμεσης επιστροφής σε πλακίδια, τότε η ανοσοχρώση θα πρέπει να εφαρμοσθεί στα επιχρίσματα. Με βάση τα αποτελέσματά μας από τη συγκριτική μελέτη της έκφρασης του TTF1 στους δύο τρόπους επεξεργασίας των κυτταρολογικών υλικών, συμπεραίνουμε ότι η εφαρμογή της χρώσης στα επιχρίσματα έχει παρόμοια αποτελέσματα σε σχέση με το cell block. Πρέπει

να σημειωθεί ωστόσο, ότι τα πλακίδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν θετικά φορτισμένα, καθώς η εφαρμογή της χρώσης σε συμβατικά πλακίδια ενέχει τον κίνδυνο της αποκόλλησης των κυττάρων. Οι μελέτες που αφορούν στην εφαρμογή της χρώσης σε επιχρίσματα, κυρίως κατόπιν αποχρωματισμού τους^{21,22}, στη διεθνή βιβλιογραφία είναι λίγες. Τα αποτελέσματά τους που συγκλίνουν με τα δικά μας δείχνουν ότι η εφαρμογή της ανοσοχρώσης TTF1 είναι αξιόπιστη. Ωστόσο, είναι απαραίτητο το υλικό να έχει προηγουμένως μονιμοποιηθεί σε αλκοόλη και όχι στον αέρα²². Τέλος θα πρέπει να τονίσουμε ότι η επιτυχία στην εφαρμογή της ανοσοχρώσης είναι πολύ ενθαρρυντική καθώς το υλικό των αποσταλέντων υγρών στο Εργαστήριο έχει υποστεί συχνά εκφυλιστικές αλλοιώσεις λόγω μη ιδανικής κυτταρικής μονιμοποίησης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η ανοσοκυτταροχημική χρώση TTF1 είναι εξαιρετικά χρήσιμος δείκτης στη διαγνωστική προσέγγιση των θετικών πλευριτικών υγρών. Μπορεί με αξιοπιστία να στηρίξει την αναγνώριση της πρωτοπαθούς εστίας από τον πνεύμονα και επίσης να αναδείξει μεμονωμένα νεοπλασματικά κύτταρα ταυτοποιώντας την παρουσία μεταστατικής νόσου στο πλευριτικό υγρό. Ακόμη, η εφαρμογή της χρώσης στα επιχρίσματα έχει εξίσου καλά αποτελέσματα σε σχέση με το cell block όσον αφορά στην έκφραση του TTF1.

Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς εκφράζουν τις ευχαριστίες τους στους τεχνολόγους του Εργαστηρίου μας Σπυριδούλα Δαμάσκου και Αλεξάνδρα Τσόκα και ιδιαιτέρως την τεχνολόγο ανοσοιστοχημείας Χρυσούλα Γαλάνη που με τις πολύτιμες προσπάθειές της και την επιτυχή εφαρμογή των ανοσοκυτταροχημικών χρώσεων πραγματοποιήθηκε αυτή η εργασία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Lazzaro D, Price M, de Felice M, Di Lauro R. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development* 113:1093-104, 1991.
- Mino P, Hamdan H, Bu D, Warburton D, Stepanik P, de Lemos R. TTF-1 regulates lung epithelial morphogenesis. *Dev Biol* 172:694-8, 1995.
- Lau SK, Luthringer DJ, Eisen RN. Thyroid transcription factor-1: a review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 10:97-102, 2002.
- Reis-Filho JS, Carrilho C, Valenti C, Leitao D, Ribeiro CA, Ribeiro SG, et al. Is TTF1 a good immunohistochemical marker to distinguish primary from metastatic lung adenocarcinomas? *Pathol Res Pract* 196:835, 2000.
- Ordóñez NG. Thyroid transcription factor-1 is a marker of lung and thyroid carcinomas. *Adv Anat Pathol* 7:123-127, 2000.
- Di Loreto C, Di Lauro V, Puglisi F, Damante G, Fabbro D, Beltrami CA. Immunocytochemical expression of tissue specific transcription factor-1 in lung carcinoma. *J Clin Pathol* 50:30-32, 1997.
- Ordóñez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 24(9):1217-23, 2000.
- Fabbro D, Di Loreto C, Stamerra O, Beltrami CA, Lonigro R, Damante G. TTF-1 gene expression in human lung tumours. *Eur J Cancer* 32A:512-7, 1996.
- Hecht JL, Pinkus JL, Weinstein, Pinkus GS. The value of thyroid transcription factor-1 in cytologic preparations as a marker for metastatic adenocarcinoma of lung origin. *Am J Clin Pathol* 116:483-488, 2001.
- Wu M, Szporn AH, Zhang D, Wasserman P, Gan L, Miller L, Burstein D. Cytology Applications of p63 and TTF-1 Immunostaining in Differential Diagnosis of Lung Cancers. *Diagn Cytopathol* 33(4):223-227, 2005.
- Gomez-Fernandez C, Jorda M, Delgado PI, Ganjei-Azar P. Thyroid transcription factor 1. A marker for lung adenocarcinoma in body cavity fluids. *Cancer Cytopathol* 96:289-293, 2002.
- Yang KY, Kang MJ, Lee DG, Chung MJ. Utility of thyroid transcription factor-1 and cytokeratin 7 and 20 immunostaining in the identification of origin in malignant effusions. *Anal Quant Cytol Histol* 23(6):400-4, 2001.
- Afify AM, al-Khafaji BM. Diagnostic utility of thyroid transcription factor-1 expression in adenocarcinomas presenting in serous fluids. *Acta Cytol* 46:675-678, 2002.
- De May R. *The art and Science of Cytopathology*. Chicago. ASCP Press, 1996.
- Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor in pulmonary and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology* 36: 415-20, 2000.
- Ordóñez NG. Value of thyroid transcription factor-1, E-cadherin, BG8, WT1, and CD44S immunostaining in distinguishing epithelial

- pleural mesothelioma from pulmonary and non-pulmonary adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 24:598–606, 2000.
17. Khor A, Whitsett JA, Stahlman MT, Olson SJ, Cagle PT. Utility of surfactant protein B precursor and thyroid transcription factor-1 in differentiating adenocarcinoma of the lung from malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 30:695-700, 1999.
 18. Chheng DC, Ko EC, Yee HT, Shultz JJ, Dorvault CC, Eltoun IA. Malignant pleural effusions due to small cell lung carcinoma: a cytologic and immunocytochemical study. *Diagn Cytopathol* 25(6):356-60, 2001.
 19. Penman D, Downie I, Roberts F. Positive immunostaining for thyroid transcription factor-1 in primary and metastatic colonic adenocarcinoma: A note of caution. *J Clin Pathol* 59:663–664, 2006.
 20. Kubba LA, McCluggage WG, Liu J, Malpica A, Euscher ED, Silva EG, Deavers MT. Thyroid transcription factor-1 expression in ovarian epithelial neoplasms. *Modern Pathology* 2008 Feb 1.
 21. Kalhor N, Zande DSr, Liu J. TTF-1 and p63 for distinguishing pulmonary small-cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma in previously pap-stained cytologic material *Modern Pathology* 19, 1117–1123, 2006.
 22. Liu J, Farhood A. Immunostaining for Thyroid Transcription Factor-1 on Fine-Needle Aspiration Specimens of Lung Tumors. A Comparison of Direct Smears and Cell Block Preparations. *Cancer* 102 (2): 109-114, 2004.

Corresponding author:

Charitini Nepka
Cytopathologist
80 Peoniou street,
41335 Larisa
Tel 2410-681790

Υπεύθυνη αλληλογραφίας:

Χαριτίνη Νέπκα
Κυτταρολόγος
Παιωνίου 80
41335 Λάρισα
Τηλ. 2410-681790