Streszczenie

Wstęp.

Nowotwory przysadki są dość powszechnymi nowotworami ośrodkowego układu nerwowego. Najczęstszymi nowotworami tej okolicy są gruczolaki przysadki oraz rzadko raki przysadki. Gruczolaki niefunkcjonujące, są jednym z typów gruczolaków przysadki, które nie produkują hormonów. Częstość występowania gruczolaków przysadki szacuje się na około 15% wszystkich guzów wewnątrzczaszkowych, (trzeci do częstości guz, poza oponiakami i glejakami), z czego około 25% to gruczolaki niewydzielające, w większości przypadków nie dające objawów, a wykrywane przypadkowo (incydentaloma) badaniem TK lub MRI.
Gruczolaki przysadki są zmianami łagodnymi i rzadko ulegają transformacji do postaci złośliwej (raki przysadki). W procesie powstawania gruczolaków przysadki uczestniczy wiele różnych czynników, takich jak: inaktywacja genów supresorowych (MEN1) oraz aktywacja protoonkogenów (PTTG). Także istotną rolę odgrywa aktywacja czynników wzrostowych (FGF4, TGFα i β) kontrolujących ekspresję wielu innych genów oraz czynniki regulujące cykl komórkowy (p21, cyklina D1). W wielu typach nowotworów istotne znaczenie w procesie ich powstawania odgrywają mechanizmy programowanej śmierci komórki- apoptozy. W regulacji procesu apoptozy biorą udział zarówno białka proapoptyczne (Bax, Bak), jak i białka antyapoptyczne (BCL2, BCL XL). W komórkach wielu typów nowotworów obserwuje się oporność komórek na sygnały apoptotyczne wysyłane przez układ immunologiczny oraz wytwarzane przez czynniki stresu. Defekty indukcji apoptozy mogą dotyczyć różnych genów biorących udział w regulacji i samym przebiegu apoptozy.

W odpowiedzi na różnorakie czynniki np. niedotlenienie, uszkodzenia DNA, onkogeny dochodzi do post translacyjnej modyfikacji białka p53; przy pomocy białek regulatorowych takich jak HIF1a. Prowadzi to do zmiany powinowactwa białka p53 do rożnych promotorów, co przedkłada się na dalszą aktywację specyficznych genów, kodujących białka w odpowiedzi na stres. Podstawowym białkiem biorącym udział w apoptozie zależnej od p53 jest białko Bax. Efekt końcowy działalności białka p53 zależy od wielu czynników np. rodzaj stresu i jest swoisty komórkowo. Białko KI-67 bierze istotny udział w procesie proliferacji komórkowej. Nadekspresja KI -67 jest częstym zjawiskiem w wielu typach nowotworów, w tym w rakach głowy i szyi oraz w pierwotnych nowotworach ośrodkowego układu nerwowego. W procesie powstawania i progresji wielu typów nowotworów istotną rolę odgrywa niedotlenienie. Czynnik indukowany niedotlenieniem (HIF1a) jest ważnym regulatorem ekspresji wielu genów w odpowiedzi na niedotlenienie, w tym geny regulujące procesy angiogenezy oraz czynniki

odpowiedzialne za proliferację i przeżycie komórek. Jednym z głównych regulatorów angiogenezy jest naczyniowy czynnik wzrostu (VEGF), który rekrutuje komórki nabłonka w hipoksyczne rejony naczyń i stymuluje ich proliferację, prowadząc do progresji wielu typów nowotworów, w tym raków płuca czy nowotworów glejowych OUN.

W literaturze istnieje szereg doniesień dotyczących ekspresji czynników apoptozy, takich jak aktywacja receptora Fas, czy kaspazy 3. Ekspresja białka Ki-67 jest związana ze stopniem złośliwości biologicznej guzów przysadkowych. Wiele doniesień pokazuje, iż ocena ekspresji

białka p53, Ki-67 , HIF1a oraz VEGF może stanowić istotny marker diagnostyczny do określenia potencjalnie złośliwiejących guzów przysadki.

Cel pracy

Celem pracy jest ocena ekspresji wybranych białek apoptozy, p53, KI-67, oraz HIF-1alfa i VEGF w gruczolakach niewydzielających i rakach przysadki mózgowej oraz korelacja uzyskanych wyników z wybranymi danymi klinicznymi takimi jak: wiek, płeć pacjenta, wielkość guza oraz obrazem histologicznym zmiany (łącznie z obecnością tzw. zmian wstecznych).

Materiał i metody

Badaniem zostało objętych 62 pacjentów, u których rozpoznano nowotwory przysadki mózgowej, o typie gruczolaków niewydzielających przysadki (43 pacjentów), gruczolaków atypowych (2 pacjentów) oraz 1 rak neuroendokrynny przysadki mózgowej. Wiek pacjentów wynosił od 21 do 83 lat.

Materiał utrwalony w formalinie został w sposób rutynowy zatopiony do bloków parafinowych, a następnie wykonano preparaty barwione metodą H+E oraz metodą immunohistochemiczną z użyciem odpowiednich przeciwciał przeciwko białkom P53, Bcl-2, Bax, Ki-67, HIF-1α, VEGF. Następnie preparaty zostały ocenione w mikroskopie świetlnym oraz została zastosowana odpowiednia skala do oceny ekspresji badanych białek (skala ilościowa w zależności od procentu komórek z ekspresją badanego białka). Uzyskane wyniki zostały skorelowane z danymi klinicznymi takimi jak wiek, płeć, wielkość guza oraz obecnością zmian wstecznych. Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej.

Grupę kontrolną stanowi 10 przysadek pobranych w trakcie badania autopsyjnego.

Wyniki badań

Ocena uzyskanych wyników pokazuje ekspresję białka antyapoptotycznego Bcl-2 obserwowano w 61 przypadkach. W 26 przypadkach ekspresję białka Bcl-2 obserwowano w ponad 50% komórek nowotworowych, szczególnie w gruczolakach przysadki ze zmianami wstecznymi oraz w atypowych gruczolakach przysadki. W raku neuroendokrynnym ekspresja Bcl-2 była istotnie wyrażona w prawie wszystkich komórkach nowotworowych (w ok. 90% komórek). Nie stwierdzono statystycznie istotnej korelacji między ekspresją białka Bcl-2 a histopatologią guzów przysadki (p = 0,59).

W proapoptycznym białku Bax ekspresję obserwowano w 29 przypadkach, głównie w gruczolakach przysadki bez zmian wstecznych. Obserwowano statystycznie istotną korelację między ekspresją białka Bax a morfologią gruczolaków przysadki (p = 0,004). W grupie gruczolaków przysadki ze zmianami wstecznymi ekspresja białka Bax była znacznie słabiej wyrażona niż w gruczolakach bez zmian wstecznych.

Niską ekspresję białka p53 obserwowano w 50 przypadkach (w 1% -2% komórek) gruczolaka przysadki, w 13 przypadkach ekspresję p53 obserwowano w 5% lub więcej (10%) badanych komórek. Ekspresja białka p53 była wyższa w gruczolakach przysadki ze zmianami wstecznymi oraz w gruczolakach atypowych, także w przypadku raka neuroendokrynnego przysadki mózgowej. Nie stwierdzono statystycznie istotnej korelacji pomiędzy ekspresją białka p53 a morfologią gruczolaków przysadki (p = 0,37).

Ekspresja białka Ki-67 była niska, w 51 przypadkach wyniósła 1% -2%, w 8 przypadkach 5%, a w 4 przypadkach więcej niż 10% komórek wykazało ekspresję Ki-67.
Nie stwierdzono statystycznie istotnej korelacji między ekspresją Ki-67 a histopatologią guza w grupie gruczolaków. Jednak wyższa ekspresja była znacząca dla atypowych gruczolaków i raka neuroendokrynnego przysadki (p = 0,27).

Zaobserwowano silna ekspresje czynnika HIF1-alfa w 59 przypadkach, w 11 przypadkach ekspresję obserwowano w ponad 50% komórek nowotworowych, w tym w gruczolakach atypowych i raku neuroendokrynnym. Wystąpiła statystycznie istotna korelacja między ekspresją czynnika HIF-1 a morfologią badanych zmian (p = 0,007).
Osberwowano silną ekspresję czynnika VEGF w 62 przypadkach, w 9 przypadkach ekspresja była większa niż 50% komórek nowotworowych, szczególnie w przypadkach gruczolaków atypowych i rakach neuroendokrynnych. W gruczolakach bez zmian wstecznych ekspresję czynnika VEGF w ponad 50% komórek obserwowano w 4,6% przypadków, w gruczolakach ze zmianami wstecznymi silną ekspresję VEGF obserwowano w 31,3% przypadków (p = 0,005).

Ponadto wykazano zależność pomiędzy ekspresją badanych białek, szczególnie białek apoptozy oraz proliferacji komórkowej a wiekiem pacjentów i zmianami wstecznymi (głównie szkliwieniem oraz włóknieniem) badanej zmiany.

Wnioski

W badanym materiale potwierdziono zależność ekspresji Ki-67 od agresywności biologicznej gruczolaków niewydzielających. Ekspresja białka P53 jest wyższa w przypadku gruczolaków inwazyjnych i w rakach neuroendokrynnych przysadki oraz w gruczolakach przysadki, w których stwierdza się obecność zmian wstecznych.

Ekspresja białka Bcl-2 jest wyższa w przypadku gruczolaków inwazyjnych i w rakach neuroendokrynnych przysadki oraz w gruczolakach przysadki, w których stwierdza się obecność zmian wstecznych, zaś ekspresja białka Bax była bardziej znamienna dla gruczolaków bez zmian wstecznych.

Ekspresja białka HIF-1 była bardziej znamienna w przypadku gruczolaków inwazyjnych oraz raków neuroendokrynnych przysadki, podobnie jak ekspresja VEGF, jednakże ekspresja VEGF była bardziej znamienna w przypadku gruczolaków z obecnością zmian wstecznych

Obecność zmian wstecznych w gruczolakach przysadki może mieć związek z zaburzeniami procesów apoptozy oraz nasileniem ekspresji czynników niedotlenienia i czynników naczyniotwórczych, jednakże nie ma związku z progresja do zmian bardziej agresywnych (niska ekspresja Ki-67 oraz brak atypowych figur podziału).