

ΧΡΗΣΙΜΟΙ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΑΝΩΜΑΤΩΝ

Α. ΜΟΥΡΤΖΙΚΟΥ
M. Sc. ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ,
ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ, ΤΜΗΜΑ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ
ΓΠΝ "ΑΣΚΛΗΠΕΙΟ" ΒΟΥΛΑΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το μελάνωμα αναφέρεται ως ο ανοσογονικότερος των όγκων τουλάχιστον στα αρχικά στάδια. Χρησιμοποιεί σχεδόν όλους τους γνωστούς τρόπους διαφυγής από την ανοσοεπίβλεψη.

Παρατηρείται μερική ή πλήρης απώλεια των μορίων HLA τάξης I που συνεπάγεται την κατάργηση ή πλημμελή διεξαγωγή της κυτταρικής ανοσίας και έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία δράσης των NATURAL KILLER (NK) λεμφοκυττάρων, τα οποία προφυλάσσουν τον οργανισμό από τις μεταστάσεις.

Στα πλαίσια της γονιδιακής θεραπείας και των ανοσοθεραπευτικών πρωτοκόλλων, μεγάλη σημασία παρουσιάζει η ελλάτωση των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα, με επίπτωση στην γενικότερη ανοσοκαταστολή που κλινικά εκφράζεται με επιρρέπεια σε λοιμώξεις.

Ως εκ τούτου για την καταλληλότερη επιλογή των ανοσοθεραπευτικών πρωτοκόλλων επιβάλλεται η διερεύνηση και η καταγραφή των εξατομικευμένων ανοσολογικών ελλειμμάτων.

Είναι γνωστό ότι ένα φυσιολογικό κύτταρο υφίσταται ακολουθία γενετικών λαθών μέχρι να δημιουργήσει ένα διηθητικό νεόπλασμα. Βέβαια σε κάποιο στάδιο αυτή η διαδικασία της ογκογένεσης διακόπτεται λόγω της επαγρύπνησης της κυτταρικής ανοσίας, διότι ενεργοποιείται ο μηχανισμός εξάλειψης του κακοήθους κυττάρου (-ων) από το σύνολο των υγείων. Την αρμοδιότητα αυτή για να γνωστοποιούν το λάθος στο ανοσιακό σύστημα την έχουν τα HLA τάξης I μόρια. Από την άλλη, την αρμοδιότητα της ανοσοεπίβλεψης (*immunosurveillance*) την επωμίζονται εξειδικευμένα λεμφοκύτταρα για την εξόντωση του όγκου.

Είναι λοιπόν σημαντικότερη η πληροφορία για την έκφραση των HLA τάξης I μορίων από τα νεοπλασματικά κύτταρα, γιατί δηλώνει την κυτταρική ανοσία καθώς και η

εντόπιση των πεπτιδίων που παράγονται από τα κακοήθη κύτταρα.

Στην ανοσοιστοχημική πράξη, πρακτικό εμπόδιο παραμένει η αδυναμία ανοσοιστοχημικής διερεύνησης της έκφρασης της HLA τάξης I μορίων και των παρουσιαζομένων αντιγόνων σε τομές παραφίνης μιας και αυτή (δηλ. η προσέγγιση) γίνεται μόνον με διερεύνηση σε τομές ψυκτικού.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΑΝΩΜΑΤΩΝ

Είναι πλέον τεκμηριωμένο το γεγονός ότι η ανοσοιστοχημεία αποτελεί ένα σημαντικό βοήθημα στην ιστολογική διάγνωση και ιδιαίτερα στην διαφορική διάγνωση νεοπλασμάτων με άτυπα μορφολογικά χαρακτηριστικά.

Τα αντισώματα που χρησιμοποιούνται στην καθημέρα πράξη και τα οποία παρέχουν αξιόπιστα αποτελέσματα είναι:

H S-100 πρωτεΐνη, η οποία πρώτη χρησιμοποιήθηκε για να καταδείξει την μελανοκυτταρική διαφοροποίηση. Η S-100 πρωτεΐνη εμφανίζει μεγάλη ευαισθησία στον εντοπισμό των μελανοκυτταρικών αλλοιώσεων, η ειδικότητα της όμως είναι περιορισμένη, διότι εκφράζεται από ποικιλία διαφορετικών ιστών, όπως λιπώδης, χονδρικός, νευρικός, μυοεπιθήλια, κύτταρα Langerhans, μελανοκύτταρα και τα εξ αυτών νεοπλασμάτα.

Για όλους αυτούς τους λόγους δεν αποτελεί τον πλέον αξιόπιστο δείκτη για την διάγνωση των μελανοκυτταρικών αλλοιώσεων, πλην όμως θα πρέπει να συνεκτιμάται και με άλλους δείκτες.

Το **HMB - 45** είναι ένα αντίσωμα, δηλαδή μια πρωτεΐνη υψηλού μοριακού βάρους (100 Kb), έναντι μιας κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης των μελανοκυττάρων η οποία εμπλέκεται στην δημιουργία των μελανοσωμάτων και ενο-

χοποιείται για την δημιουργία των μελανωμάτων.

Σαν δείκτης έχει μεγάλη ειδικότητα, αλλά περιορισμένη ευαισθησία, απόδειξη του ότι είναι θετικός σε όχι ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό (%) πρωτοπαθών και μεταστατικών μελανωμάτων και αρνητικός στα δεσμοπλαστικά μελανώματα. Θετικός είναι στα φυσιολογικά μελανοκύτταρα, εμβρυϊκής επιδερμίδος, συνδεσμικούς σπίλους, στο συνδεσμικό στοιχείο (σε κυανούς σπίλους, σε σπίλους Spitz και δυσπλαστικούς στο άνω μέρος του στοιχείου του σύνθετου δυσπλαστικού σπίλου. Η θετικότητα του στο βάθος της αλλοίωσης θεωρείται στοιχείο μελανώματος).

Η χρωστική αντίδραση που παρατηρείται με το HMB-45 εκφράζεται κυτταροπλασματικά και είναι κοκκώδης. Η ποσότητα έκφρασης του HMB-45 θα πρέπει να αναφέρεται, διότι εκφράζει την ανοσολογική απάντηση (immune response) του ατόμου.

Η συμβολή του ως δείκτη στην διαφοροδιάγνωση είναι σημαντική με σχετικά υψηλή ειδικότητα αλλά όχι και ευαισθησία.

Το MART-1 (Melanoma Antigen Recognised by T-CELLS) ή MELAN-A, είναι ένα αντιγόνο μελανοκυτταρικής διαφοροποίησης, και είναι μια χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνη (22 Kb) η οποία εκφράζεται από όλα τα μελανοκύτταρα και σπιλοκύτταρα. Έχει κυτταροπλασματική έκφραση και δίνει θετικότητα σε όλες τις μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις, καλοήθεις και κακοήθεις, με εξαίρεση ίσως τους χοριακούς σπίλους με νευρικού τύπου διαφοροποίηση (νευροσπίλοι) και ενός σημαντικού ποσοστού (%) των δεσμοπλαστικών μελανωμάτων.

Συγκριτικά με το HMB-45 το MART -1 θεωρείται αντίσωμα ικανής ειδικότητας στην διερεύνηση της μελανοκυτταρικής προέλευσης με μεγαλύτερη ευαισθησία έναντι του HMB-45.

Εκτός των τριών αυτών αντισωμάτων, καλό θα είναι να γίνει αναφορά και σε άλλους δείκτες που καθορίζουν: α) επιθηλιακή προέλευση, όπως είναι η κερατίνη, EMA, CEA, β) μεσεγχυματογενή προέλευση π.χ. VIMENTIN, γ) νευρογενή προέλευση, όπως η NSE (ειδική νευρονική ενολάση και δ) δείκτη T-κυτταρικής σειράς (NATURAL KILLER CELL MARKER) που είναι το Leu-7.

Απ' αυτά λοιπόν, η σταθερή θετικότητα της VIMENTIN και η απουσία της κερατίνης και του επιθηλιακού μεμβρανικού αντιγόνου (EMA), καθώς και η ερευνητικά τεκμηριωμένη έκφραση του πολυκλωνικού CEA σε σημαντικό ποσοστό μελανωμάτων, και από την άλλη δε ο περιορισμένος αριθμός θετικότητας στην NSE και στο Leu-7 και η μη χρήση τους στην καθημερινή διαγνωστική προσέγγιση των μελανωμάτων, συνεισφέρουν με τον τρόπο τους στην διαφοροδιαγνωστική τεκμηρίωση των μελανωμάτων.

Πάντως, δεν θα πρέπει να μας διαφεύγει το γεγονός ότι τα ανοσοιστοχημικά ευρήματα, τα οποία και είναι μεί-

ζονός αξίας, θα πρέπει πάντα να συνεκτιμώνται με τα κλινικά και ιστολογικά δεδομένα. Και αυτό γιατί με την εφαρμογή της ανοσοιστοχημείας επιτελέστηκε όντως ένα σημαντικό βήμα προόδου στο διαγνωστικό πεδίο της παθολογικής ανατομικής, και πολλά υποσχόμενα στο να βοηθήσει ειδικά στην ταυτοποίηση και προέλευση των νεοπλασμάτων, κυρίως στις περιπτώσεις εκείνες όπου τα μορφολογικά στοιχεία είναι άτυπα.

Συμπερασματικά, αναφέρουμε ότι μέγιστη βοήθεια στην ιστολογική διάγνωση θα προσέφερε ένας δείκτης ικανός να βοηθήσει στη διαφοροδιάγνωση ενός καλοήθους από ένα κακοήθες μελανοκύτταρο, πράγμα το οποίο μέχρι σήμερα δεν έχει συμβεί.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ramirea - Montaget T, Anrews DM, Ihara A et al. Melanoma antigen recognition by tumor - infiltrating T lymphocytes (TIL): effect of differential expression of Melan - A / MART - 1. Clin. Exp. Immunol. 119: 11, 2000.
2. Ordonez N, Xialong I, hickey R. Comparison of HMB-45 antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. J. Clin Pathol 90: 385 - 390, 1988.
3. Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Shamosato Y, Ishihara K. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus, and its diagnostic application. Cancer 50: 912-918, 1982.
4. Argenyi Z, Cain C, Bromley C, Van Nguyen A, Abzaham A, Kerschmann R, Ieboit P. S-100 protein negative malignant melanoma: factor fiction? A light - microscopic and immunohistochemical study. Am. J. Dermatol. 16(3): 233-240, 1994.
5. Gown A, Vogel A, Hook P, Gough F, Mc Nutt M. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. Am. J. Clin. Pathol. 123: 195-203. 1986.
6. Kapur R, Bigler S, Skelly M, Gown A. Antimelanoma monoclonal antibody HMB-45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. J. histochem. Cytochem. 40: 207-212, 1992.
7. Bonetti F, Colombari R, Mantank Zamboni G, Martignoni G, Mombello A, and Chilosi M. Breast carcinoma with positive results for melanoma marker (HMB-45). Am. J. Clin. Pathol. 92: 491-495. 1989.
8. Yates AI, Banerjee SS, Bishop PW and Graham KE. HMB-45 in non melanocytic tumours. Histopathology

23: 477-478, 1993.

9. Blessing K. Sanders D. S. A. Gant J.J.H. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melan - A with S-100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology* 32: 139-146, 1998.
10. Leong ASY. Milios J. An assesment of melanoma specific antibody (HMB-45) and other immunohistochemical markers of malignant melanoma in paraffin, embedded tissues. *Surg. Pathol.* 2: 139-141, 1982.

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Το κακόηθες μελάνωμα θεωρείται όχι μόνον ο πλέον επικίνδυνος, αλλά και ο πλέον ανθεκτικός των νεοπλασμάτων, με την έννοια ότι έχει την μεγαλύτερη ικανότητα διαφυγής από τους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς του ασθενούς.

Η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί ένα σημαντικό βοήθημα στην ιστολογική διάγνωση των μελανωμάτων, και τα αντι-

σώματα που χρησιμοποιούνται στην καθ' ημέραν πράξη για τον σκοπό αυτό είναι η S-100 πρωτεΐνη, το HMB-45, το MART-1, η κερατίνη, το CEA, το EMA, η Vimentin, η NSE και το Leu-7.

Όμως, ένας δείκτης ικανός να βοηθήσει στην διαφοροδιάγνωση ενός καλοήθους από ένα κακόηθες μελανοκύτταρο, ακόμα δεν έχει βρεθεί.

ABSTRACT

Malignant melanoma is not only the most dangerous, but also the most resistant among all the neoplasies, by means that it has the ability to escape from the common mechanisms of the human immune system.

Immunohistochemistry gives an important add to the histological diagnosis of melanoma using antibodies below: S-100, HMB-45, MART-1, cytokeratin, EMA, CEA, Vimentin, NSE and Leu-7.

However in general, the marker most suitable to help in differential diagnosis between a malignant and non-malignant melanocyte, has not been found yet.

