



Markers of malignancy in pheochromocytomas

Stanisław Sporny, Jacek Musiał

Chair of Pathomorphology, Medical University of Lodz

Summary

A pheochromocytoma is a neoplasm composed of cells which synthesize and release catecholamines. These tumors produce the hypertension which can be cured with surgical excision of the lesion.

The pathological picture of pheochromocytomas is varied and nothing but the presence of metastases can determine aggressiveness of this neoplasm. Current studies try to look for other biological markers which can separate malignant tumors before they metastasize. It allows to target with more effective therapy.

Many studies analyze details of microscopic features of these tumors, immunohistochemical markers and molecular disorders. It seems that the most important factor in estimation of aggressiveness of pheochromocytomas is PASS scale. The detection of high expression of telomerase and hTERT and high proliferative activity,

measured by immunohistochemistry with the MIB-1 antibody supports most strongly biological malignancy of pheochromocytoma.

(Pol J Endocrinol 2005; 6(56): 946-951)

Key words: pheochromocytoma, PASS, proliferative activity, immunohistochemistry



Stanisław Sporny MD, PhD
Chair of Pathomorphology, Medical University of Lodz
ul. Pomorska 251
92-213 Łódź

Markery złośliwości barwiaków chromochłonnych nadnerczy

Stanisław Sporny, Jacek Musiał

Katedra Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Barwiak chromochłonny jest nowotworem zbudowanym z komórek syntetyzujących i uwalniających katecholaminy. Guzy te wywołują nadciśnienie tętnicze, które można wyleczyć poprzez wycięcie zmiany.

Obraz patomorfologiczny pheochromocytoma jest różnorodny i żadna z cech guza, za wyjątkiem obecności przerzutów, nie przesądza o złośliwości nowotworu. Obecnie poszukuje się innych markerów biologicznych, które pomogłyby odpowiednio wcześniej wyodrębnić guzy złośliwe, zanim pojawią się przerzuty i włączyć bardziej skuteczne leczenie.

Bada się szczegóły budowy mikroskopowej tych guzów, czynniki oceniane za pomocą technik immunohistochemicznych, jak i zaburzenia molekularne. W ocenie stopnia agresywności barwiaków wydaje się niezbędne zastosowanie skali PASS. Wykrycie wysokiej ekspresji telomerazy i hTERT, a także dużej aktywności proliferacyjnej komórek guza ujawnionej w reakcji immunohistochemicznej przy użyciu MIB-1 najsilniej przemawiają za złośliwością biologiczną pheochromocytoma.

(Endokrynol Pol 2005; 6(56): 946-951)

Słowa kluczowe: barwiak chromochłonny, PASS, aktywność proliferacyjna, immunohistochemia.



Dr hab. med. Stanisław Sporny
Katedra Patomorfologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
ul. Pomorska 251
92-213 Łódź

Pheochromocytoma jest nowotworem zbudowanym z komórek chromochłonnych syntetyzujących i uwalniających katecholaminy, a niekiedy również hormony peptydowe. Okazuje się to ważne przede wszystkim z klinicznego punktu widzenia, ponieważ podobnie jak gruczolaki produkujące aldosteron, barwiak chromochłonny powoduje nadciśnienie tętnicze, które może być wyleczone po wykonaniu zabiegu operacyjnego. Wprawdzie jedynie 0,1 – 0,5% przypadków nadciśnienia jest spowodowane przez barwiaka chromochłonnego, to jednak zwyżka ciśnienia wywołana przez ten guz może być fatalna w skutkach, jeśli nowotwór nie zostanie rozpoznany. Niekiedy barwiaki mogą produkować sterydy lub peptydy i przebiegać z objawami zespołu Cushinga lub innej endokrynopatii [1].

Około 85% pheochromocytoma powstaje w obrębie rdzenia nadnerczy, pozostałe na terenie pozanadnerczowych ciałek przyzwojowych. Pozanadnerczowe guzy, które nie wykazują reakcji chromafinowej i są nieczynne hormonalnie określa się mianem przyzwojaków chromoopornych czyli niechromochłonnych (paraganglioma nonchromaffinicum). Około 90% nowotworów chromochłonnych rdzenia nadnerczy powstaje sporadycznie a pozostałe w przebiegu jednego z wielu dziedzicznych zespołów chorobowych takich jak: MEN, typ I neurofibromatozy, choroba von Hippel-Lindau.

Barwiaki występujące w zespołach MEN (typu I i II) są zazwyczaj obustronne i mogą rozwijać się pozanadnerczowo. Powstawanie zmian w tych zaburzeniach wiąże się z mutacją punktową protoonkogenu *RET* w komórkach rozrodczych. Gen ten, zlokalizowany na chromosomie 10, koduje receptor o aktywności kinazy tyrozynowej, którego ligandem jest czynnik neurotropowy wydzielany przez komórki glijowe. Aktywacja receptora pobudza wzrost i różnicowanie komórek. Mutacja w obrębie protoonkogenu *RET* powoduje nieprzerwaną aktywację kinazy tyrozynowej, a w efekcie tego wzmożoną proliferację komórek [1].

Pacjenci z neurofibromatozą typu I (zwaną dawniej chorobą von Recklinghausena) obarczeni są czterokrotnie większym ryzykiem rozwinięcia się u nich guza chromochłonnego. W przypadku tej choroby zaburzenia genetyczne związane są z mutacją genu zlokalizowanego na chromosomie 17, który koduje białko o nazwie *neurofibromina*, blokujące cykl komórkowy poprzez interakcję z proteiną p21. Zmutowana forma neurofibrominy traci swoje działanie supresorowe proliferacji komórek [1].

Z kolei zespół von Hippel-Lindau jest wrodzoną, autosomalnie dziedziczną chorobą, w której oprócz guzów naczyniowych OUN dosyć często pojawiają się raki nerki i barwiaki. Gen *VHL* odpowiedzialny za tą chorobę znajduje się na chromosomie 3p i koduje białko *VHL* hamujące wydłużanie łańcucha

RNA podczas jego syntezy. Produkt genu *VHL* przyłączając się do *elonginy* B i C, blokuje powstanie trzyskładnikowego kompleksu (elongina A, B i C) odpowiedzialnego za wydłużanie łańcucha RNA. Mutacja w obrębie genu *VHL* indukuje powstanie białka niezdolnego do interakcji z *elonginą* A i B [1].

Pheochromocytoma występujący nierodzinnie obserwuje się przeważnie u osób dorosłych w wieku 40-60 lat, nieco częściej u kobiet. W rodzinnych zespołach często guz ten rozwija się u dzieci, częściej u chłopców. Obustronne występowanie w grupie nowotworów sporadycznych stwierdza się w 10-15% przypadków. Barwiaki chromochłonne umiejscowione pozanadnerczowo częściej charakteryzują się jednoznacznie złośliwym przebiegiem (20-40%) niż guzy rozwijające się w nadnerczach (10%).

Zasadniczym objawem klinicznym barwiaka chromochłonnego jest nadciśnienie tętnicze. Klasycznie stwierdza się nagły skok ciśnienia z tachykardią, bólem głowy, dusznością, poceniem się, drżeniem i uczuciem niepokoju. Jednocześnie może pojawić się ból brzucha lub klatki piersiowej, nudności i wymioty. W praktyce, pojedyncze, napadowe epizody nadciśnienia występują u mniej niż u połowy pacjentów. U około dwóch trzecich stwierdza się stałe, utrwalone nadciśnienie. Napady nadciśnienia mogą być wzbudzone przez stres emocjonalny, wysiłek fizyczny, zmianę postawy ciała, oraz palpację okolicy guza. Zwyżkę ciśnienia krwi wywołuje nagłe uwolnienie katecholamin. Może doprowadzić to do zastoinowej niewydolności serca, obrzęku płuc, zawału mięśnia sercowego, migotania komór, oraz zmian naczyniowych w mózgu. W niektórych przypadkach komórki pheochromocytoma wytwarzają ponadto inne hormony takie jak ACTH i somatostatynę. Wówczas mogą pojawić się objawy związane z wydzielaniem tych hormonów.

Diagnostyka laboratoryjna barwiaka chromochłonnego opiera się na ujawnieniu zwiększonego wydzielania z moczem wolnych katecholamin i ich metabolitów, takich jak kwas wanilinomigdałowy.

Pheochromocytoma może być guzem małych rozmiarów ograniczonym do nadnercza lub też dużym, krwotocznie zmienionym tworem ważącym kilka kilogramów. Średnia masa ujawnianych barwiaków wynosi 100 g. Opublikowano jednak doniesienia o wykryciu drobnych guzów masy około 1g oraz bardzo dużych do 4 kg. Większe nowotwory otacza włóknista tkanka łączna lub też zdeformowane nadnercze. Pasma bogato unaczynionej tkanki łącznej dzielą go na zraziki. Na przekrojach małe guzy są żółtawo-brązowej barwy. W większych stwierdza się wylewy krwawe, ogniska martwicy, torbielowate przestrzenie. Umieszczenie świeżego, nieutralonego barwiaka w roztworze dwuchromianu potasu powoduje

zmianę jego zabarwienia na ciemnobrązowe z powodu oksydacji katecholamin (stąd nazwa guz chromochłonny).

Obraz mikroskopowy barwiaka chromochłonnego jest różnorodny. Guz składa się zazwyczaj z wielobocznych komórek tworzących małe gniazda lub pęcherzyki otoczone bogato unaczynionym podścieliskiem. Cytoplazma komórek nowotworowych jest lekko ziarnista, co dobrze uwidacznia się po srebrzeniu. Są to ziarnistości zawierające katecholaminy. W mikroskopie elektronowym stwierdza się różną ilość otoczonych błonami elektronowo-gęstych ziarnistości wypełnionych katecholaminami lub niekiedy hormonami peptydowymi. Komórki cechują się przeważnie pleomorfizmem, zwłaszcza w zmianach o budowie pęcherzykowej. Często widzi się nowotworowe komórki olbrzymie i dziwaczne. Oprócz komórek chromochłonnych w guzach tych znajdują się również komórki sustentakularne (niewidoczne w rutynowym barwieniu H&E), których funkcje porównuje się do komórek glejowych w OUN. Podziały komórek nowotworowych są nieliczne, a ich obecność i liczba nie przesądza o złośliwości nowotworu. Naciekanie łącznotkankowej torebki guza jak i naczyń można obserwować w zmianach łagodnych, zatem nie wolno tego zjawiska traktować jako oczywistego wykładnika złośliwości biologicznej zmiany. O złośliwości guza jednoznacznie świadczy obecność przerzutów [1].

Obecnie poszukuje się innych cech biologicznych, które pomogłyby odpowiednio wcześniej wyodrębnić guzy złośliwe, zanim pojawią się przerzuty, i włączyć bardziej zdecydowane leczenie zapobiegające powikłaniom pheochromocytoma.

Bada się zarówno najprostsze właściwości mikroskopowe tych guzów, jak i czynniki oceniane za pomocą technik immunohistochemicznych, aż po zaburzenia cyto-genetyczne ujawniane dzięki postępom a zakresie biologii molekularnej.

Jedne z pierwszych analiz dotyczyły oceny złośliwości barwiaków chromochłonnych na podstawie histopatologicznych obrazów guzów chromochłonnych. W badaniach Thomsona, w 100 przypadkach pheochromocytoma (50 łagodnych i 50 złośliwych) poszukiwano 12 mikroskopowych cech diagnostycznych takich jak: inwazja naczyń, naciekanie torebki guza, naciekanie okołonadnerczowej tkanki tłuszczowej, obecność dużych gniazd komórkowych lub rozlany charakter wzrost, duża gęstość komórkowa, monotonia komórkowa, zwiększona aktywność mitotyczna (>3/10 dużych pól widzenia), atypowe mitozy, pojawienie się martwicy, obecność komórek wrzecionowatych, duży pleomorfizm komórkowy i hyperchromazja jąder komórkowych. Każdej z tych cech nadano stałą wartość punktową (1 lub 2) i sumowano je. Maksymalna liczba punktów mogła wynosić 20. Powstały w ten sposób indeks, określony jako PASS

(Pheochromocytoma of the Adrenal Gland Scaled Score) posłużył do podziału pheochromocytoma na 2 kategorie: guzy o potencjalnie dużej złośliwości (PASS > lub =4) i guzy łagodne (PASS <4) [2].

Pojawiły się również doniesienia sugerujące, iż zmniejszona ilość komórek sustentakularnych w guzach chromochłonnych znamionuje większą złośliwość nowotworu. Komórki te uwidacznia się immunohistochemicznie za pomocą przeciwciał przeciw białku S-100. Stwierdzono, że w większości złośliwych barwiaków chromochłonnych zmniejsza się ilość komórek sustentakularnych, aż do zupełnego ich braku [3].

Oceniano także wpływ angiogenezy, czyli tworzenia nowych naczyń, na złośliwość pheochromocytoma. Jak wiadomo proces ten niezbędny jest w czasie embrionalnego rozwoju, różnicowania tkanek, gojenia. Także rozwój litych guzów nowotworowych od momentu osiągnięcia przez nie średnicy 1-2 mm uzależniony jest od angiogenezy. Dzieje się tak, ponieważ odległość 1-2 mm to maksymalny dystans, na jaki swobodnie dyfundują tlen i czynniki odżywcze. Zwiększone unaczynienie guza ułatwia również tworzenie przerzutów, gdyż nowo powstałe naczynia są nieszczelne, stanowiąc otwarte wrota dla komórek nowotworowych. Dlatego angiogeneza w guzach nowotworowych jest ściśle związana z ich biologiczną złośliwością. Za powstawanie nowych naczyń w przebiegu nowotworu odpowiedzialne są tzw. czynniki naczyniowe, z których najistotniejszą rolę odgrywają: śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (VEGF) i czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF). Wymienione aktywatory wzrostu naczyniowego pochodzą z komórek nowotworowych, a także z komórek nacieku zapalnego (np. makrofagów) towarzyszącego guzowi [1].

Nowotworzenie naczyń uważa się za niekorzystny czynnik rokowniczy w takich nowotworach jak raki sutka, szyjki macicy i pęcherza moczowego. Ocenę gęstości naczyń można dokonać m.in. poprzez immunohistochemiczne oznaczenie czynnika VIII (czynnik von Willenbranda), który jest syntetyzowany i zlokalizowany na komórkach śródbłonka naczyń lub antygenu CD34, dzięki któremu można dokładniej identyfikować naczynia o bardzo małej średnicy. Według badań Liu i współpracowników średnia gęstość naczyń w złośliwych pheochromocytoma oznaczana za pomocą przeciwciał przeciw czynnikowi VIII jest dwukrotnie większa niż w guzach łagodnych [4]. Nowsze doniesienia dowodzą jednak, że nie ma statystycznej zależności pomiędzy gęstością naczyń w utkaniu guza a inwazyjnością barwiaków chromochłonnych [5].

Angiogenezę guzów chromochłonnych nadnerczy badano także na poziomie genów odpowiedzialnych z ten proces. Przy pomocy hybrydyzacji in situ mierzono poziom ekspresji genów kodujących czynniki angiogenetyczne oraz

ich receptory, m.in. naczyniowy czynnik wzrostu (VEGF). Wzrost ekspresji VEGF i jego receptorów VEGFR-1 i VEGFR-2 odnotowano we wszystkich zbadanych, złośliwych barwiakach, małą ekspresję w łagodnych, a brak lub bardzo słabą w niezmiennym rdzeniu nadnerczy. Wzrost ekspresji VEGF dotyczył zarówno komórek guza, jak i komórek śródbłonna [6].

Natomiast rzeczywiście, przydatnym w praktyce diagnostycznej markerem złośliwości guzów chromochłonnych nadnerczy może okazać się tenascyna – glikoproteina pozakomórkowa produkowana przez fibroblasty. Wydzielana jest ona w dużych ilościach w czasie embriogenezy i w procesach zapalnych. Tenascyna ma strukturę aminokwasową podobną do naskórkowego czynnika wzrostu EGF. Może łączyć się z receptorem dla EGF i pobudzać proliferację komórek. Po raz pierwszy uznano ją jako marker nowotworów złośliwych w przypadkach raka sutka [7]. Dowiedziono również wzrostu ekspresji tenascyny w złośliwych pheochromocytoma i paraganglioma. Łagodne guzy chromochłonne charakteryzują się słabą ekspresją tenascyny. Komórki prawidłowego rdzenia nadnerczy są tenascyno-negatywne [7].

Przeprowadzono wiele analiz aktywności proliferacyjnej guzów chromochłonnych. Badano ją za pomocą cytometrii przepływowej, a także immunohistochemicznie poprzez ocenę markerów proliferacji takich jak Ki67 (przeciwciała MIB-1) i PCNA [8,9]. Cytometrię przepływową wykorzystuje się przede wszystkim do oceny ploidi DNA i oceny faz cyklu komórkowego w guzach nowotworowych. Analiza tych parametrów pozwala wyodrębnić grupę nowotworów wymagających bardziej agresywnego leczenia. Aneuploidię i wysoką frakcję komórek guza będących w fazie S traktuje się jako niekorzystne czynniki rokownicze w różnych nowotworach, m.in. raku jajnika, nerki, gruczołu krokowego oraz mięsakach tkanek miękkich. Zaskakująco, w guzach chromochłonnych nadnerczy nie stwierdzono dodatniej korelacji pomiędzy wzrostem ploidi DNA i zwiększoną liczbą komórek guza w fazie S cyklu komórkowego a zwiększoną inwazyjnością tych guzów [10, 11].

Antygen Ki-67 jest białkiem o dużej zawartości proliny i lizyny, niezbędnym do utrzymania cyklu komórkowego. Ki-67 obecny w jądrze komórkowym w czasie faz G1, S, G2 i M nie występuje w czasie fazy G0 i na początku fazy G1. Silna ekspresja antygeny Ki-67 w jądrze komórek nowotworowych przemawia za dużą agresywnością guza i jest czynnikiem rokowniczo niekorzystnym. W guzach endokrynych dużą aktywność proliferacyjną uznaje się za ważny wykładnik złośliwości nowotworu [12]. Według Clarka i współpracowników istnieje silny związek pomiędzy wskaźnikiem MIB-1 (% komórek guza z jądrową ekspresją Ki-67) a złośliwością guzów chromochłonnych.

Średni wskaźnik wynoszący 5 (1-18%) dowodzi złośliwości nowotworu, a 1 (0,5-3%) jest typowy dla łagodnych zmian [13]. Wyniki te zdają się potwierdzać wyniki badań innych autorów. Brown i współpracownicy wykazali w ponad połowie badanych guzów złośliwych indeks proliferacyjny wyższy od 2,5%, przy braku proliferacji w łagodnych pheochromocytoma [10, 11].

Mutację genu supresorowego p53 uznaje się za jedno z najczęstszych zaburzeń genetycznych w ludzkich nowotworach. Gen p53 zlokalizowany jest na krótkim ramieniu 17 chromosomu. Mutacje, a także nadekspresję białkowego produktu tego genu, wykrywa się w szerokim spektrum nowotworów, poczynając od guzów nabłonkowych i mezenchymalnych poprzez hematopoetyczne, aż na guzach OUN kończąc. Utratę heterozygotyczności w obrębie chromosomu 17p obserwuje się w wielu przypadkach pheochromocytoma, co sugeruje, iż gen p53 odgrywa istotną rolę również w powstawaniu nowotworów rdzenia nadnerczy. Białkowy produkt „dzikiej” formy genu supresorowego p53, hamuje podziały komórkowe poprzez interakcję z białkiem p21 (znanym również jako WAF1 – pierwszym, wyodrębnionym inhibitorem cyklicznych kinaz (CDK), blokującym cykl komórkowy na pograniczu fazy G1 i S). Mutacja genu p53 powoduje między innymi zmianę fizykochemicznych właściwości jego białkowego produktu. Dzięki temu staje się on bardziej stabilny i łatwiej wykrywalny w komórkach nowotworowych [1, 14, 15]. Doniesienia o znaczeniu białka p53 dla biologii guzów chromochłonnych pozostają jednak sprzeczne. W badaniach Dahia i współpracowników nie wykryto mutacji genu p53 w żadnym z 25 badanych barwiaków chromochłonnych nadnerczy [16]. Podobnie w pracach Gupta i współpracowników nie odnotowano różnicy w ekspresji białka p53 pomiędzy łagodnymi i złośliwymi formami pheochromocytoma [17]. Jednakże De Krijger i współpracownicy wskazują na częstszą i silniejszą ekspresję białka p53 w złośliwych pheochromocytoma niż w łagodnych [18]. Do podobnych wniosków doszli również Salmenkivi i współpracownicy, potwierdzając istotną rolę białka p53 jako markera złośliwości barwiaków [14]. Użyteczność oceny p53 zwiększa się jeszcze bardziej, jeśli jednocześnie poddaje się ocenie ekspresję białkowego produktu protoonkogenu bcl-2. Gen ten reguluje produkcję białka hamującego apoptozę. Nasilone działanie bcl-2 obserwuje się w nowotworach złośliwych, również w przypadkach złośliwych guzów chromochłonnych nadnerczy [18].

Powszechnie wiadomo, iż nadekspresja protoonkogenu c-erbB-2 odgrywa istotną rolę w kancerynogenezie wielu ludzkich nowotworów i koreluje dodatnio z gorszym przebiegiem choroby. Na przykład w raku sutka uznaje się ją za najsilniejszy czynnik predykcyjny, zaraz po stanie węzłów

chłonnych. Protoonkogen c-erbB-2, który koduje błonowe białko o aktywności kinazy tyrozynowej, wysoce homologicznej z receptorem dla EGF jest ludzkim odpowiednikiem mysiego genu c-neu. W wielu różnych badaniach dowiedziono, iż w przypadkach guzów chromochłonnych z przerzutami, a także tych związanych z zespołem MEN odsetek komórek guza c-erbB-2 pozytywnych jest bardzo wysoki (ponad 50% komórek). Potwierdza to związek nadekspresji c-erbB-2 z niekorzystnym przebiegiem choroby i dowodzi jego użyteczności jako markera złośliwych pheochromocytoma, przede wszystkim w zespołach MEN [18, 19].

Za pomocą badań z zakresu techniki biologii molekularnej stwierdzono, że utrata części lub całego krótkiego ramienia chromosomu 1 zapoczątkowuje kaskadę zaburzeń genetycznych w pheochromocytoma i paraganglioma. Wcześniejsze badania wskazywały, że najczęściej dochodzi do utraty dystalnej części chromosomu 1p, gdzie obecny jest locus genu supresorowego p73 [20, 21]. W badaniach Moley'a i współpracowników sugerowano również, iż delecja 1p jest szczególnie charakterystyczna dla pheochromocytoma rozwijających się w zespołach MEN 2 [22]. Najnowsze doniesienia nie potwierdzają tego ustalenia. Obecnie oprócz zaburzeń strukturalnych w obrębie chromosomu 1p opisuje się również delecje w obrębie chromosomów 3p, 3q, 11p, 17p, 22q. Powyższe dane wskazują na szczególną rolę inaktywacji genów supresorowych w powstawaniu guzów chromochłonnych nadnerczy z uwagi na częstsze zjawisko utraty części genomu niż jego zwielokrotnienia [20, 21].

W złośliwych pheochromocytoma liczba zaburzeń genetycznych jest generalnie większa w porównaniu z guzami łagodnymi, co wskazuje na wzrost niestabilności genomu. Konwersja łagodnego pheochromocytoma w złośliwy wiąże się prawdopodobnie z zaburzeniem w obrębie chromosomu 11. W guzach złośliwych szczególnie często dochodzi do delecji w obrębie 17q22-23, ale nie jest to utrata pojedynczego, specyficznego regionu, co utrudnia interpretację wyżej wymienionych zaburzeń [21].

Kolejne badania koncentrują się na ocenie aktywności telomerazy, enzymu, który bierze udział w utrzymywaniu stabilności (długości) telomerów. Poprzez swoją aktywność telomeraza związana jest ze starzeniem się lub nieśmiertelnością komórek i działa jak czynnik apoptotyczny. Stała i zwiększoną aktywność tego enzymu obserwuje się m.in. w rakach sutka, jelita grubego, żołądka, tarczycy, zamionując wysoką agresywność nowotworu [23, 24].

Jak wynika z najnowszych doniesień również złośliwe guzy chromochłonne nadnerczy charakteryzują się wzrostem aktywności telomerazy i dodatkowo wzrostem ekspresji białka szoku termicznego 90 (HSP90), które wchodzi w skład

tw. kompleksu telomerazy [25, 26]. Równocześnie badania Eldera i współpracowników wykazały zwiększoną ekspresję podjednostki katalitycznej telomerazy (hTERT) w prawie wszystkich badanych przypadkach złośliwych pheochromocytoma, przy braku ekspresji w komórkach łagodnych guzów chromochłonnych [27].

Podsumowując należy stwierdzić, iż wyniki badań nad pheochromocytoma i mechanizmem ich progresji w kierunku guzów złośliwych dostarczają coraz więcej cennych informacji o biologii tych stosunkowo rzadkich nowotworów. Obecnie żadna z wyżej opisanych cech, oprócz obecności przerzutów, nie może posłużyć samodzielnie do określenia złośliwości pheochromocytoma. Niezbędne w ocenie stopnia agresywności barwiaków wydaje się zastosowanie skali PASS oraz analiza kilku dodatkowych czynników jednocześnie. Najbardziej przydatne w tym celu wydają się być wykrycie wysokiej ekspresji telomerazy i hTERT, a także dużej aktywności proliferacyjnej komórek guza ujawnionej w reakcji immunohistochemicznej przy użyciu MIB-1. Działania te są oczywiście kosztowne i technicznie skomplikowane, stąd istnieje pilna konieczność stworzenia w Polsce centralnego rejestru przypadków barwiaków chromochłonnych. Taki zespół dysponujący dobrym zapleczem diagnostycznym i niezależnym budżetem byłby w stanie wielokrotnie przeanalizować każdy guz zarówno od strony klinicznej, jak i jego tła genetycznego i patomorfologii. Od 2 lat czynione są starania w celu powstania takiego zespołu badawczego. Dzięki niemu możliwa byłaby również współpraca międzynarodowa nadzorowana przez powstałą ostatnio organizację do spraw badań nad pheochromocytoma o nazwie PRESSOR (www.pressor.org).

Piśmiennictwo

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Pathologic basis of disease. WB Saunders, Philadelphia 1999: 1164-1166.
2. Thompson LD. Pheochromocytoma of the Adrenal gland Scaled Score (PASS) to separate benign from malignant neoplasms: a clinicopathologic and immunophenotypic study of 100 cases. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(5): 551-566.
3. Lloyd RV, Blaivas M, Wilson BS. Distribution of chromogranin and S100 protein in normal and abnormal adrenal medullary tissues. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109(7): 633-635.
4. Rooijens PP, de Krijger RR, Bonjer HJ et al. The significance of angiogenesis in malignant pheochromocytomas. *Endocr Pathol* 2004; 15(1): 39-45.
5. Favier J, Plouin PF, Corvol P et al. Angiogenesis and vascular architecture in pheochromocytomas: distinctive traits in malignant tumors. *Am J Pathol* 2002; 161(4): 1235-1246.
6. Salmenkivi K, Heikkilä P, Liu J, Haglund C et al. VEGF in 105 pheochromocytomas: enhanced expression correlates with malignant outcome. *APMIS* 2003; 111(4): 458-464.
7. Salmenkivi K, Haglund C, Arola J et al. Increased expression of tenascin in pheochromocytomas correlates with malignancy. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(11): 1419-1423.
8. Kumaki N, Kajiwara H, Kameyama K et al. Prediction of malignant behavior of pheochromocytomas and paragangliomas using immunohistochemical techniques. *Endocr Pathol* 2002; 13(2): 149-156.

9. Nagura S, Katoh R, Kawaoi A et al. Immunohistochemical estimations of growth activity to predict biological behavior of pheochromocytomas. *Mod Pathol* 1999; 12(12): 1107-1111.
10. van der Harst E, Bruining HA, Jaap Bonjer H et al. Proliferative index in pheochromocytomas: does it predict the occurrence of metastases?. *J Pathol* 2000; 191(2): 175-180.
11. Brown HM, Komorowski RA, Wilson SD et al. Predicting metastasis of pheochromocytomas using DNA flow cytometry and immunohistochemical markers of cell proliferation: A positive correlation between MIB-1 staining and malignant tumor behavior. *Cancer* 1999; 86(8): 1583-1589.
12. Ohji H, Sasagawa I, Iciyanagi O et al. Tumour angiogenesis and Ki-67 expression in pheochromocytoma. *BJU Int* 2001; 87(4): 381-385.
13. Clarke MR, Weyant RJ, Watson CG et al. Prognostic markers in pheochromocytoma. *Hum Pathol*. 1998; 29(5): 522-526.
14. Salmenkivi K, Heikkila P, Haglund C et al. Lack of histologically suspicious features, proliferative activity, and p53 expression suggests benign diagnosis in pheochromocytomas. *Histopathology* 2003; 43(1): 62-71.
15. Yoshimoto T, Naruse M, Zeng Z et al. The relatively high frequency of p53 gene mutations in multiple and malignant pheochromocytomas. *J Endocrinol* 1998; 159(2): 247-255.
16. Dahia PL, Aguiar RC, Tsanaclis AM et al. Molecular and immunohistochemical analysis of P53 in pheochromocytoma. *Br J Cancer* 1995; 72(5): 1211-1213.
17. Gupta D, Shidham V, Holden J et al. Prognostic value of immunohistochemical expression of topoisomerase alpha II, MIB-1, p53, E-cadherin, retinoblastoma gene protein product, and HER-2/neu in adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8(4): 267-274.
18. de Krijger RR, van der Harst E, van der Ham Fet al. Prognostic value of p53, bcl-2, and c-erbB-2 protein expression in pheochromocytomas. *J Pathol* 1999; 188(1): 51-55.
19. Castilla-Guerra L, Moreno AM, Fernandez-Moreno MC et al. Expression and prognostic value of c-erbB-2 oncogene product in human pheochromocytomas. *Histopathology* 1997; 31(2): 144-149.
20. Dannenberg H, Speel EJ, Zhao J et al. Losses of chromosomes 1p and 3q are early genetic events in the development of sporadic pheochromocytomas. *Am J Pathol* 2000; 157(2): 353-359.
21. Edstrom E, Mahlamaki E, Nord B et al. Comparative genomic hybridization reveals frequent losses of chromosomes 1p and 3q in pheochromocytomas and abdominal paragangliomas, suggesting a common genetic etiology. *Am J Pathol* 2000; 156(2): 651-659.
22. Moley JF, Brother MB, Fong CT et al. Consistent association of 1p loss of heterozygosity with pheochromocytomas from patients with multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes. *Cancer Res* 1992; 52(4): 770-774.
23. Boltze C, Mundschenk J, Unger N et al. Expression profile of the telomeric complex discriminates between benign and malignant pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(9): 4280-4286.
24. Kubota Y, Nakada T, Sasagawa I et al. Elevated levels of telomerase activity in malignant pheochromocytoma. *Cancer* 1998; 82(1): 176-179.
25. Eisenhofer G, Bornstein SR, Brouwers FM. Malignant pheochromocytoma: current status and initiatives for future progress. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11(3): 423-436.
26. Boltze C, Lehnert H, Schneider-Stock R et al. HSP90 is a key for telomerase activation and malignant transition in pheochromocytoma. *Endocrine* 2004; 23(2-3): 229.
27. Elder EE, Xu D, Hoog A et al. KI-67 AND hTERT expression can aid in the distinction between malignant and benign pheochromocytoma and paraganglioma. *Mod Pathol* 2003; 16(3): 246-255.