



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**


**Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΩΝ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΕ ΕΠΙΝΕΦΡΙΔΙΑΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ.**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΠΑΡΙΑΝΟΣ ΧΡΗΣΤΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2022**

## ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ



ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΟΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΥΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΥΣΙΣΙΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΤΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ, ΔΙΑΙΤΗΜΑΤΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΗ ΕΙΡΞΕΝ' ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΡΙΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΛΩΣ ΔΙΑΙΤΗΡΗΣΙΣ ΒΙΟΝ ΟΥ ΝΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕ ΜΕΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΜΟΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΤΩΝ ΠΡΗΣΙΟΣ ΤΗΣ ΔΕ ΕΞΕΦΟΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΙΑΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ' ΑΝ ΒΗ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΒΕΣΘΑΙ ΜΕΣΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ, ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΓΕΘΟΝΤΙ ΕΙΝ' ΕΓΔΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΣΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΤΡΙΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ· ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΡΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Επώνυμο : Παριανός  
Όνομα : Χρήστος  
Ημερομηνία γέννησης : 21.9.1989  
e-mail: christosparianos@gmail.com

1996-2007 Βασική και μέση εκπαίδευση στο 22ο Αθηνών

2007-2013 Φοίτηση στην Ιατρική Σχολή του πανεπιστημίου Πατρών

23/2/14 Απόκτηση άδειας ασκήσεως ιατρικού επαγγέλματος

23/3/14 Διορισμός σε θέση ειδικευόμενου ιατρού στην γενική χειρουργική στην χειρουργική κλινική του νοσοκομείου Αγία Όλγα

6/8/14 Διορισμός σε θέση ειδικευόμενου ιατρού στην Γ΄Χειρουργική κλινική του Γ.Ν.Α ‘Γ.Γεννηματάς’

6/10/2020 Διορισμός σε θέση αγροτικού ιατρού στο νοσοκομείο Καλαβρύτων ( υποχρεωτική υπηρεσία υπαίθρου )

2/8/2021 Διορισμός σε θέση επικουρικού επιμελητή χειρουργού στην Γ΄Χειρουργική κλινική του Γ.Ν.Α ‘Γ.Γεννηματάς’  
Εθελοντική συμμετοχή στις εφημερίες των ΤΕΠ COVID

- Διδακτορική διατριβή
- ❖ 29.9.16 κατάθεση Πρωτοκόλλου διδακτορικής διατριβής με θέμα : “ Η συσχέτιση ιστοπαθολογικών κλινικών και ορμονολογικών παραγόντων σε επινεφριδιακά νεοπλάσματα ”
- ❖ 4/2018 κατάθεση έκθεσης 1ης προόδου της διδακτορικής διατριβής
- ❖ 5/2019 κατάθεση έκθεσης 2ης προόδου της διδακτορικής διατριβής
- ❖ Υποτροφία της Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας  
2000 ευρώ (χρησιμοποιήθηκε για την ολοκλήρωση της διατριβής)

- ❖ 9.2.2018 Βραβείο Ν.Θαλασσινός για την εργασία : ‘Η έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) σε φυσιολογικό ιστό καθώς και σε όγκους του φλοιού των επινεφριδίων: διερεύνηση του πιθανού ρόλου των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος’.  
 Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη 47ο Πανελλήνιο Συνέδριο  
 18-22 Οκτωβρίου 2020

- Μεταπτυχιακό (διάρκειας 2 ετών)

Χειρουργική ογκολογία (χειρουργικές πανεπιστημιακές κλινικές Ιπποκρατείου και Αρεταιείου )  
 Έναρξη Οκτώβριος 2018 -ολοκλήρωση με παρουσίαση 2.11.21

- Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά
1. Laparoscopic right adrenalectomy for spontaneous hemorrhage in an adrenal incidentaloma , presenting as a case of acute surgical abdomen.  
 A. M. Nixon, C.Aggeli, C.Parianos, G.N.Zografos.  
 Hellenic Journal of Surgery 2016
  2. Surgery for pheochromocytoma: A 20-year experience of a single institution  
 C.Aggeli, A.M.Nixon, C.Parianos, G.Vletsis, L.Papanastasiou, A.Markou, T.Kounadi, G.Piaditis, G.N.Zografos  
 Hormones 2017, 16(4):388-395
  3. Expression of clock-related genes in benign and malignant adrenal tumors.  
 A.Angelousi, N.Nasiri-Ansari, A.Karapanagioti, G.Kyriakopoulos, C.Aggeli, G.N.Zografos, T.Choreftaki, C.Parianos, T.Kounadi, H.S.Randeva, G.Kaltsas, A.G.Papavasileiou, E.kassi.  
 Endocrine 2020
  4. Prophylactic cholecystectomy during sleeve gastrectomy in morbidly obese patients :  
 Presentation of our series and review of the literature.  
 C.Parianos, C.Aggeli, K.Pateas, I.Margaris  
 Surgical Research 2020
  5. Total gastrectomy for the treatment of Menetrier’s disease persistent to medical therapy:a case report.C.Parianos, C.Aggeli, A.Sourla, G.N.Zografos  
 International Journal of case reports 2020

6. Thyroidectomy for painful subacute thyroiditis resistant to steroid treatment.  
C.Parianos, A.A.Thanasa, C.Aggeli, N.Poulianitis, I.Tsipras  
American Surgeon 2020
7. Adrenocortical cancer: a 20-year experience of a single , large referral center in prognosis and outcome.  
  
C.Parianos, G.Kyriakopoulos, I.Kostakis, N. Nasiri-Ansari, C.Aggeli, A.Angelousi, T. Choreutaki, A.Papavasileiou, G.Kaltsas, G.Zografos.E.Kassi.  
Hormone and Metabolic Research 2021

Citations : 24 (2/2022)

- Δημοσιεύσεις περιλήψεων εργασιών σε διεθνή περιοδικά
1. Laparoscopic sleeve gastrectomy. Technical details and initial outcomes in 180 patients at a single institution.  
A.M.Nixon, C.Aggeli, C.Tserkezis, C.Parianos, I.Margaris.  
Surg Endosc (2017) 31: S312-S461
  2. Technical consid ERations in transabdominal adrenalectomy for pheochromocytoma.  
A.M.Nixon, C. Aggeli, G.Vletsis , C. Parianos, G.N.Zografos.  
Surg Endosc (2017) 31: S190-S259
  3. Late onset peritonitis due to subclinical bile leak after laparoscopic cholecystectomy. presentation of 4 cases  
A.M.Nixon, C. Aggeli, G.Vletsis , C. Parianos, G.N.Zografos.  
Surg Endosc (2017) 31: S60-S189
  4. Hand-assisted laparoscopic surgery for large adrenal tumors  
C. Aggeli, A.M.Nixon, C. Parianos, G.Ntokos, G.N.Zografos  
Surg Endosc (2018)32 : S483-S614
  5. Surgical treatment of bilat ERøl adrenal tumors  
C. Aggeli, A.M.Nixon, C. Parianos, C.Tserkezis, G.N.Zografos.  
Surg Endosc (2018)32 : S483-S614

6. Accuracy of adrenal imaging studies in predicting histological tumor dimension following adrenalectomy.  
K.Alexandraki, C.Aggeli, I.Antonopoulou, C.Parianos, G.Ntokos, K.Pateas, G.kaltsas, G.N.Zografos.  
JBioscientifica 2019 volume 63
7. Prophylactic cholecystectomy during laparoscopic sleeve in morbidly obese patients. Results from 306 procedures performed in a single institution.  
C. Parianos, C.Aggeli, S.Roditis, A.Thanasa, I. Margaris  
Surg Endosc (2019) Volume 33 Supplement 2 pp 485-781
8. Surgery for pheochromocytoma : A single institution 20-year experience.  
C. Parianos, C.Aggeli, G.Ntokos, K.Pateas, G.N.Zografos.  
Surg Endosc (2019) Volume 33 Supplement 2 pp 485-781
9. A case of an injury of the abdominal wall and small intestine from an agricultural machine.Reconstruction of the abdominal wall with the use of double-sided mesh.  
C.Parianos, C.Aggeli, G.N.Zografos  
Eur J Trauma Emerg Surg 2020 46 (suppl 1) :s3-s316
10. Age-related differences in the management of patients with acute appendicitis. A single center experience.  
C.Parianos, C.Aggeli, G.N.Zografos  
Eur J Trauma Emerg Surg 2020 46 (suppl 1) :s3-s316
11. Current concepts on laparoscopy adrenal sparing surgery.  
C.Aggeli, S.Roditis, A.Thanasa, A.Katseli, C.Parianos, G.Ntokos, P.Tompolas, A.Koutsira, K.Pateas, G.N.Zografos  
British Journal of Surgery vol 107 :8-9 , 2020
12. Prognostic factors in adrenocortical carcinoma : A single institution case series.  
C.Parianos, G.Kyriakopoulos, I.Kostakis, N. Nasiri-Ansari, C.Aggeli, A.Angelousi, T. Choreftaki, A.Papavasileiou, G.Kaltsas, G.Zografos.E.Kassi.  
Endocrine Abstracts vol 73 Bioscientifica 2021
13. Expression of estrogen-related receptors and epidermal growth factor receptor in normal adrenal cortex and adrenocortical tumors : a possible role of GPR30 and EGFR in adrenocortical malignancy.  
C.Parianos, G.Kyriakopoulos, N.Nasiri-Ansari, A.Karapanagioti, A.Angelousi,

C.Aggeli, G.N.Zografos, T.Choreftaki, T.Kounadi, H.Randeva, G.Kaltsas,  
A.G.Papavassiliou, E.Kassi  
Endocrine Abstracts vol 70 Bioscientifica 2021

- Ελεύθερες ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια
1. Laparoscopic sleeve gastrectomy. Technical details and initial outcomes in 180 patients at a single institution.  
A.M.Nixon, C.Aggeli, C.Tserkezis, C.Parianos, I.Margaris.  
24th International Congress of the European Association for Endoscopic Surgery  
15-18 June 2016 Amsterdam
  2. Adrenal mass hemorrhage. A report of 10 cases.  
A.M.Nixon, C.Aggeli, C.Tserkezis, C.Parianos, G.Vletsis, G.N.Zografos  
ESES 7th Symposium Endocrine Surgery for subclinical disease.  
Oxford 6-8 April 2017
  3. Special issues in laparoscopic surgery for pheochromocytoma.  
C. Aggeli, A.M.Nixon, T. Choreftaki, C.Tserkezis, G.Vletsis, C. Parianos,  
G.N.Zografos.  
ESES 7th Symposium Endocrine Surgery for subclinical disease.  
Oxford 6-8 April 2017
  4. Technical considerations in transabdominal adrenalectomy for pheochromocytoma.  
A.M.Nixon, C. Aggeli, G.Vletsis, C. Parianos, G.N.Zografos.  
25th International Congress of the European Association for endoscopic Surgeon EAES  
14-15 June 2017 Frankfurt Am Main
  5. Late onset peritonitis due to subclinical bile leak after laparoscopic cholecystectomy.  
presentation of 4 cases  
A.M.Nixon, C. Aggeli, G.Vletsis, C. Parianos, G.N.Zografos.  
25th International Congress of the European Association for endoscopic Surgeon EAES  
14-15 June 2017 Frankfurt Am Main
  6. Surgical treatment of bilateral adrenal tumors  
C. Aggeli, A.M.Nixon, C. Parianos, C.Tserkezis, G.N.Zografos.

26th International Congress of the European Association for endoscopic Surgeon EAES  
30 May-1June 2018 London

7. Hand-assisted laparoscopic surgery for large adrenal tumors  
C. Aggeli, A.M.Nixon, C. Parianos, G.Ntokos, G.N.Zografos.  
26th International Congress of the European Association for endoscopic Surgeon EAES  
30 May-1June 2018 London
8. Accuracy of adrenal imaging studies in predicting histological tumor dimension following adrenalectomy.  
K.Alexandraki, C.Aggeli, I.Antonopoulou, C.Parianos, G.Ntokos, K.Pateas, G.kaltsas, G.N.Zografos.  
ECE 2019 18-21 May 2019 Lyon, France
9. Prophylactic cholecystectomy during laparoscopic sleeve gastrectomy in morbidly obese patients. Results from 306 procedures performed in a single institution.  
C. Parianos, C.Aggeli, S.Roditis, A.Thanasa, I. Margaris  
27th International Congress of the European Association for endoscopic Surgeon EAES  
12-13 June 2019 Spain
10. Surgery for pheochromocytoma : A single institution 20-year experience.  
C. Parianos, C.Aggeli, G.Ntokos, K.Pateas, G.N.Zografos.  
27th International Congress of the European Association for endoscopic Surgeon EAES\  
12-13 June 2019 Spain
11. A case of an injury of the abdominal wall and small intestine from an agricultural machine.Reconstruction of the abdominal wall with the use of double-sided mesh.  
C.Parianos, C.Aggeli, G.N.Zografos  
21st Congress of trauma and emergency surgery 26-28 April 2020 Oslo Norway
12. Age-related differences in the management of patients with acute appendicitis. A single center experience, C.Parianos, C.Aggeli, G.N.Zografos  
21st Congress of trauma and emergency surgery 26-28 April 2020 Oslo Norway
13. Laparoscopic cortical adrenal sparing: indications, surgical techniques and current evidence. Our experience from the 14 cases.C.Aggeli, S.Roditis, A.Thanasa, A.Katseli, C.Parianos, G.Ntokos, G.N.Zografos  
9th Biennial Congress of the European Society of Endocrine Surgeon  
Athens 28-30 May 2020



14. Pancreatic Neuroendocrine tumors: A 20 year experience from a single institution, C.Aggeli, A.Thanasa, C.Parianos, , G.N.Zografos  
9th Biennial Congress of the European Society of Endocrine Surgeons  
Athens 28-30 May 2020
15. Expression of estrogen-related receptors and epidermal growth factor receptor in normal adrenal cortex and adrenocortical tumors : a possible role of GPR30 and EGFR in adrenocortical malignancy.C.Parianos, G.Kyriakopoulos, N.Nasiri-Ansari, A.Karapanagioti, A.Angelousi, C.Aggeli, G.N.Zografos, T.Choreftaki, T.Kounadi, H.Randeva, G.Kaltsas, A.G.Papavassiliou, E.Kassi eECE 5-9 September 2020 United Kingdom
16. Prognostic factors in adrenocortical carcinoma : A single institution case series. C.Parianos, G.Kyriakopoulos, I.Kostakis, N. Nasiri-Ansari, C.Aggeli, A.Angelousi, T.Choreftaki, A.Papavasileiou, G.Kaltsas, G.Zografos.E.Kassi.  
e ECE 22-25 May 2021 Prague
17. Open and laparoscopic surgery for adrenocortical carcinoma. C.Parianos. C.Aggeli, N. Nasari-Ansari , G.Kyriakopoulos, K.Pateas, T.Choreutaki , E.Kassi , G.N.Zografos  
WCES 2021 Barcelona , Spain
18. Open and laparoscopic surgery for isolated adrenal metastases. C.Aggeli, C.Parianos, K.Pateas, V.Theocharidis, D.Stratigakos, A.Katseli, G.N.Zografos.  
WCES 2021 Barcelona , Spain

- Δημοσιεύσεις σε ελληνικά περιοδικά

1. Χειρουργική αντιμετώπιση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. Χ.Παριανός, Χ.Αγγέλη, Κ.Πατέας, Κ.Πουλή, Γ.Ν.Ζωγράφος. Hellenic Journal of Endocrine Surgery (ηλεκτρονικό περιοδικό Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων) 2021
2. Ογκολογικά αποτελέσματα της εκτομής μονήρους μεταστατικής εστίας στα επινεφρίδια από άλλη πρωτοπαθή εστία. Χ.Αγγέλη , Χ.Παριανός , Β.Θεοχαρίδης, Α.Κουτσιαρά, Γ.Ν.Ζωγράφος. Hellenic Journal of Endocrine Surgery (ηλεκτρονικό περιοδικό Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων) 2021

- Ελεύθερες ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια

1. Μετάχρονη αμφοτερόπλευρη επινεφριδεκτομή σε ασθενή με σύνδρομο Cushing στα πλαίσια συμπλέγματος Carney  
Α.Κορωναίος , Α.Μ.Νίξον,  
Η.Περυσινάκης, Χ.Μειδάνης , Χ. Παριανός, Π.Θεσσαλονικεύς, Ε.Τζιράκης,  
Γ.Ν.Ζωγράφος. 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών  
Αδένων 30 Οκτ-1 Νοεμβρίου 2015 Αθήνα
2. Επιδράσεις της λαπαροσκοπικής επινεφριδεκτομής στους ασθενείς με υποκλινικό σύνδρομο Cushing  
Η.Περυσινάκης , Α.Μ.Νίξον ,  
Β.Γκατζιώλης, Χ.Μειδάνης, Χ.Παριανός, Α.Διαμαντόπουλος, Ε.Τζιράκης ,  
Γ.Ν.Ζωγράφος 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής  
Ενδοκρινών Αδένων 30 Οκτ- 1 Νοεμβρίου 2015 Αθήνα
3. Χειρουργική αντιμετώπιση όγκων επινεφριδίων: εμπειρία από 450 περιπτώσεις.  
Η. Περυσινάκης, Χ.Αγγέλη, Α.Νίξον, Χ.Μειδάνης, Α.Κορωναίος, Χ.Παριανός,  
Β.Γκατζιώλης, Γ, Ζωγράφος.  
42ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα, 11-14 Μαΐου 2016
4. Η διεγχειρητική αιμοδυναμική αστάθεια ως πρώτη εκδήλωση φαιοχρωμοκυτώματος, ενδιαφέρουσα περίπτωση.  
Η.Περυσινάκης, Χ.Τσερκέζης,  
Α.Νίξον, Χ.Παριανός, Α.Κορωναίος, Χ.Αγγέλη, Γ, Ζωγράφος.  
Πολυθεματική επιστημονική εκδήλωση Καλάβρυτα 3-5 Ιουνίου 2016
5. Λαπαροσκοπική εκτομή ινσουλινώματος παγκρέατος μετά από σήμανση με ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα.  
Χ.Αγγέλη, Χ.Παριανός,  
Η.Περυσινάκης, Α.Μ.Νίξον, Π.θεσσαλονικεύς, Π.Τόμπολας, Γ.Ν.Ζωγράφος  
Πολυθεματική επιστημονική εκδήλωση Καλάβρυτα 3-5 Ιουνίου  
2016
6. Λαπαροσκοπική επιμήκης γαστρεκτομή. Τεχνικά σημεία και αρχικά αποτελέσματα από 210 επεμβάσεις εντός μόνο κέντρου. Α.Νίξον, Χ.Αγγέλη, Γ.Βλέτσης, Β.Γκατζιώλης,  
Χ.Τσερκέζης, Χ.Παριανός, Η.Μάργαρης. Γ΄Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α.  
“Γ.Γεννηματάς” 30ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και  
διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 9-12 Νοεμβρίου 2016

7. Ιδιαιτερότητες στην λαπαροσκοπική χειρουργική των φαιοχρωμοκυτωμάτων.  
 Χ.Αγγέλη, Α.Μ.Νίξον, Χ.Παριανός, Γ.Βλέτσης, Χ.Τσερκέζης, Η.Περυσινάκης,  
 Ε.Τζιράκης, Γ.Ζωγράφος. Γ'Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α.  
 "Γ.Γεννηματάς" 30ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και  
 διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 9-12 Νοεμβρίου 2016
8. Αυτόματη αιμορραγία όγκου επινεφριδίου μιμούμενη οξεία κοιλία, παρουσίαση  
 περιστατικών και τρόπος αντιμετώπισης. Α.Νίξον, Χ.Αγγέλη,  
 Χ.Τσερκέζης, Π.Θεσσαλονικεύς, Χ.Παριανός, Γ.Βλέτσης, Γ.Ζωγράφος  
 Γ'Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 30ο Πανελλήνιο  
 Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 9-12 Νοεμβρίου  
 2016
9. Πλάγιος λεμφαδενικός καθαρισμός τραχήλου σε καρκίνο θυρεοειδούς αδένος. Διαφύλαξη  
 βασικών ανατολικών δομών. Α.Νίξον, Χ.Αγγέλη, Γ.Βλέτσης,  
 Χ.Παριανός, Α.Θανασά, Α.Διαμαντόπουλος, Χ.Μειδάνης, Η.Τσίπρας, Γ.Ζωγράφος  
 Γ'Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 30ο Πανελλήνιο  
 Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 9-12 Νοεμβρίου  
 2016
10. Τα όρια της λαπαροσκοπικής χειρουργικής στους ευμεγέθεις και κακοήθεις όγκους των  
 επινεφριδίων. Η εμπειρία μας από 536 επινεφριδιεκτομές. Χ.Αγγέλη,  
 Γ.Βλέτσης, Α.Νίξον, Χ.Παριανός, Χ.Τσερκέζης, Α.Αγγελούση, Γ.Ν.Ζωγράφος  
 Γ'Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 44ο Πανελλήνιο Συνέδριο  
 Ενδοκρινολογίας, μεταβολισμού και σακχαρώδη διαβήτη Αθήνα  
 26/29 Απριλίου 2017
11. Χειρουργική αντιμετώπιση φαιοχρωμοκυτωμάτων : εμπειρία από 67 περιπτώσεις.  
 Χ.Αγγέλη, Γ.Βλέτσης, Α.Νίξον, Χ.Παριανός, Χ.Τσερκέζης, Ι.Θεοχάρη,  
 Γ.Ν.Ζωγράφος Γ'Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς"  
 43ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα, 2017
12. Τεχνικές και προφυλάξεις για την ασφαλή τοποθέτηση κεντρικής φλεβικής γραμμής.  
 Α.Νίξον, Γ.Βλέτσης, Χ.Τσερκέζης, Χ.Παριανός, Ι.Θεοχάρη, Χ.Αγγέλη,  
 Γ.Ν.Ζωγράφος, Η.Τσίπρας Γ'Χειρουργική Κλινική  
 Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 43ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο  
 Αθήνα, 2017

13. Ενδείξεις αμφοτερόπλευρης επινεφριδιοεκτομής. Παρουσίαση των περιστατικών της κλινικής μας. Χ.Τσερκέζης, Α.Μ.Νίζον, Χ. Παριανός, Χ.Αγγέλη, Α.Αγγελούση, Γ.Ν.Ζωγράφος

Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 45ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδη διαβήτη Θεσσαλονίκη, 9-12 Μαΐου 2018

14. Χειρουργική αντιμετώπιση των αμφοτερόπλευρων όγκων των επινεφριδίων. Η εμπειρία της κλινικής μας. Χ. Παριανός, Χ.Αγγέλη, Α.Θανασιά, Α.Μ.Νίζον, Χ.Τσερκέζης, Σ.Ροδίτης, Γ.Ν.Ζωγράφος Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 44ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα, 2018

15. Ολική θυρεοειδεκτομή : μια ασφαλής επέμβαση με μικρά ποσοστά επιπλοκών. Η εμπειρία της κλινικής μας την τελευταία εξαετία. Α.Θανασιά, Χ. Παριανός, Χ.Αγγέλη, Α.Μ.Νίζον, Γ.Ντόκος, Η.Τσίπρας, Γ.Ν.Ζωγράφος Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 44ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα, 2018

16. Αυτόματη αιμορραγία όγκου επινεφριδίου. Μια σπάνια κλινική οντότητα. Παρουσίαση 10 περιπτώσεων από σειρά 671 επινεφριδιοεκτομών. Χ. Παριανός, Α.Νίζον, Κ.Κουτσουβάς, Χ.Αγγέλη, Α.Κουτσιαρά, Χ.Τσερκέζης, Γ.Ντόκος, Γ.Ν.Ζωγράφος Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018

17. Υπολειμματική νόσος και υποτροπή στα φαιοχρωμοκυττώματα. Εμπειρία από σειρά 83 φαιοχρωμοκυττωμάτων. Χ.Αγγέλη, Α.Κουτσιαρά, Χ.Παριανός, Χ.Τσερκέζης, Γ.Ντόκος, Α.Κορωνάιος, κ.Πατέας, Γ.Ν.Ζωγράφος Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018

18. Δεδομένα και αποτελέσματα χειρουργικής του θυρεοειδούς σε κλινικές εκπαίδευσης ειδικευομένων. Α.Θανασιά, Α.Νίζον, Χ.Παριανός, Χ.Αγγέλη, Χ.Τσερκέζης, Σ.Ροδίτης, Η.Τσίπρας, Γ.Ν.Ζωγράφος Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018

19. Λαπαροσκοπική αφαίρεση γαστρικού δακτυλίου και επιμήκης γαστρεκτομή (sleeve) σε μια επέμβαση. Α. Θανασά , Χ.Παριανός, Χ. Αγγέλη , Χ.Τσερκέζης, Γ.Ντόκος, Π.Τόμπολας, Η.Μάργαρης. Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018
20. Προφυλακτική χολοκυστεκτομή κατά τη διάρκεια πραγματοποίησης λαπαροσκοπικής επιμήκους γαστρεκτομής σε ασθενείς με χολολιθίαση. Σ.Ροδίτης , Χ.Παριανός, Χ.Τσερκέζης, Χ.Αγγέλη, Α. Θανασά , Α.Νίξον, Σ.Προβατάς, Η.Μάργαρης. Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Γ.Γεννηματάς" 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018
21. Χειρουργική αντιμετώπιση κακοήθων όγκων επινεφριδίων. Η εμπειρία μας από μια σειρά 705 επεμβάσεων για νεοπλάσματα επινεφριδίων. Χ.Αγγέλη, Γ.Ντόκος, Χ.Παριανός, Σ.Ροδίτης, Α.Θανασά, Κ.Πατέας, Γ.Ν.Ζωγράφος. 46ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδη διαβήτη. Αθήνα 17-20 Απριλίου 2019
22. Επανεπεμβάσεις στο φαιοχρωμοκύττωμα: υποτροπή ή υπολειμματική νόσος. Εμπειρία από σειρά 705 επινεφριδιεκτομών. Χ.Αγγέλη, Α.Κουτσιαρά , Χ.Παριανός, Σ. Ροδίτης, Γ.Ντόκος, Α.Κατσέλη, Γ.Ν.Ζωγράφος. 46ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδη διαβήτη. Αθήνα 17-20 Απριλίου 2019
23. Η ακρίβεια των τεχνικών απεικόνισης των επινεφριδίων στην πρόβλεψη του ιστολογικού μεγέθους του όγκου μετά την επινεφριδιεκτομή. Ι.Αντωνοπούλου, Κ.Αλεξανδράκη, Χ.Αγγέλη, Δ.Κολομόδη, Χ.Παριανός, Γ.Ντόκος, Κ.Πατέας, Γ.Καλτσάς, Γ.Ν.Ζωγράφος. 46ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδη διαβήτη. Αθήνα 17-20 Απριλίου 2019
24. Καρκίνος θυρεοειδούς : ολική θυρεοειδεκτομή και λεμφαδενικός καθαρισμός τραχήλου. παρουσίαση σειράς ασθενών τελευταίας 7 ετίας. Γ.Ντόκος, Χ.Παριανός, Σ.Ροδίτης, Α.Θανασά, Χ.Αγγέλη, Η.Τσίπρας, Γ.Ν.Ζωγράφος 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων Αθήνα 22-24 Νοεμβρίου 2019
25. Special Issues concerning the surgical treatment of pheochromocytomas Experience from a series of 96 cases of pheochromocytoma. S.Roditis, G.Ntokos,

C.Parianos, A.Koutsiara, K.Koutsouvas, E.Tzirakis, C.Aggeli, G.N.Zografos  
16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων Αθήνα 22-  
24 Νοεμβρίου 2019

26. Τα όρια της λαπαροσκοπικής χειρουργικής στους ευμεγέθεις και κακοήθεις όγκους των επινεφριδίων. Η εμπειρία μας από 754 επινεφριδιεκτομές. Σ.Ροδίτης, Χ.Παριανός, Γ.Ντόκος, Π.Τομπολας, Κ.Πατέας, Χ.Αγγέλη, Α.Κατσέλη, Γ.Ν.Ζωγράφος  
16ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων Αθήνα 22-24 Νοεμβρίου 2019
27. Η έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) σε φυσιολογικό ιστό καθώς και σε όγκους του φλοιού των επινεφριδίων: διερεύνηση του πιθανού ρόλου των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. Χ.Παριανός, Γ.Κυριακόπουλος, N.Nasiri-Ansari, Α.Καραπαναγιώτη, Α.Αγγελούση, Χ.Αγγέλη, Γ.Ν.Ζωγράφος, Θ.Χορευτάκη, Θ.Κουνάδη, Η.Σ.Randeva, Γ.Καλτσάς, Α.Γ.Παπαβασιλείου, Ε.Κασσή.  
47ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη 18-22 Οκτωβρίου 2020
28. Ολική θυρεοειδεκτομή για την θεραπεία επώδυνης υποξείας θυρεοειδίτιδας ανθεκτικής στην φαρμακευτική θεραπεία. Case report Χ.Παριανός, Κ.Πατέας, Χ.Αγγέλη, Η.Τσίπρας  
47ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη 18-22 Οκτωβρίου 2020
29. Ανοικτή και λαπαροσκοπική αντιμετώπιση των μονήρων επινεφριδιακών μεταστάσεων. Χ.Αγγέλη, Σ.Ροδίτης, Χ.Παριανός, Γ.Ντόκος, Π.Τόμπολας, Α.Κατσέλη, Α.Κουτσιαρά, Α.Θανασά, Ε.Τζιράκης, Γ.Ν.Ζωγράφος.  
32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021
30. Νευροενδοκρινείς όγκοι παγκρέατος. Εμπειρία 20 ετών μιας κλινικής. Χ.Αγγέλη, Χ.Παριανός, Α.Θανασά, Α.Κουτσιαρά, Π.Τόμπολας, Κ.Πατέας, Δ.Στρατηγάκος, Η.Τσίπρας, Γ.Ν.Ζωγράφος.  
32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021
31. Συμπαγείς ψευδοθηλώδεις όγκοι παγκρέατος. Παρουσίαση 4 περιπτώσεων της κλινικής μας την τελευταία 4ετία. Χ.Αγγέλη, Α.Κουτσιαρά, Χ.Παριανός, Α.Θανασά, Γ.Ντόκος, Κ.Πατέας, Η.Τσίπρας, Γ.Ν.Ζωγράφος.  
32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021

32. Διαφορές στον τρόπο αντιμετώπισης της οξείας σκωληκοειδίτιδας με βάση την ηλικία των ασθενών. Εμπειρία μιας κλινικής. Χ.Αγγέλη, Χ.Παριανός, Π.Τόμπολας, Κ.Πατέας, Α.Κατσέλη, Κ.Κουτσουβάς, Κ.Λεβεντάκος, Δ.Στρατηγάκος, Η.Τσίπρας, Γ.Ν.Ζωγράφος. 32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021
33. Ολική θυρεοειδεκτομή για την θεραπεία υποξείας θυρεοειδίτιδας ανθεκτικής στην φαρμακευτική θεραπεία. Χ.Παριανός, Α.Θανασά, Χ.Αγγέλη, Ν.Πουλιανίτης, Η.Τσίπρας 32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021
34. Προγνωστικοί δείκτες στο φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. Παρουσίαση 49 περιπτώσεων από μια σειρά 814 επινεφριδικτομών. Χ.Παριανός, Χ.Αγγέλη, Ν.Nasiri-Ansari, Α.Αγγελούση, Γ.Κυριακόπουλος, Ε.Κασσή, Θ.Χορευτάκη, Γ.Ν.Ζωγράφος 32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021
35. Η έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) σε φυσιολογικό ιστό καθώς και σε όγκους του φλοιού των επινεφριδίων: διερεύνηση του πιθανού ρόλου των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. Χ.Παριανός, Γ.Κυριακόπουλος, Ν.Nasiri-Ansari, Α.Καραπαναγιώτη, Α.Αγγελούση, Χ.Αγγέλη, Γ.Ν.Ζωγράφος, Θ.Χορευτάκη, Θ.Κουνάδη, Η.S.Randeva, Γ.Καλτσάς, Α.Γ.Παπαβασιλείου, Ε.Κασσή. 32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 2021
36. Φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα : συσχέτιση ιστολογικών δεικτών με στάδιο νόσου και επιβίωση ασθενών-20ετής εμπειρία κέντρου αναφοράς. Χ.Παριανός, Γ.Κυριακόπουλος, Ι.Δ.Κωστάκης, Ν.Nasiri-Ansari, Χ.Αγγέλη, Α.Δημητριάδη, Α.Αγγελούση, Α.Γ. Παπαβασιλείου, Γ.Καλτσάς, Γ.Ν.Ζωγράφος, Ε.Κασσή. 48ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη Αθήνα 2021
37. Χαρακτηριστικά της χειρουργικής προσέγγισης στα φαιοχρωμοκυττώματα. Εμπειρία από σειρά 106 φαιοχρωμοκυττωμάτων. Κ.Πατέας, Χ.Αγγέλη, Α.Α.Θανασά, Δ.Στρατηγάκος, Κ.Κουτσουβάς, Κ.Λεβεντάκος, Γ.Ντόκος, Χ.Παριανός, Γ.Ν.Ζωγράφος 48ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη Αθήνα 2021
38. Ακαθόριστοι κυτταρολογικοί τύποι III και IV της ταξινόμησης κατά Bethesda και καρκίνος θυρεοειδούς αδένος. Δεδομένα και αποτελέσματα από την σειρά της κλινικής μας την τελευταία εξαετία. Χ.Αγγέλη, Α.Α.Θανασά, Κ.Πατέας, Α.Κουτσιάρη, Δ.Στρατηγάκος, Χ.Παριανός, Β.Θεοχαρίδης, Κ.Πουλή, Γ.Ν.Ζωγράφος 48ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη Αθήνα 2021

39. Ογκολογικά αποτελέσματα της επινεφριδιεκτομής για μονήρεις μεταστάσεις επινεφριδίων από άλλη πρωτοπαθή εστία. Χ.Αγγέλη, Κ.Πατέας, Β.Θεοχαρίδης, Α.Κουτσιαρά, Χ.Παριανός, Α.Θανασά, Α.Κατσέλη, Γ.Ν.Ζωγράφος 17ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων. Θεσσαλονίκη 19-21 Νοεμβρίου 2021
40. Ακαθόριστοι κυτταρολογικοί τύποι III και IV της ταξινόμησης κατά Bethesda και καρκίνος θυρεοειδούς αδένου. Δεδομένα και αποτελέσματα από την σειρά της κλινικής μας την τελευταία εξαετία. Κ.Πατέας, Α.Θανασά, Α.Κουτσιαρά, Χ.Αγγέλη, Γ.Ντόκος, Δ.Στρατηγάκος, Χ.Παριανός, Γ.Ν.Ζωγράφος. 17ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων. Θεσσαλονίκη 19-21 Νοεμβρίου 2021
41. Υποτροπή και υπολειμματική νόσος στα φαιοχρωμοκυττώματα. Εμπειρία από σειρά 136 φαιοχρωμοκυττωμάτων. Κ.Πατέας, Α.Κουτσιαρά, Χ.Αγγέλη, Χ.Παριανός, Α.Θανασά, Κ.Κουτσουβάς, Β.Θεοχαρίδης, Γ.Ν.Ζωγράφος. 17ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων. Θεσσαλονίκη 19-21 Νοεμβρίου 2021

- Συμμετοχή σε σεμινάρια

1. 7ο μετεκπαιδευτικό σεμινάριο βασικής λαπαροσκοπικής χειρουργικής 25-26 Σεπτεμβρίου 2015 ερευνητικό πειραματικό κέντρο ELPEN
2. 4ο μετεκπαιδευτικό σεμινάριο Προηγμένης ανοικτής χειρουργικής 12-13 Μαΐου 2017 ερευνητικό πειραματικό κέντρο ELPEN
3. Colorectal Laparoscopic Surgical Skills (C.L.A.S.S) Courses 2018 10-11 May
4. Colorectal Laparoscopic Surgical Skills (C.L.A.S.S) Courses 2018 28-29 June

- Παρουσιάσεις με μορφή Power Point

1. Οξεία κοιλία (Μαθήματα της Γ'Χειρουργικής Κλινικής 2015)
2. Νοσογόνος παχυσαρκία (Μαθήματα της Γ'Χειρουργικής Κλινικής 2016)
3. Όγκοι επινεφριδίων (Μαθήματα της Γ'Χειρουργικής Κλινικής 2017)
4. Καρκίνος παγκρέατος (Μαθήματα της Γ'Χειρουργικής Κλινικής 2018)
5. Καρκίνος παγκρέατος (Μαθήματα της Γ'Χειρουργικής Κλινικής 2019)

- Παρουσίαση σε ογκολογικό συμβούλιο

27.3.18 : παρουσίαση με powerpoint δύο ενδιαφερόντων περιστατικών στο ογκολογικό συμβούλιο των όγκων επινεφριδίων (Tumor Board Adrenals) στο Λαϊκό Νοσοκομείο

- Παρουσίαση σε συνέδριο ως εισηγητής



Διαδραστική παρουσίαση περιπτώσεων. Σύνθετη κλινική αντιμετώπιση σε ασθενή με ενδοκρινική νεοπλασία. 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018

- Παρακολούθηση Συνεδρίων
  1. Πολυθεματική επιστημονική εκδήλωση της επιστημονικής εταιρείας Καλαβρυτινών ιατρών "Ο Μελάμπους" Καλάβρυτα , 30 Νοεμβρίου 2014
  2. 14ο Πανελλήνιο συνέδριο χειρουργικής ενδοκρινών αδένων 30 Οκτωβρίου -1 Νοεμβρίου 2015
  3. 42ο πανελλήνιο ιατρικό συνέδριο 11-14 Μαΐου 2016
  4. Πολυθεματική επιστημονική εκδήλωση της επιστημονικής εταιρείας "Ο Μελάμπους" 3-5 Ιουνίου 2016
  5. Ημερίδα " Βασικές χειρουργικές ικανότητες" 14.1.2017 Γ.Ν.Α "Γ.Γεννηματάς"
  6. 26th International Congress of the European Association for Endoscopic Surgery (E.A.E.S) 30 May-1June Excel London , UK
  7. 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής και διεθνές χειρουργικό Φόρουμ. Αθήνα 21-24 Νοεμβρίου 2018 (CME Credits:12 )

- Διπλώματα ξένων γλωσσών

Αγγλικά (επίπεδο C2 Proficiency)  
Γερμανικά (επίπεδο B1- Grundstufe)

Διδακτορική Διατριβή  
Χρήστου Παριανού

**Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΩΝ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΕ ΕΠΙΝΕΦΡΙΔΙΑΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ**

29.9.16 κατάθεση Πρωτοκόλλου διδακτορικής διατριβής με τίτλο : " Η συσχέτιση ιστοπαθολογικών κλινικών και ορμονολογικών παραγόντων σε επινεφριδιακά νεοπλάσματα "

4/2018 κατάθεση έκθεσης 1ης προόδου της διδακτορικής διατριβής

5/2019 κατάθεση έκθεσης 2ης προόδου της διδακτορικής διατριβής

Ημερομηνία ορισμού της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής: 29/11/2016

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.Ν.5343/1932, άρθρο 202.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιολογικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά το χρονικό διάστημα 2017-2022. Από τη θέση αυτή θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που συνέβαλαν στη διεξαγωγή της παρούσας διατριβής.

Την Καθηγήτρια Ενδοκρινολογίας- Βιοχημείας κα. Ευανθία Κασσή, υπό τη συνεχή επίβλεψη και καθοδήγηση της οποίας διεξήχθη η παρούσα διατριβή. Η επιστημονική της συνεισφορά είχε βαρύνουσα σημασία στην οριστική διαμόρφωση των παρακάτω σελίδων.

Την επιμελήτρια Ά Γενικής Χειρουργικής κα. Χρυσάνθη Αγγέλη η βοήθεια της οποίας ήταν παραπάνω από καθοριστική τόσο στην εκπόνηση αυτής της διατριβής όσο και στην εκπαίδευση μου κατά την ειδικότητά μου στη Γενική Χειρουργική στο ΓΝΑ Γ.Γεννηματάς. Πρόκειται για ένα πραγματικά ξεχωριστό άτομο τόσο σε επιστημονικό όσο και σε ανθρώπινο επίπεδο

Τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής , τον καθηγητή Γρηγόριο Καλτσά και τον αναπληρωτή καθηγητή Δημήτριο Δημητρούλη, για την άψογη συνεργασία μας. Τα μέλη της επταμελούς επιτροπής κα.Νταλαμάγκα Μαριάννα, κο. Χατζηγεωργίου Αντώνιο, κα.Αγγελούση Άννα, κα.Κουλοχέρη Σταυρούλα ενώπιον των οποίων θα γίνει η παρουσίαση της διατριβής.

Τη βιολόγο κα.Narjes Nasiri - Ansari οι συμβουλές και παρεμβάσεις της οποίας στη διεξαγωγή των πειραμάτων συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

Τους δασκάλους μου χειρουργούς κο Γεώργιο Ζωγράφο, Ηλία Μάργαρη και Ηρακλή Τσίπρα που με εφοδίασαν με τις αρχές αυτής της απαιτητικής ειδικότητας. Ιδιαίτερη αναφορά σε αυτό το σημείο είναι απαραίτητο να γίνει στον κο.Γεώργιο Ζωγράφο που μου προσέφερε εξ ολοκλήρου το υλικό από τις επινεφριδεκτομές για τη διεξαγωγή των πειραμάτων και με δίδαξε τη χειρουργική των ενδοκρινών αδένων.

Τέλος , τους γονείς μου και την αδερφή μου που με στηρίζουν διαχρονικά σε κάθε επιλογή μου.

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ACC: φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα

ACTH : αδρενοκορτικοτρόπος ορμόνη

DHAES: Θεϊκή δεϋδροεπιανδροστενδιόνη

ENSAT : European Network for the Study Of Adrenal Tumors.

ER: οιστρογονικοί υποδοχείς

EGFR: epidermal growth factor receptor, υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα GPR30: membrane-bound-G-protein-coupled-ER-30

OS : ον ERall survival , συνολική επιβίωση

Ki 67 : δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού

PAC : συγκέντρωση της αλδοστερόνης του πλάσματος

PRA: δραστηριότητα ρενίνης στο πλάσμα

MEN: πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία

Ro: ριζική εκτομή όγκου

R1: παραμονή μικροσκοπικής νόσου μετά την εκτομή του όγκου

R2: παραμονή μακροσκοπικά ορατής νόσου μετά την εκτομή του όγκου

PASS score: Pheochromocytoma of the Adrenal Gland Scored Scale

SDHx: γονίδια σουκινικής δεϋδρογενάσης

GAPP score: Grading System for Adrenal Pheochromocytoma and Paraganglioma

PPV: positive predictive value - θετική προγνωστική αξία

NPV: negative predictive value -αρνητική προγνωστική αξία

WHO: παγκόσμιος οργανισμός υγείας

LA: αριστερή επινεφριδιεκτομή

RA: δεξιά επινεφριδιεκτομή

NED: no evidence of disease - χωρίς ένδειξη νόσου

LTFU: lost to follow up - χάθηκε στην παρακολούθηση

nd: non detected -δεν ανιχνεύτηκε

IHC markers: ανοσοϊστοχημικοί δείκτες

NFA: μη λειτουργικά αδενώματα

CPA: αδενώματα που παράγουν κορτιζόλη

NAT: φυσιολογικός επινεφριδιακός ιστός γειτονικός στα αδενώματα

DEPC: Diethyl-PyroCarbonate

PCR - Polym ERase Chain Reaction : Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

dNTPs: τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια

qPCR: ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

RT-PCR: Reverse Transcription PCR -Αλυσιδωτή αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής

AMY:αντίστροφη μεταγραφάση

RNase inhibitor: αναστολέας ριβονουκλεάσης

HRP: Horse Radish Peroxidase -υπεροξειδάση μαύρου ρεπανιού

DAB: διαμινοβενζιδίνη

διάλυμα PBS: ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων

BSA: αλβουμίνη ορού βοός

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....</b>	<b>27</b>
<b>2. SUMMARY .....</b>	<b>31</b>
<b>3. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>3.1 Ιστορική αναδρομή .....</b>	<b>35</b>
<b>3.2 Ανατομία επινεφριδίων</b>	
<b>3.2.1 Γενικά .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2.2 Αγγείωση επινεφριδίων .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2.3 Λεμφική αποχέτευση .....</b>	<b>42</b>
<b>3.2.4 Νεύρωση .....</b>	<b>42</b>
<b>3.3 Όγκοι επινεφριδίων</b>	
<b>3.3.1 Τυχαιώματα επινεφριδίων .....</b>	<b>43</b>
<b>3.3.2 Όγκοι φλοιού επινεφριδίων</b>	
<b>3.3.2.1 Αδενώματα φλοιού επινεφριδίων .....</b>	<b>44</b>

3.3.2.1.1	Σύνδρομο Cushing .....	45
3.3.2.1.2	Υποκλινικό σύνδρομο Cushing .....	48
3.3.2.1.3	Πρωτοπαθής υπεραλδοστερονισμός .....	48
3.3.2.1.4	Σύνδρομα αρρενοποίησης και θηλεοποίησης.....	52
3.3.2.2	Φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα .....	52
3.3.3	Μεταστάσεις  επινεφριδίων .....	60
3.4	Χειρουργική αντιμετώπιση νεοπλασμάτων επινεφριδίων.....	63

#### 4.ΕΙΔΙΚΟΣ ΜΕΡΟΣ

4.1	Προγνωστικοί δείκτες στο φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα	
4.1.1	Εισαγωγή .....	71
4.1.2	Σκοπός και σχεδιασμός έρευνας .....	72
4.1.3	Υλικά και μέθοδοι .....	72
4.1.4	Ιστολογική εκτίμηση και ανοσοϊστοχημεία .....	82
4.1.5	Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων .....	83
4.1.5.1	Δημογραφικά και κλινικά δεδομένα .....	84
4.1.5.2	Μακροσκοπικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων .....	85
4.1.5.2	Ανοσοϊστοχημικοί δείκτες στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα .....	86
4.1.5.4	Κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά και συσχέτιση αυτών με τη συνολική επιβίωση .....	88
4.2	Φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα και οιστρογονικοί υποδοχείς	



4.2.1	Εισαγωγή-σκοπός.....	92
4.2.2	Απομόνωση ολικού RNA .....	95
4.2.3	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).....	97
4.2.4	Αλυσιδωτή αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής RT-PCR	101
4.2.5	Περιγραφή της μεθόδου RT-PCR .....	102
4.2.6	Ανοσοϊστοχημεία	
4.2.6.1	Υλικά-μέθοδοι .....	104
4.2.6.2	Στάδια μεθόδου.....	104
4.2.7	Αποτελέσματα .....	106
4.2.8	Συμπέρασμα .....	107
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	117
5.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	132
6.	ΕΓΓΡΑΦΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ .....	161
7.	ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ.....	162
8.	ΠΟΣΤΕΡ .....	164
9.	ΒΡΑΒΕΙΟ ΠΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗΣ.....	165
10.	ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ .....	166



## 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η συντριπτική πλειοψηφία των όγκων των επινεφριδίων είναι καλοήθεις (αδενώματα), με το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα (Adrenocortical Carcinoma ACC) να είναι μια σπάνια και εξαιρετικά κακοήθης νόσος με πολύ χαμηλά ποσοστά 5ετούς επιβίωσης. Η ακριβής διάγνωση της νόσου είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς η πρόγνωση, η παρακολούθηση και οι θεραπευτικοί χειρισμοί για την αντιμετώπιση ενός κακοήθους όγκου διαφέρουν πολύ από τα αντίστοιχα ενός καλοήθους όγκου. Το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα μπορεί να εμφανιστεί με συμπτώματα από την υπερέκκριση ορμονών, με κοιλιακό ή οσφυϊκό άλγος λόγω παρουσίας ευμεγέθους μάζας ή και τυχαία σε απεικονιστικό έλεγχο στα πλαίσια διερεύνησης άλλης νόσου. Η ιστολογική έκθεση του παρασκευάσματος είναι ιδιαίτερα σημαντική για την διάγνωση, παρόλα αυτά οι ανοσοϊστοχημικοί και μοριακοί δείκτες φαίνεται να υπερέχουν όλο και περισσότερο στον ακριβή καθορισμό της παρουσίας ή όχι κακοήθειας. Οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν την πρόγνωση των ασθενών εξακολουθούν να είναι το στάδιο της νόσου τη στιγμή της διάγνωσης και η ριζικότητα της χειρουργικής επέμβασης. Προηγούμενες μελέτες έχουν αναδείξει πως τα οιστρογόνα παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση και την εξέλιξη αρκετών νεοπλασμάτων ενδοκρινούς προέλευσης όπως οι όγκοι φλοιού των επινεφριδίων. Τα οιστρογόνα ασκούν γενομικές δράσεις μέσω των πυρηνικών οιστρογονικών υποδοχέων τύπου α και β (ERα and ERβ), ενώ η μη γενομική τους δράση επάγεται από τη συνδεδεμένη με τους οιστρογονικούς υποδοχείς G πρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης (GPR30). Ο

στόχος της μελέτης μας ήταν να διερευνήσουμε όλους αυτούς τους παράγοντες-κριτήρια που παίζουν ρόλο στον διαχωρισμό ενός κακοήθους από έναν καλοήθη όγκο του φλοιού των επινεφριδίων, δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στους ανοσοϊστοχημικούς δείκτες, αξιολογώντας παράλληλα και την έκφραση των ERs σε νεοπλάσματα του φλοιού των επινεφριδίων και τη συσχέτιση τους με τη βιολογική συμπεριφορά των όγκων αυτών. Στην μελέτη συμπεριλάβαμε 45 ασθενείς με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα οι οποίοι υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση. Αποτελούσαν μέρος μιας σειράς 758 επινεφριδιεκτομών οι οποίες πραγματοποιήθηκαν για διάφορους όγκους επινεφριδίων. Η πλειοψηφία των ασθενών ήταν γυναίκες (1.37:1) με μέση ηλικία τα 55.5 έτη (19-77). Μελετήθηκε το μέγεθος και το βάρος των όγκων, τα απεικονιστικά τους χαρακτηριστικά, η ταξινόμηση τους με βάση το Weiss score και το σύστημα ENSAT. Στους όγκους του φλοιού των επινεφριδίων που είχαν σκορ 3 και πάνω μετρήθηκε η έκφραση των ακόλουθων ανοσοϊστοχημικών δεικτών : Inhibin-a, Melan A, Calretinin , Ki67 , Synaptophysin, Chromogranin A, p53 , Vimentin , CKAE1/AE3 και σε κάποιες περιπτώσεις SF-1. Η παρακολούθηση (follow up) ήταν εφικτή στους 38 από τους 45 ασθενείς με μέση διάρκεια παρακολούθησης τους 18 μήνες (1-96). Το στάδιο κατά ENSAT ήταν I, II, III και IV σε ποσοστά 6.6%, 62.3%, 26.7% και 4.4 % αντίστοιχα. Επτά ασθενείς (15.5%) χάθηκαν στο follow up, 12 ασθενείς (31.58%) είχαν επιβίωση  $\leq$  1 έτος και 17 ασθενείς (44.74%) παρουσίασαν επιβίωση  $\leq$  5 έτη. Η επιβίωση ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους ασθενείς σταδίου I-II σε σχέση με τους ασθενείς σταδίου III-IV (62 +/- 8.7 μήνες vs 31+/-12.1 μήνες, p=0.02). Το μέγεθος των όγκων ήταν 9 εκατοστά (3.5-22 εκ) και το μέσο βάρος 127 γραμμάρια (18-1400 γρ). Τόσο το βάρος όσο και το μέγεθος ήταν μεγαλύτερα στους όγκους των δεξιών επινεφριδίων με στατιστικώς σημαντική διαφορά ( p=0.008 και p=0.07 αντίστοιχα). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του βάρους του όγκου (p=0.011, r=0.418), της διαμέτρου του όγκου

( $p=0.005$ ,  $r=0.449$ ) , του βάρους ( $p=0.04$ ,  $r=0.039$ ) και του Weiss score. Βρέθηκε επίσης συσχέτιση μεταξύ του Weiss score και της έκφρασης της Vimentin και της synaptophysin ( $p=0.02$  και  $p=0.07$  αντίστοιχα ). Σε μονοπαραγοντική ανάλυση (univariable analysis) , διάμετρος όγκου  $>10$  εκ ( $p=0.07$ ), μάζα όγκου  $> 500$  κυβικά εκατοστά ( $p=0.0003$ ), βάρος όγκου  $> 300$  γραμμάρια ( $p=0.03$ ), Ki-67 index  $> 4\%$  ( $p=0.04$ ) , Weiss score  $>5$  ( $p=0.001$ ) παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με χαμηλότερη συνολική επιβίωση (ον ERall survival OS). Αντίθετα, η έκφραση της Melan A και η χαμηλή έκφραση του Ki-67 παρουσίασαν ανεξάρτητη συσχέτιση με μεγαλύτερη συνολική επιβίωση (OS time  $p=0.01$ ). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών και τα στάδια κατά ENSAT (I, II vs III, IV).

Στο δεύτερο σκέλος της μελέτης μας πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA από φρέσκο κατεψυγμένο ιστό σε : 8 μη λειτουργικά αδενώματα (NFA) , 8 αδενώματα που παράγουν κορτιζόλη (CPA), και στον γειτονικό τους φυσιολογικό επινεφριδιακό ιστό (NAT) και 8 φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACC). Η έκφραση των υποδοχέων ER $\alpha$ , ER $\beta$ , GPR30 and EGFR εκτιμήθηκε με την μέθοδο της ποσοτικής αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (qPCR). Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημεία για την εκτίμηση των επιπέδων των EGFR και GPR30. Η έκφραση της GPR30 ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα μη λειτουργικά αδενώματα και τους φυσιολογικούς ιστούς ( $p<0.05$ ) και οριακά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα λειτουργικά αδενώματα. Επιπρόσθετα η έκφραση των ER $\alpha$  και EGFR ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα αδενώματα ( $p<0.1$ ). Ο ανοσοϊστοχημικός έλεγχος ανέδειξε σημαντικά υψηλότερη έκφραση του EGFR στα καρκινώματα σε σχέση με τους καλοήθεις όγκους του φλοιού. Οριακά θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε στην έκφραση των EGFR και GPER-30 στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα.

Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η πρώτη που αξιολογεί την έκφραση της μεμβρανικής πρωτεΐνης GPR30 σε φλοιοεπινεφριδιακά νεοπλάσματα σε ανθρώπους. Τα αρχικά μας αποτελέσματα επισημαίνουν τον πιθανό ρόλο των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. Μελλοντικές μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων είναι απαραίτητες ώστε να καθοριστεί ο ακριβής ρόλος των ERs και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.

## 2. SUMMARY

Adrenocortical carcinoma (ACC) is a rare but very aggressive endocrine malignancy with poor 5-year survival rates. An accurate diagnosis is critical, because the prognosis, follow up and therapeutic strategy for ACC are very different to those for a benign tumor. Histopathology is important for diagnosis, while immunohistochemistry markers and gene profiling of the resected tumor may sometimes be superior to current staging systems to determine prognosis. In the current study, we aimed to present the 20-year experience at a tertiary Hospital in patients with ACCs and correlate the immunohistochemical characteristics of ACCs with the clinical – morphological data and the survival of patients. A total of 45 patients with adrenocortical carcinomas operated on in a single center were included in the study. They were part of a series of 758 cases of adrenalectomies performed for various tumors of the adrenal gland. The size and weight of the tumors were examined as also the Weiss score system and the ENSAT classification. Expression of the following markers was examined in the tumors with Weiss score > 3: Inhibin-a, Melan A, Calretinin, Ki67, Synaptophysin, Chromogranin A, p53, Vimentin, CKAE1/AE3 and in some cases SF-1 has also been performed. Of a total of 45 patients who were diagnosed with ACC the majority were female (1.37:1) with a median age of 55.5 years (IQR 19-77) at diagnosis. Clinical follow up was available for 38 out of 45 patients with a median follow up period of 18 months (IQR 1-96). ENSAT stage I, II, III and IV was

6.6%, 62.3%, 26.7% and 4.4%, respectively. Seven patients (15.5%) lost to follow up, 12 patients (31.58%) had  $\leq 1$ -year survival and 17 (44.74%) demonstrated  $\leq 5$ -year survival. Survival was significantly higher in patients with stage I–II as compared to patients with stage III–IV ACC ( $62 \pm 8.7$  months vs  $31 \pm 12.1$  months,  $p=0.02$ ). The median size of ACCs was 9cm (IQR 3.5-22cm) and the median weight 127gr (IQR 18-1400gr). Both volume and weight were higher in right-sided lesions reaching statistical significance ( $p=0.008$  and  $p=0.07$  respectively). A significant correlation between tumor volume ( $p=0.011$ ,  $r=0.418$ ), diameter ( $p=0.005$ ,  $r=0.449$ ), weight ( $p=0.04$ ,  $r=0.339$ ) and Weiss score was observed. The expression of Ki67 was positively correlated with Weiss score ( $p=0.25$ ,  $r=0.383$ ). There was also an association between Weiss score and the expression of vimentin and synaptophysin ( $p=0.02$  and  $p=0.07$  respectively). A larger tumor diameter  $>10$  cm ( $p=0.007$ ), tumor volume  $>500$  cm<sup>3</sup> ( $p=0.0003$ ), tumor weight  $>300$  gr ( $p=0.03$ ), Ki-67 index  $>4\%$  ( $p=0.04$ ), Weiss score  $>5$  ( $p=0.001$ ), Helsinki score  $>8$  ( $p=0.06$ ) were significantly associated with lower overall survival (OS) in the univariable analysis. On the contrary, the expression of Melan A and lower expression of Ki-67 ( $\leq 4$ ) were independently associated with longer OS time ( $p=0.01$ ). No statistical significance was observed regarding the correlation between IHC markers and ENSAT staging (I/II vs III/IV).

The vast majority of adrenal tumors are benign (adenomas) while adrenocortical carcinomas (ACC) are rare with a very poor prognosis. Previous studies indicated that estrogens play an important role in the etiology and progression of several ER $\alpha$  endocrine-related neoplasms such as adrenocortical tumors. Estrogen exerts genomic activities through the nuclear estrogen-receptor (ER) subtypes  $\alpha$  and  $\beta$ , while the non-genomic effects are mediated by membrane-bound-G-protein-coupled-ER-30 (GPR30). Though estrogens induce cancer cell proliferation through ER $\alpha$ , ER $\beta$  appears to exert a protective effect. Recently, in vitro



experiments showed that treatment with ER- $\alpha$  antagonist as well as GPER30 agonist reduces proliferation in H295R cells. However, data on the expression profile of ERs in normal and neoplastic human adrenocortical neoplasms is limited.

Additionally, epidermal growth factor receptor (EGFR) has been shown to be highly expressed in ACC but not in adrenocortical adenomas. The expression of EGFR has been negatively correlated with expression of ER in breast cancer, while there is no data available regarding the correlation between ERs and EGFR expression in adrenocortical neoplasms. In our study we aimed to investigate the expression profile of ERs and EGFRs in adrenocortical neoplasms and correlate it with their biological behavior.

Total RNA was extracted from fresh frozen tissue of: eight non functional adenomas (NFA), eight cortisol producing adenomas (CPA), their adjacent normal adrenal tissues (NAC) AND eight adrenocortical carcinoma (ACC). The expression of ER $\alpha$ , ER $\beta$ , GPR30 and EGFR genes was evaluated by qPCR. The Immunohistochemistry(IHC) was performed to evaluate the EGFR and GPR30 protein levels. The expression of both ER $\alpha$  and GPR30 were higher in the CPA as compared to its paired NAC group ( $p < 0.05$ ) while there was no significant difference in ER $\beta$  and EGFR mRNA levels between CPA, NFA and their adjacent normal tissues. The expression of GPR30 was significantly higher in ACC as compared to either NFA or NAC groups ( $p < 0.05$ ) and marginally higher in ACC as compared to CPA. Moreover, the expression of ER $\alpha$  and EGFR was higher reaching its significance in ACC as compared to either CPA or NFA ( $p < 0.1$ ). IHC revealed that the expression of EGFR was significantly higher in ACC compared to the adrenal benign tumors. A marginal positive correlation between EGFR and GPER-30 expression was observed in ACC.

To our knowledge this is the first study to evaluate the expression of membrane-bound GPR30 in human adrenocortical neoplasms. Our preliminary data suggest a possible role of GPR30 and EGFR in adrenocortical malignancy. However, further studies with larger numbers of samples are required to draw conclusions about the exact role of ERs and EGFR on adrenal tumorigenesis.

Adrenocortical carcinoma is a rare and very aggressive endocrine malignancy. The most important clinical factors that determine long-term prognosis of ACC are the disease stage at diagnosis and the completeness of surgical resection. The presented data indicate that immunohistochemical assessment may also provide useful information, contributing in the diagnosis and treatment of ACCs.

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 3.1 Ιστορική αναδρομή

Τα επινεφρίδια είναι δύο όργανα μικρά σε μέγεθος τα οποία όμως έχουν μεγάλη ιστορία. Στα μέσα του 16ου αιώνα ο Bartolomeo Eustachius δημοσίευσε τα πρώτα σχέδια ανατομίας των επινεφριδίων. [1] Το 1586 οι Francesco Piccolomineus και Baunin τα ονόμασαν αδένες που βρίσκονται άνωθεν του νεφρού (suprarenal glands). [2] Σχεδόν δυομιση αιώνες αργότερα ο Cuvier περιέγραψε τον ανατομικό διαχωρισμό του κάθε αδένα σε φλοιό και μυελό.[3] Ο Addison το 1855 περιέγραψε τα συμπτώματα της επινεφριδιακής ανεπάρκειας , η οποία πήρε και το όνομα του ( νόσος Addison) , και πυροδότησε έντονο ενδιαφέρον για τη λειτουργία αυτών των αδένων.[4, 5, 6] Την ίδια περίοδο ο Brown-Séguard απέδειξε με πειράματα σε ζώα την ζωτική σημασία της παρουσίας των επινεφριδίων. [7] Το 1912 ο Harvey Cushing περιέγραψε την παθολογική εικόνα της υπερκορτιζολαιμίας ενώ το 1955 ο Conn ανέλυσε τον πρωτοπαθή υπεραλδοστερονισμό.[8-13] Οι πρώτες επιτυχείς εκτομές για φαιοχρωμοκύττωμα πραγματοποιήθηκαν το 1926 από τον Charles Mayo στην Αμερική και από τον Cesar Roux στην Ελβετία. [14-16]

## 3.2 Ανατομία επινεφριδίων

### 3.2.1 Γενικά

Τα επινεφρίδια (δεξιό και αριστερό) είναι μικροί ενδοκρινείς αδένες που εντοπίζονται στον άνω πόλο του σύστοιχου νεφρού, στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο και περιβάλλονται από περινεφρικό λίπος και την περιτονία του Gerota, ενώ διαχωρίζονται από το νεφρό με ένα στρώμα συνδετικού ιστού. Έχουν βαθύ πορτοκαλί χρώμα και οξύαιχμα όρια τα οποία τα καθιστούν διακριτά σε σχέση με το περινεφρικό λίπος.[17]

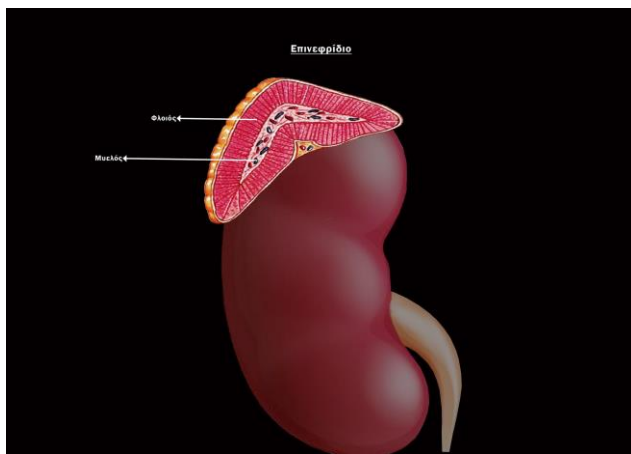
Αποτελούνται από δύο συγκεντρικές στιβάδες οι οποίες μπορεί να θεωρηθούν ως δύο ξεχωριστά όργανα, τόσο μορφολογικά όσο και λειτουργικά, τα οποία ενώνονται κατά τη διάρκεια της εμβρυολογικής ανάπτυξης. Αυτές είναι μια εξωτερική στιβάδα ο φλοιός και μια εσωτερική στιβάδα ο μυελός των επινεφριδίων. [17]

Στον φλοιό διακρίνουμε τρεις ζώνες:

1. την σπειροειδή ζώνη που απαντάται αμέσως κάτωθεν της κάψας του επινεφριδίου και από την οποία παράγεται η αλδοστερόνη

2. την στηλιδωτή ζώνη που είναι η παχύτερη ενδιάμεση ζώνη και από την οποία παράγεται η κορτιζόλη
3. την δικτυωτή ζώνη η οποία περιβάλλει τον μυελό του επινεφριδίου και από την οποία παράγονται τα ανδρογόνα ανδροστενδιόνη και δεϋδροεπιανδροστερόνη.

Ο μυελός των επινεφριδίων αντιπροσωπεύει το 10% του συνολικού του βάρους και παράγει τις κατεχολαμίνες (αδρεναλίνη, νοραδρεναλίνη).



Εικόνα 1 : στιβάδες επινεφριδίου

Κάθε φυσιολογικό επινεφρίδιο έχει βάρος 4 με 8 γραμμάρια, διαστάσεις περίπου 4x3x1 εκατοστά και είναι μεγαλύτερο, τόσο δεξιά όσο και αριστερά, στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες. Το σχήμα του διαφέρει ανάλογα με την εντόπιση. Το αριστερό επινεφρίδιο είναι περισσότερο αποπλατυσμένο σε σχέση με το δεξιό και έρχεται σε επαφή με τον άνω πόλο του αριστερού νεφρού σε μεγάλη έκταση. Είναι ημισελήνοειδές και μπορεί να εκτείνεται μέχρι την πύλη του αριστερού νεφρού. Το δεξιό επινεφρίδιο έχει σχήμα τριγωνικό ή πυραμοειδές και περιορίζεται ψηλά στον άνω πόλο του δεξιού νεφρού.[18]

Τα επινεφρίδια είναι στέρεα συνδεδεμένα με την περιτονία, η οποία με τη σειρά της συμφύεται με το κοιλιακό τοίχωμα και το διάφραγμα. Η στήριξη των

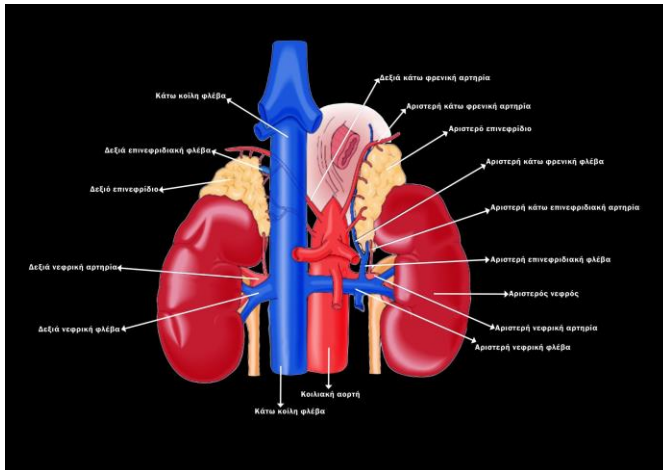
επινεφριδίων και η σταθερότητα της θέσης τους εξασφαλίζεται με την παρουσία της περιτονίας, του συνδετικού ιστού και ενός πλούσιου δικτύου αρτηριών και φλεβών.

Η γνώση της εμβρυολογικής προέλευσης των επινεφριδίων είναι σημαντική για τους χειρουργούς καθώς όγκοι των επινεφριδίων μπορεί να αναπτυχθούν σε έκτοπες θέσεις. Ο φλοιός των επινεφριδίων προέρχεται από το σπλαχνικό μεσόδερμα. Κύτταρα έκτοπου φλοιοεπινεφριδιακού ιστού μπορεί να ανευρεθούν γύρω από το επινεφρίδιο, τον νεφρό, την ωθήκη ή τον όρχι, με πολύ μικρή όμως πιθανότητα ο ιστός αυτός να είναι ορμονικά ενεργός. Ο μυελός των επινεφριδίων προέρχεται από το εξώδερμα, συγκεκριμένα από τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας του θώρακος τα οποία μεταναστεύουν κατά μήκος της αορτής σχηματίζοντας τα αρχέγονα συμπαθητικά γάγγλια, τα οποία με τη σειρά τους δημιουργούν τα κοιλιακά, μεσεντερικά και νεφρικά συμπαθητικά γάγγλια. Τα κύτταρα του μυελού των επινεφριδίων μεταναστεύουν κατά μήκος της επινεφριδιακής φλέβας μέχρι να συναντήσουν τα κύτταρα του φλοιού. Φαιοχρωμοκυττώματα μπορεί να δημιουργηθούν σε οποιοδήποτε σημείο κατά μήκος της ανωτέρω γραμμής μετανάστευσης, ειδικά στα παρααορτικά παραγάγγλια στο ύψος του νεφρού, στο όργανο του Zuckerkandl το οποίο εντοπίζεται αριστερά του διχασμού της αορτής κοντά στην έκφυση της κάτω μεσεντερίου αρτηρίας, στον τράχηλο, στο μεσοθωράκιο, στην ουροδόχο κύστη ή στην περιοχή του κόλπου. [19]

### 3.2.2 Αγγείωση επινεφριδίων

Τα επινεφρίδια όπως και ο θυρεοειδής αδένας χαρακτηρίζονται από εξαιρετικά πλούσια αγγείωση και παρουσιάζουν την μεγαλύτερη αρτηριακή παροχή ανά γραμμάριο ιστού σε σχέση με τα υπόλοιπα όργανα του σώματος. Περίπου 60 αρτηριακοί κλάδοι τροφοδοτούν το κάθε επινεφρίδιο διαπερνώντας την κάψα του. Η κύρια αρτηριακή παροχή επιτυγχάνεται κατά κανόνα από τρεις μεγάλους αρτηριακούς κλάδους οι οποίοι είναι κατά σειρά οι ακόλουθοι:

1. Η άνω επινεφριδιακή αρτηρία η οποία είναι κλάδος της κάτω φρενικής αρτηρίας. Μια ομάδα 6 έως 8 αρτηριακών κλάδων εκφύονται ξεχωριστά από την κάτω φρενική αρτηρία, μπορεί να έχουν όλοι το ίδιο μέγεθος ή κάποιος κλάδος να επικρατεί και να είναι μεγαλύτερος σε σχέση με τους άλλους.
2. Η μέση επινεφριδιακή αρτηρία η οποία εκφύεται από την αορτή κεντρικότερα της έκφυσης της νεφρικής αρτηρίας. Μπορεί να είναι μονήρης, πολλαπλή ή και να μην υπάρχει. Τροφοδοτεί μόνο το περινεφρικό λίπος.
3. Η κάτω επινεφριδιακή αρτηρία η οποία μπορεί να είναι μία ή περισσότερες και να εκφύονται από την νεφρική αρτηρία, από την επικουρική νεφρική αρτηρία ή την άνω πολική αρτηρία. Μικροί κλάδοι εκφύονται και από την άνω ουρητηρική αρτηρία.



Εικόνα 2 : αγγείωση επινεφριδίου

Οι ανωτέρω αρτηριακοί κλάδοι διακλαδίζονται με ποικίλους τρόπους προτού εισέλθουν στην κάψα του επινεφριδίου. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην βιβλιογραφία αναφέρονται αρκετές ανατομικές παραλλαγές. Σε ποσοστό 61% απουσιάζει η μέση ή η κάτω επινεφριδιακή αρτηρία, ενώ σε ποσοστό 5% η αρτηριακή παροχή του επινεφριδίου εξασφαλίζεται από μια και μόνο αρτηρία. Η γνώση της πιθανής παρουσίας ανατομικών παραλλαγών είναι ιδιαίτερα χρήσιμη κατά την εκτέλεση των λαπαροσκοπικών επινεφριδιεκτομών.

Το φλεβικό σύστημα των επινεφριδίων δεν συνοδεύει το αρτηριακό του σύστημα όπως συμβαίνει σε άλλα όργανα του σώματος και είναι κατά κανόνα πιο απλό. Συνήθως μια μοναδική φλέβα αποχετεύει το επινεφρίδιο και εξέρχεται από το κέντρο αυτού. [20]

Η αριστερή επινεφριδιακή φλέβα πορεύεται στην πρόσθια επιφάνεια του αριστερού επινεφριδίου με κατεύθυνση προς τα κάτω, συνδέεται με την αριστερή κάτω φρενική φλέβα και εκβάλλει στην αριστερή νεφρική φλέβα.



Η δεξιά επινεφριδιακή φλέβα είναι ιδιαίτερα βραχεία αφού είναι μικρότερη ή ίση με 0,5 εκατοστά. Η δεξιά επινεφριδιακή φλέβα πορεύεται πλάγια και εκβάλλει στην οπίσθια επιφάνεια της κάτω κοίλης φλέβας. Συνήθως δεν δέχεται άλλους κλάδους. Στις δεξιές λαπαροσκοπικές επινεφριδιεκτομές η απολίνωση της δεξιάς επινεφριδιακής φλέβας προηγείται της απολίνωσης των αρτηριακών κλάδων καθώς είναι εύκολος ο τραυματισμός της στην είσοδο της κάτω κοίλης φλέβας.

Όπως στις αρτηρίες έτσι και στις φλέβες των επινεφριδίων συχνά παρατηρούνται παραλλαγές και αυτή είναι μια γνώση ιδιαίτερα χρήσιμη για τους χειρουργούς που εκτελούν λαπαροσκοπικές επινεφριδιεκτομές.[21, 22]

Ανατομικές παραλλαγές της αριστερής επινεφριδιακής φλέβας:

- Κύρια αριστερή επινεφριδιακή φλέβα με δυο κλάδους
- Κύρια αριστερή επινεφριδιακή φλέβα που εκβάλλει στην αριστερή νεφρική φλέβα και επικουρικός κλάδος που εκβάλλει στην αριστερή κάτω φρενική
- Κύρια αριστερή επινεφριδιακή φλέβα και αριστερή κάτω φρενική φλέβα εκβάλλουν χωριστά στην αριστερή νεφρική φλέβα

Ανατομικές παραλλαγές της δεξιάς επινεφριδιακής φλέβας:

- Κύρια δεξιά επινεφριδιακή φλέβα που εκβάλλει στην δεξιά ηπατική φλέβα
- Κύρια δεξιά επινεφριδιακή φλέβα που εκβάλλει στην δεξιά ηπατική φλέβα και πολλοί μικροί φλεβικοί κλάδοι που εκβάλλουν στην κάτω κοίλη φλέβα
- Κύρια δεξιά επινεφριδιακή φλέβα που εκβάλλει στην κάτω κοίλη φλέβα και επικουρική δεξιά επινεφριδιακή φλέβα που εκβάλλει στην δεξιά ηπατική φλέβα.[23, 24]

### 3.2.3 Λεμφική αποχέτευση

Σύμφωνα με την επικρατέστερη θεωρία τα λεμφαγγεία των επινεφριδίων σχηματίζουν ένα πλούσιο υποκάψιο πλέγμα το οποίο πορεύεται παράλληλα με τις αρτηρίες και ένα μυελικό πλέγμα το οποίο πορεύεται παράλληλα με τις φλέβες.

Η αποχέτευση της λέμφου πραγματοποιείται προς τους λεμφαδένες της πύλης του νεφρού, τους παραορτικούς λεμφαδένες και τους λεμφαδένες του οπίσθιου μεσοθωρακίου άνωθεν του διαφράγματος. Λεμφαγγεία από τον άνω πόλο του δεξιού λοβού αποχετεύουν λέμφο προς το ήπαρ. Η πλειοψηφία των υποκάψιων λεμφαγγείων εκβάλλουν απευθείας στον θωρακικό πόρο χωρίς την μεσολάβηση λεμφαδένων. [25]

### 3.2.4 Νεύρωση

Ο φλοιός των επινεφριδίων παρουσιάζει μόνο αγγειοκινητική νεύρωση. Ο μυελός των επινεφριδίων δέχεται ίνες από τα σπλαχνικά νεύρα, την οσφυϊκή συμπαθητική αλυσσο, το κοιλιακό γάγγλιο και το κοιλιακό πλέγμα. Πρόκειται για προγαγγλιακές ίνες οι οποίες καταλήγουν στα κύτταρα χρωμαφίνης του μυελού. Οι νευρικές αυτές ίνες διεγείρουν τα κύτταρα του μυελού τα οποία εκκρίνουν την επινεφρίνη και την νορεπινεφρίνη.[26]

### 3.3 Όγκοι επινεφριδίων

#### 3.3.1.Τυχαιώματα επινεφριδίων

Κάθε επινεφριδιακή μάζα μεγαλύτερη από 1 εκατοστό σε διάμετρο, η οποία ανακαλύπτεται τυχαία κατά τη διάρκεια απεικονιστικού ελέγχου, ο οποίος διενεργείται με οποιαδήποτε άλλη ένδειξη εκτός από εκτίμηση επινεφριδιακής νόσου ή σταδιοποίηση ασθενών με καρκίνο ονομάζεται επινεφριδιακό τυχαίωμα.[27] Η οντότητα αυτή αποτελεί το αποτέλεσμα της τεχνολογικής εξέλιξης στον τομέα της απεικόνισης, όπως είναι η αξονική τομογραφία (CT) και η μαγνητική τομογραφία (MRI) και η ευρεία χρήση τους στην κλινική πράξη. [28] Τα επινεφριδιακά τυχαιώματα ανευρίσκονται σε ποσοστό 0.4-4.4 % σε απεικονιστικό έλεγχο με CT.[29] Η συχνότητα τους είναι μεγαλύτερη σε ηλικιωμένους ασθενείς (10%). Μια επινεφριδιακή μάζα μπορεί να είναι μη λειτουργικό αδένωμα (80%), υποκλινικό Cushing(5%), φαιοχρωμοκύτωμα (5%), αλδοστερόνωμα (5%), φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα (<5%), μετάσταση (2.5%). Αμφοτερόπλευρες μάζες επινεφριδίων ανευρίσκονται σε ποσοστό 10-15%.[30, 31] Εμφανίζονται σε μεταστατική νόσο, σε συγγενή υπερπλασία επινεφριδίων, σε αδενώματα φλοιού, λεμφώματα, λοίμωξη, αιμορραγία, N.Cushing, φαιοχρωμοκύτωμα, πρωτοπαθή υπεραλδοστερονισμό και σε μακροοζώδη υπερπλασία επινεφριδίων. Σε μερικούς ασθενείς με αμφοτερόπλευρες μάζες επινεφριδίων, αποδεικνύεται ότι από την μια πλευρά υπάρχει ένα μη λειτουργικό αδένωμα του φλοιού του επινεφριδίου ενώ από την άλλη πλευρά μια μάζα που εκκρίνει ορμόνες. Σπανιότερα μπορεί να υπάρχει επινεφριδιακή ανεπάρκεια σε ασθενείς με αμφοτερόπλευρες μάζες επινεφριδίων. [32, 33]

Δεν έχουν όλα τα τυχαιώματα ένδειξη αντιμετώπισης. Μετά από προσεκτική

κλινική, βιοχημική και απεικονιστική εκτίμηση γίνεται επιλογή των ασθενών που χρήζουν χειρουργικής αντιμετώπισης. Η ένδειξη για χειρουργική αντιμετώπιση και το είδος της επέμβασης θα εξαρτηθεί από το μέγεθος του όγκου , την παρουσία ή όχι ορμονικής υπερέκκρισης και την πιθανότητα παρουσίας κακοήθειας.[34] Οι ορμονικά ενεργοί όγκοι υποκλινικοί ή με κλινικά συμπτώματα έχουν ένδειξη χειρουργικής παρέμβασης ανεξάρτητα από το μέγεθός τους , ενώ δεν ισχύει το ίδιο για τους μη λειτουργικούς όγκους. Η ένδειξη για χειρουργική επέμβαση στους μη λειτουργικούς όγκους καθορίζεται από το μέγεθος του όγκου και από στοιχεία της απεικόνισης ενδεικτικά κακοήθειας.[35, 36] Όγκοι μικρότεροι από 3 εκατοστά συνήθως παρακολουθούνται. Σε περίπτωση αύξησης του μεγέθους τους σε νέα απεικόνιση τίθεται η ένδειξη της χειρουργικής εξαίρεσης.[37] Όγκοι μεταξύ 3 και 5 εκατοστών έχουν σχετική ένδειξη καθώς υπάρχει μικρή πιθανότητα εμφάνισης κακοήθειας , ενώ όγκοι μεγαλύτεροι των 5 εκατοστών χρήζουν ιστολογικής εξέτασης καθώς η πιθανότητα κακοήθειας αυξάνεται δραματικά με την αύξηση του μεγέθους. [38]

### 3.3.2 Όγκοι φλοιού επινεφριδίων

#### 3.3.2.1 Αδενώματα φλοιού επινεφριδίων

Τα αδενώματα του φλοιού των επινεφριδίων είναι καλοήθη νεοπλάσματα τα οποία είναι δυνατόν να εκκρίνουν ορμόνες ανεξάρτητα από την έκκριση της κορτικοτροπίνης (ACTH) ή το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Συχνά δημιουργούν συμπτώματα από την υπερέκκριση ορμονών , με δημιουργία συνδρόμου Cushing , πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού ή πιο σπάνια

σύνδρομο αρρενοποίησης ή θηλεοποίησης.[39] Μεγάλος αριθμός αδενωμάτων ανακαλύπτονται τυχαία σε απεικονιστικό έλεγχο που διενεργείται για άλλη αιτία.

### 3.3.2.1 Σύνδρομο Cushing

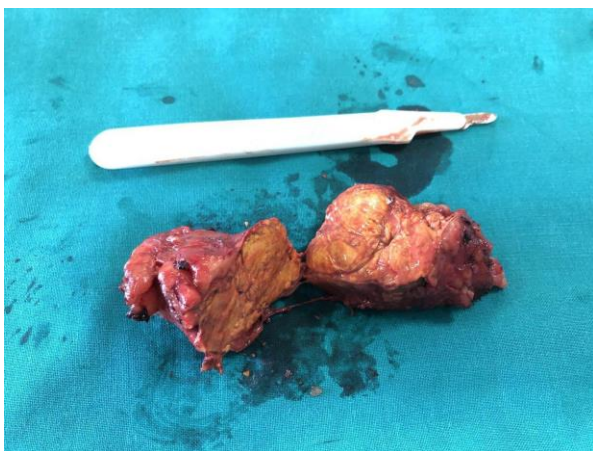
Η υπερέκκριση κορτιζόλης αποτελεί την πιο συχνή ορμονική διαταραχή που παρατηρείται στους ασθενείς με αδένωμα επινεφριδίου. Θεωρείται ότι αυτό οφείλεται σε μια αυτόνομη έκκριση κορτιζόλης από το αδένωμα, ανεξάρτητη από την έκκριση ACTH.[40] Παρόλα αυτά σε ένα ποσοστό ασθενών και κυρίως σε αυτούς που έχουν μέτρια έκκριση κορτιζόλης, η τελευταία ρυθμίζεται από ανώμαλη έκφραση και ενεργοποίηση των υποδοχέων της πρωτεΐνης G (G-protein coupled receptors, GPCRs) που είναι διαφορετικοί από τους υποδοχείς της ACTH στα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων.[41] Το 10% περίπου των ασθενών με σύνδρομο Cushing έχουν αδένωμα επινεφριδίου ενώ πολύ μικρό ποσοστό έχουν φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα.[42] Η πρωτοπαθής υπερπλασία των επινεφριδίων αποτελεί ακόμα πιο σπάνια αιτία συνδρόμου Cushing και περιλαμβάνει την μικροζώδη δυσπλασία και την ανεξάρτητη από την ACTH μακροζώδη υπερπλασία.[43] Τα συχνότερα αίτια του συνδρόμου Cushing είναι όγκοι υπόφυσης που εκκρινουν ACTH (65-70%) καθώς και όγκοι σε διάφορα όργανα με έκτοπη έκκριση ACTH (10-15%).[44] Ο βαθμός της υπερκορτιζολαιμίας και οι κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου φαίνεται να είναι πιο ήπιες σε ασθενείς μεγαλύτερους των 50 ετών. [45]

Τα αδενώματα των επινεφριδίων που προκαλούν σύνδρομο Cushing παράγουν αποτελεσματικά κορτιζόλη. Καθώς καταστέλλεται η ACTH οι συγκεντρώσεις της θεικής δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA S) στο πλάσμα και στα ούρα είναι συνήθως χαμηλή σε σχέση με την αντιστοιχη συγκέντρωση της κορτιζόλης ή

ακόμα και φυσιολογική. [46] Παρόλα αυτά κάποιες φορές τα αδενώματα παράγουν μεγάλες ποσότητες ανδρογόνων λόγω της αυξημένης δράσης της 17, 20-λυάσης του CYP17 ( P450c17, 17-alpha-hydroxylase).[47] Τα επίπεδα mRNA των CYP21A2 (P450c21, 21-hydroxylase), CYP17 και CYP11A1( P450sc, cholesterol side-chain cleavage enzyme, cholesterol desmolase) είναι φυσιολογικά στα αδενώματα που παράγουν κορτιζόλη και και 60-80% φυσιολογικά στα καρκινώματα. [48] Τα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα είναι αναποτελεσματικά στην παραγωγή κορτιζόλης. Η ικανότητα τους στο να μετατρέπουν την χοληστερόλη σε κορτιζόλη είναι χαμηλή αλλά η μάζα των κυττάρων είναι μεγάλη οπότε η παραγωγή των πρόδρομων ουσιών της κορτιζόλης είναι δυσανάλογα μεγάλη ( DHEAS πλάσματος και ούρων και 17-KS ούρων ). Το ίδιο ισχύει στα καρκινώματα και για τις πρόδρομες μορφές των ανδρογόνων και της αλδοστερόνης. [49]

Σε ασθενείς με σύνδρομο Cushing παρατηρείται ένας μεγάλος αριθμός κλινικών σημείων και συμπτωμάτων. Η παχυσαρκία αποτελεί το πιο σταθερό χαρακτηριστικό και συγκεκριμένα η κεντρική κατανομή αυτής γύρω από το πρόσωπο (με το πανσεληνοειδές προσωπίο) τον κορμό , τον τράχηλο και την κοιλιά. Οι ασθενείς μπορεί να εμφανίζουν αυξημένες ποσότητες λίπους στις υπερκλείδιες χώρες και στην πλάτη (buffalo hump).[50] Το δέρμα γίνεται ευθρυπτο ενώ εμφανίζονται ραβδώσεις συχνά με κυανέρυθρο χρώμα. Άλλα χαρακτηριστικά είναι μυϊκή αδυναμία, κόπωση, οστεοπενία, οστεοπόρωση και τηλαγγειεκτασίες.[51] Αρρενοποίηση από αυξημένη έκκριση ανδρογόνων μπορεί να παρατηρηθεί στις γυναίκες αλλά είναι πιο συχνή στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα.[52] Η αυξημένη έκκριση επινεφριδιακών ανδρογόνων προκαλεί αμηνόρροια και αγωνία στις γυναίκες και μειωμένη λίμπιντο, τριχόπτωση και ατροφία όρχεων στους άνδρες. [53]

Ιδιαίτερα σημαντικό σε έναν ασθενή με σύνδρομο Cushing είναι να καθοριστεί αν η υπερέκκριση κορτιζόλης εξαρτάται από την έκκριση ACTH ή είναι ανεξάρτητη και προέρχεται από πρωτοπαθή αλλοίωση του φλοιού των επινεφριδίων. Τα βασικά διαγνωστικά τεστ περιλαμβάνουν μέτρηση ελεύθερης κορτιζόλης ούρων 24ώρου και τεστ καταστολής με δεξαμεθαζόνη κατά τη διάρκεια της νύχτας.[54] Τα επίπεδα της ελεύθερης κορτιζόλης των ούρων αυξάνονται στο 90% των ασθενών με σύνδρομο Cushing. Μπορεί να υπάρχουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε λήψη φαρμάκων, σε σοβαρή παχυσαρκία, κατάθλιψη, σοβαρά νοσήματα, όπως επίσης και ψευδώς αρνητικά σε μέτριου βαθμού υπερκορτιζολισμού λόγω της διακύμανσης των τιμών της κορτιζόλης κατά τη διάρκεια της ημέρας. [55] Η δεξαμεθαζόνη είναι ένα ισχυρό γλυκοκορτικοειδές το οποίο καταστέλλει την έκκριση κορτικοστεροειδών από τα επινεφρίδια σε ένα υγιές άτομο όχι όμως στους ασθενείς με σύνδρομο Cushing.[56] Επιπρόσθετα η μέτρηση ACTH πλάσματος είναι μειωμένη στους ασθενείς με επινεφριδιακή έκκριση κορτιζόλης (<5pg/mL). [57] Μετά την βιοχημική επιβεβαίωση του συνδρόμου, η απεικόνιση με αξονική τομογραφία κοιλίας είναι απαραίτητη ώστε να εντοπιστεί αν είναι δυνατόν το επινεφρίδιο που πάσχει.



επινεφριδίου που προκαλεί σύνδρομο Cushing

Εικόνα 3 : αδένωμα

### 3.3.2.1.2 Υποκλινικό σύνδρομο Cushing

Υποκλινικό σύνδρομο Cushing είναι η υποκλινική αυτονομία στην έκκριση γλυκοκορτικοειδών δηλαδή η αυτόνομη έκκριση γλυκοκορτικοειδών χωρίς την εμφάνιση συμπτωμάτων συνδρόμου Cushing και αποτελεί την πιο συχνή ορμονική διαταραχή στους ασθενείς με τυχαιώματα επινεφριδίων. [58] Παρόλο που οι ασθενείς αυτοί δεν έχουν την κλασική κλινική εικόνα του συνδρόμου Cushing μπορεί να εμφανίζουν ως συνέπεια της αυτόνομης έκκρισης κορτιζόλης ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα: υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, διαβήτης, αύξηση βάρους, οστεοπόρωση ή σημεία αθηροσκλήρωσης. [59] Οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν μη καταστολή της έκκρισης κορτιζόλης μετά χορήγηση δεξαμεθαζόνης, απώλεια της ημερήσιας διακύμανσης των τιμών της κορτιζόλης και χαμηλές τιμές ACTH στο πλάσμα. Οι τιμές της ελεύθερης κορτιζόλης των ούρων 24ωρου είναι αυξημένες στο 50% των ασθενών υποκλινικό Cushing και με μέτρια αύξηση των τιμών. Η επινεφριδεκτομή φαίνεται να έχει όφελος για τους ασθενείς αυτούς καθώς έχει παρατηρηθεί βελτίωση σε σημαντικό βαθμό σε παραμέτρους όπως υπέρταση, δυσλιπιδαιμία και παχυσαρκία. Άλλωστε ένα ποσοστό ασθενών με υποκλινικό Cushing εξελίσσεται σε σύνδρομο Cushing. [60]

### 3.3.2.1.3 Πρωτοπαθής υπεραλδοστερονισμός

Ο πρωτοπαθής υπεραλδοστερονισμός γνωστός ως σύνδρομο Conn, ευθύνεται για το 8-12% των υπέρτασικών ασθενών.[61] Η διάγνωση του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού είναι πιθανή σε ασθενείς με αιφνίδια έναρξη υπέρτασης, με υπέρταση που δεν ρυθμίζεται εύκολα καθώς και σε ασθενείς με υπέρταση που συνδυάζεται με υποκαλιαιμία. [62]Μεγάλο ποσοστό ασθενών έχουν φυσιολογικές



τιμές καλίου τη στιγμή της διάγνωσης. Τα συμπτώματα της νόσου είναι μη ειδικά και περιλαμβάνουν κεφαλαλγία λόγω υπέρτασης και συμπτώματα λόγω της υποκαλιαιμίας όπως μυϊκή αδυναμία, αίσθημα κόπωσης, κράμπες ενώ σε σοβαρή υποκαλιαιμία μπορεί να εμφανιστεί πολυουρία, πολυδιψία, νυκτουρία ακόμα και παράλυση.[63] Η παθολογική φυσιολογία του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού περιλαμβάνει την αυξημένη έκκριση αλδοστερόνης από το επινεφρίδιο η οποία οδηγεί σε αυξημένη κατακράτηση νατρίου και έκπτυξη του ενδοαγγειακού όγκου καθώς και σε καταστολή της έκκρισης ρενίνης από τους νεφρούς. [64] Η αλδοστερόνη προάγει επίσης την ανταλλαγή νατρίου με κάλιο και ιόντα υδρογόνου στα περιφερικά σωληνάκια το οποίο οδηγεί σε απώλεια καλίου και αλκάλωση.

Η βιοχημική διερεύνηση του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού περιλαμβάνει την μέτρηση της συγκέντρωσης της αλδοστερόνης πλάσματος (PAC) και της δραστικότητας της ρενίνης στο πλάσμα (PRA). Ο λόγος PAC/PRA μεγαλύτερος του 25-30 σε συνδυασμό με καταστολή του PRA ( $<0.2-0.5\text{ng/mL/hr}$ ) και με αύξηση του PAC ( $>15\text{ng/dL}$ ) είναι συμβατός με την παρουσία πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού.[65] Η διάγνωση επιβεβαιώνεται με το τεστ καταστολής με χορήγηση άλατος per os ή ενδοφλέβια. Το 30-50% του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού οφείλεται σε αδενώματα που εκκρίνουν αλδοστερόνη , γνωστά ως αλδοστερινώματα ή σύνδρομο Conn. Το 50-70% του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού οφείλεται στην αμφοτερόπλευρη υπερπλασία των επινεφριδίων ή ιδιοπαθής υπεραλδοστερονισμός [66]. Καρκίνωμα φλοιού που εκκρίνει αλδοστερόνη είναι πολύ σπάνιο και καταλαμβάνει  $<1\%$  των περιπτώσεων πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού. [67]

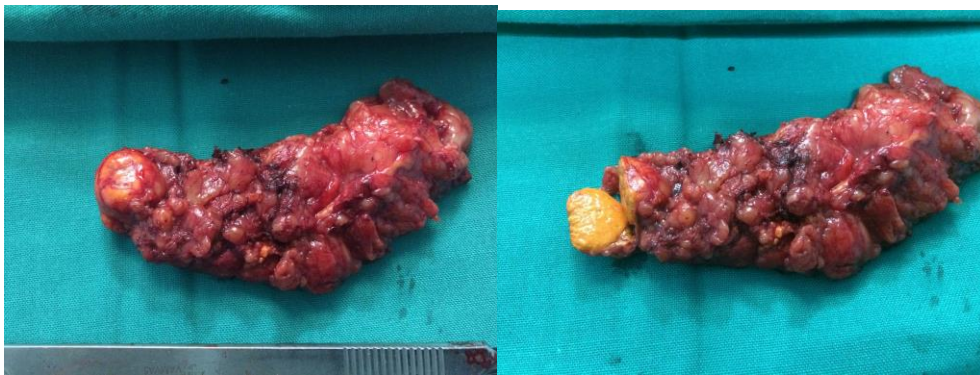
Ο οικογενής υπεραλδοστερονισμός τύπου I είναι σπάνιος και θεραπεύεται με χορήγηση γλυκοκορτικοειδών. Κληρονομείται με αυτόσωμο επικρατές γονίδιο.

Πρόκειται για ένα χιμαιρικό γονίδιο το οποίο προέρχεται από την μίξη δύο στοιχείων , την περιοχή που κωδικοποιεί το ένζυμο 11 α-υδροξυλάση ( CYP11B1) υπεύθυνο για την μετατροπή της δεοξυκορτιζόλης σε κορτιζόλη και περιοχή που κωδικοποιεί την σύνθεση αλδοστερόνης (CYP11B2). [68]Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η σύνθεση της αλδοστερόνης να εξαρτάται πρωτογενώς από την έκκριση ACTH και να καταστέλλεται με την χορήγηση γλυκοκορτικοειδών.[69] Ο οικογενής υπεραλδοστερονισμός τύπου II αφορά την ταυτόχρονη ανάπτυξη αλδοστερονώματος και ιδιοπαθούς υπεραλδοστερονισμού. [70]

Ο απεικονιστικός έλεγχος παίζει καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό του τύπου του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού. Τα αλδοστερονώματα είναι συνήθως μικρά σε μέγεθος και όχι μεγαλύτερα από 1 με 2 εκατοστά.[71] Η αξονική τομογραφία με λεπτές τομές είναι η εξέταση επιλογής. Η μαγνητική τομογραφία επίσης , δίνει πολύ καλές εικόνες με μεγαλύτερο όμως κόστος. Τα ευρήματα από τον απεικονιστικό έλεγχο στον πρωτοπαθή υπεραλδοστερονισμό μπορεί να περιλαμβάνουν ένα ετερόπλευρο μακροαδένωμα (>1 εκ) ή ένα μικροαδένωμα (<1 εκ) με φυσιολογικό το άλλο επινεφρίδιο , αμφοτερόπλευρα οζίδια ή αμφοτερόπλευρη πάχυνση επινεφριδίων όπως επίσης και φυσιολογικά επινεφρίδια. [72]

Ασθενείς με πρωτοπαθή υπεραλδοστερονισμό, ηλικίας μικρότερης των 40-50 ετών, με ετερόπλευρο μακροαδένωμα και φυσιολογικό το άλλο επινεφρίδιο μπορούν να υποβληθούν σε χειρουργική επέμβαση χωρίς επιπλέον έλεγχο. Για όλους τους άλλους ασθενείς απαιτείται λήψη αίματος από τις επινεφριδιακές φλέβες ώστε να γίνει η διαφορική διάγνωση του αλδοστερονώματος από την ιδιοπαθή υπερπλασία των επινεφριδίων.[73] Γίνεται μέτρηση αλδοστερόνης και κορτιζόλης στις επινεφριδιακές φλέβες αριστερά και δεξιά και στην κάτω κοίλη φλέβα.[74] Λόγος αλδοστερόνης/ κορτιζόλης μεγαλύτερος τουλάχιστον 4 φορές

από την μία πλευρά σε σχέση με την άλλη θεωρείται διαγνωστική για την ετερόπλευρη έκκριση αλδοστερόνης ( αλδοστερόνωμα ) και αποτελεί ένδειξη για εκτέλεση επινεφριδιεκτομής. Επέμβαση εκλογής θεωρείται η λαπαροσκοπική επινεφριδιεκτομή. [75] Η υπέρταση και η υποκαλιαιμία πρέπει να ελεγχθούν προεγχειρητικά. Η σπιρονολακτόνη , ανταγωνιστής της αλδοστερόνης , είναι αποτελεσματική στην προεγχειρητική ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Η επέμβαση θεραπεύει την υποκαλιαιμία στο 100%, ενώ την υπέρταση σε ένα ποσοστό 30-80% ενώ την βελτιώνει και στους υπόλοιπους.[76] Σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπεραλδοστερονισμό η θεραπεία είναι φαρμακευτική με στέρηση άλατος και χορήγηση καλίου. Η σπιρονολακτόνη είναι αποτελεσματική και εδώ στον έλεγχο της πίεσης και της υποκαλιαιμίας. Έχει όμως ανεπιθύμητες ενέργειες ανικανότητα , μειωμένη λίμπιντο και γυναικομαστία καθώς μπλοκάρει την σύνθεση της τεστοστερόνης και την δράση των ανδρογόνων.[77] Ένας νέος ανταγωνιστής της αλδοστερόνης, η επλερενόνη δεν συνδέεται με τους υποδοχείς των ανδρογόνων οπότε δεν έχει τις ανεπιθύμητες παρενέργειες της σπιρονολακτόνης. [78]



Εικόνα 4 :

Σ.Conn

#### 3.3.2.1.4 Σύνδρομο αρρενοποίησης και θηλεοποίησης

Η αυξημένη παραγωγή ανδρογόνων μπορεί να είναι συγγενής, στην συγγενή υπερπλασία των επινεφριδίων ή επίκτητη όπως σε σύνδρομο Cushing ή σε φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. [79] Η συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων περιλαμβάνει μια σειρά από διαταραχές που μεταβιβάζονται με αυτοσωματικά υπολειπόμενα γονίδια και ευθύνονται για την ελαττωματική σύνθεση της κορτιζόλης. [80] Αυτό το ελάττωμα στην σύνθεση της κορτιζόλης έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη έκκριση ACTH η οποία με την σειρά της οδηγεί σε υπερπλασία του φλοιού του επινεφριδίου και αυξημένη παραγωγή τόσο ανδρογόνων όσο και πρόδρομων μορφών αυτών. Η πιο συχνή διαταραχή είναι η ανεπάρκεια της 21 α-υδροξυλάσης, σε ποσοστό που φτάνει το 95%. [81] Διακρίνονται τρεις υπότυποι, ο κλασικός με συνοδό απώλεια άλατος, ο κλασικός χωρίς απώλεια άλατος και ο μη κλασικός. Οι δυο κλασικοί υπότυποι είναι πιο σοβαροί, εμφανίζονται νωρίς στην βρεφική και παιδική ηλικία με στοιχεία αρρενοποίησης και επινεφριδιακή ανεπάρκεια. Ο μη κλασικός υπότυπος είναι πιο ήπιος με μέτρια αυξημένες τιμές ανδρογόνων και χωρίς έλλειψη κορτιζόλης. Ο κλασικός υπότυπος με την απώλεια άλατος είναι ο πιο σοβαρός καθώς συνδυάζει ελάττωμα και στη έκκριση αλδοστερόνης. [82]

Περίσσεια έκκρισης ανδρογόνων από όγκο του φλοιού των επινεφριδίων οδηγεί σε ατροφία όρχεων στους άνδρες και υπερτρίχωση ακμή και διαταραχές στην έμμηνο ρύση στις γυναίκες. Οι γυναίκες μπορεί επίσης να εμφανίσουν κι άλλα ανδρικά χαρακτηριστικά όπως αλωπεκία ανδρογενετικού τύπου, αύξηση μεγέθους κλειτορίδας, αλλαγή της χροιάς της φωνής τους. Η βιοχημική επιβεβαίωση της διάγνωσης γίνεται με μέτρηση της DHEA, DHEAS, τεστοστερόνης και διυδροτεστοστερόνης. [83,84]

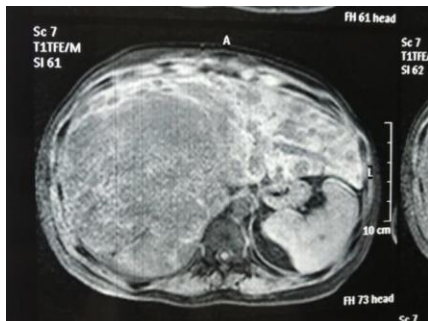
### 3.3.2.2 Φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα

Το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα (Adrenal Cortex Carcinoma ACC) είναι ένα νεόπλασμα κακής πρόγνωσης, το οποίο διαγιγνώσκεται σε 0.5 με 2 περιπτώσεις /1.000.000/έτος. [85] Είναι συχνότερο στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες (αναλογία 1.5/1) και παρουσιάζει δικόρυφη κατανομή με βάση την ηλικία, με συχνότερη εμφάνιση στην παιδική ηλικία και στην 4η με 5η δεκαετία της ζωής. Η πλειοψηφία των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων είναι σποραδικά ενώ κάποιες φορές αναπτύσσονται στα πλαίσια κάποιου κληρονομικού συνδρόμου όπως το σύνδρομο Li Fraumeni, το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann, η πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία (MEN) 1, η συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων, το σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης και οι μεταλλάξεις της Β-κατενίνης. [86] Το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα δίνει μεταστάσεις νωρίς στο ήπαρ, τους πνεύμονες και τα οστά και αυτό, όπως είναι αναμενόμενο, επιδεινώνει την πρόγνωση. [87] Εμφανίζεται σε ποσοστό 2-12% σε ασθενείς με τυχαία επινεφριδίων και φαίνεται από τις διάφορες σειρές πως η συχνότητα των τυχαίως ευρισκομένων φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων ολοένα και αυξάνεται. [88]

Σωματικές μεταλλάξεις του ογκοκατασταλτικού ογκογονιδίου TP53 παρατηρούνται στο 1/3 των ασθενών με ACC. Απώλεια αλληλίων (LOH at the TP53 locus) παρατηρείται σε ποσοστό >85% των ACC ενώ ο αυξητικός παράγοντας IGF-II υπερεκφράζεται στο 90% των όγκων αυτών. [89]

Ο λεπτομερής προεγχειρητικός ενδοκρινολογικός έλεγχος είναι απαραίτητος για να καθοριστεί η προέλευση του όγκου (γλυκοκορτικοειδή, ανδρογόνα, αλατοκορτικοειδή, κατεχολαμίνες) με βάση το diagnostic work-up for adrenal cancer του ENSAT (European Network for the Study Of Adrenal Tumors). [90]

Εξίσου σημαντική είναι και η ακριβής απεικόνιση του όγκου. Τόσο η αξονική τομογραφία κοιλίας όσο και η μαγνητική τομογραφία θεωρούνται εξίσου αποτελεσματικές. Με βάση τις μονάδες Hounsfield (<10) και το γρήγορο wash - out (σε 15 min) χαρακτηρίζεται η μάζα ως καλοήθης ή κακοήθης. Επίσης το F-18 /fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (FDG-PET) προσφέρει επιπλέον βοήθεια για τον διαχωρισμό των δυνητικά κακοήθων από τους καλοήθεις όγκους των επινεφριδίων όταν η απεικόνιση με αξονική ή μαγνητική τομογραφία είναι ασαφής. [91] Τα περισσότερα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα είναι ανομοιογενή με ανώμαλα όρια και ακανόνιστη πρόσληψη του σκιαγραφικού από τα συμπαγή στοιχεία του όγκου. Η ανίχνευση τοπικής διήθησης ή τοπικής επέκτασης του όγκου στην κάτω κοίλη φλέβα, σε λεμφαδένες ή απομακρυσμένες μεταστάσεις στο ήπαρ ή στους πνεύμονες είναι σημαντική για τον σχεδιασμό της χειρουργικής επέμβασης. [92]



Εικόνα 5: φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα δεξιού επινεφριδίου με ηπατικές μεταστάσεις



Εικόνα 6 : φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα δεξιού επινεφριδίου

Το στάδιο της νόσου και η ριζική εκτομή αυτού αποτελούν τους πιο σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες για τον καρκίνο του φλοιού των επινεφριδίων.[93] Η χειρουργική αντιμετώπιση αυτών των όγκων πρέπει να γίνεται σε κέντρα με εμπειρία στην χειρουργική των επινεφριδίων.[94] Η ανοιχτή επινεφριδεκτομή με διακοιλιακή προσπέλαση αποτελεί την επέμβαση εκλογής σε ασθενείς με τοπική (στάδιο I-II) και προχωρημένη νόσο (στάδιο III) όταν μπορεί να επιτευχθεί πλήρης εκτομή του όγκου. [95] Η εκτομή περιλαμβάνει πλήρη εκτομή του όγκου μαζί με το επινεφριδιο, εκτομή en-bloc των διηθημένων γειτονικών οργάνων και όταν είναι απαραίτητος επιπρόσθετος παραορτικός λεμφαδενικός καθαρισμός.[96] Η λαπαροσκοπική επινεφριδεκτομή είναι ασφαλής και αποτελεσματική σε επιλεγμένους ασθενείς με όγκους <8 εκατοστά χωρίς ένδειξη διήθησης και για όγκους που χαρακτηρίζονται ως δυνητικά κακοήθεις.[97] Αυτές οι επεμβάσεις γίνονται σε κέντρα με εμπειρία στην λαπαροσκοπική χειρουργική των επινεφριδίων και με τήρηση των κανόνων της χειρουργικής ογκολογίας. Το είδος της εκτομής (R0, R1, R2) είναι σημαντικός παράγοντας πρόγνωσης. Μόνο η πλήρης εκτομή (R0) εξασφαλίζει επιβίωση μεγάλης διάρκειας. [98] Ο ρόλος της ακτινοθεραπείας και της χημειοθεραπείας είναι περιορισμένος. Το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα φαίνεται πως είναι ανθεκτικό στην ακτινοθεραπεία, η οποία επιτυγχάνει μόνο μια προσωρινή μείωση του μεγέθους του όγκου. [99] Ο ρόλος της χημειοθεραπείας αποτελεί ακόμα θέμα συζήτησης. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι συνδυασμοί κυτταροτοξικών παραγόντων. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει μέχρι στιγμής τεκμηρίωση για την αποτελεσματικότητά τους.[100] Υψηλά ποσοστά απάντησης στην μιτοτάνη αναφέρονται εδώ και δεκαετίες. Η μιτοτάνη παρουσιάζει όμως ένα στενό θεραπευτικό παράθυρο και αρκετές παρενέργειες όπως ναυτία, έμετοι, διάρροιες και κατάθλιψη.[101] Επιπρόσθετα

η τοξική της δράση στο άλλο επινεφρίδιο οδηγεί συχνά σε επινεφριδιακή ανεπάρκεια και ανάγκη για αγωγή υποκατάστασης, [102]

Η παθολογοανατομική ταξινόμηση των όγκων του φλοιού των επινεφριδίων αποτελεί συχνά πρόκληση και απαιτεί μεγάλη εμπειρία καθώς δεν υπάρχει κανένας δείκτης που να μπορεί από μόνος του να καθορίσει την παρουσία κακοήθειας.

Υπάρχουν τρία παθολογοανατομικά συστήματα για τον καθορισμό της ύπαρξης κακοήθειας στους όγκους του φλοιού των επινεφριδίων. Τα κριτήρια Hough , τα κριτήρια Van Slooten και τα κριτήρια Weiss. [103]Τα κριτήρια Weiss είναι τα επικρατέστερα και έχουν καθιερωθεί τα τελευταία χρόνια για την διάγνωση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. [104]Τα κριτήρια Weiss εφαρμόζονται διεθνώς για την διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων όγκων του φλοιού των επινεφριδίων παρολαυτά δεν είναι επαρκή για όλες τις περιπτώσεις. Συχνά η διάκριση μεταξύ καλοήθειας και κακοήθειας στους όγκους του φλοιού των επινεφριδίων είναι ιδιαίτερα δύσκολη Σε όγκους με διάμετρο μέχρι 4 εκατοστά η πιθανότητα παρουσίας φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος είναι 2%, σε όγκους 4-6 εκατοστά είναι 6% και σε όγκους μεγαλύτερους από 6 εκατοστά είναι 25%. [105]

Τα κριτήρια Weiss είναι χρήσιμα για την διάγνωση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος αλλά πολλές φορές είναι ασαφή ειδικά όταν δεν υπάρχει τοπική διήθηση ιστών από τον όγκο ή απομακρυσμένες μεταστάσεις.[106] Στις περιπτώσεις αυτές χρησιμοποιούνται και άλλοι δείκτες όπως οι Ki67, p53, IGF2, SF1, υποδοχείς λεπτίνης, οιστρογονικοί υποδοχείς (ERα and ERβ). [107] Αρκετοί από αυτούς τους παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εκτίμηση της πορείας της νόσου. Παρ' όλα αυτά τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών σε σχέση με αυτούς τους δείκτες είναι συχνά αντιφατικά. [108]



Μελέτες αναδεικνύουν θετικά αποτελέσματα ανοσοϊστοχημείας για τον δείκτη SF1 στο 98% των ACC, με υψηλή έκφραση αυτής της πρωτεΐνης στο 30% των ACC. [109] Υψηλή έκφραση του SF1 σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση ενώ θεωρείται ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για τους ασθενείς με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα.[110] Μελέτες αναδεικνύουν σημαντική σχέση ανάμεσα στην έκφραση των Adipo R1 και Adipo R2 με την διάγνωση του ACC. [111]

Από διάφορες μελέτες φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στο επίπεδο των οιστρογονικών υποδοχέων και τα στάδια και την συνολική επιβίωση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. [112] Τα οιστρογόνα παρεμβαίνουν στην κυτταρική ανάπτυξη προκαλώντας αύξηση στην έκφραση των διεγερτικών αυξητικών παραγόντων και καταστολή στην έκφραση των ανασταλτικών αυξητικών παραγόντων.[113] Αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες φαίνεται να δρουν μέσα στον κυτταρικό κύκλο σε άμεση συνεργασία με τους υποδοχείς τους στην κυτταρική μεμβράνη. Τα αντι-οιστρογόνα μπλοκάρουν την διεγερτική δράση των οιστρογόνων δεσμεύοντας τους οιστρογονικούς υποδοχείς και σταματώντας τον κυτταρικό κύκλο στην φάση G1.[114] Η ταμοξιφαίνη προκαλεί μείωση στα κυκλοφορούντα επίπεδα του αυξητικού παράγοντα ινσουλίνης. [115] Η υπερέκφραση του γονιδίου IGF έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με την ανάπτυξη ACC. Και οι δυο αυξητικοί παράγοντες, IGF-1 και IGF-2 παίζουν ρόλο στην δημιουργία του φλοιού των επινεφριδίων.[116] Θετικοί οιστρογονικοί υποδοχείς φαίνεται να σχετίζονται με τα αρχικά στάδια της νόσου. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς φαίνεται να εκφράζονται περισσότερο στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα σε σχέση με τον φυσιολογικό φλοιό ή τα αδενώματα των επινεφριδίων. [117]



Εικόνα 7: φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ENSAT I



Εικόνα 8 : φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ENSAT III



Εικόνα 9 : Ηπατικές μεταστάσεις από φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα



Εικόνα 10: φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ENSAT I



Εικόνα 11: φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ENSAT I



Εικόνα 12 : φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ENSAT III

### 3.3.3 Μεταστάσεις επινεφριδίων

Μεταστάσεις στα επινεφρίδια από πρωτοπαθείς όγκους άλλων οργάνων εμφανίζονται συνήθως στα πλαίσια γενικευμένης νόσου (στάδιο IV). Οι μεταστάσεις στα επινεφρίδια μπορεί να αφορούν το ένα ή και τα δυο επινεφρίδια.[118] Οι όγκοι νεφρού, του πνεύμονα όπως και τα μελανώματα δίνουν μεταστάσεις στα επινεφρίδια πιο συχνά σε σχέση με άλλους όγκους. Παρόλα αυτά πιο σπάνια μπορεί να εμφανιστεί μετάσταση στα επινεφρίδια από όγκο μαστού, παχέος εντέρου, άλλους όγκους του γαστρεντερικού συστήματος ή λέμφωμα. [119] Σε ασθενείς που εμφανίζεται μια επινεφριδιακή μάζα ενώ έχουν καρκίνο και σε κάποιο άλλο σημείο του σώματος, η πιθανότητα να είναι μετάσταση είναι 32-73%. [120] Σε ασθενείς στους οποίους εμφανίζονται τυχαία σε απεικονιστικό έλεγχο με αξονική τομογραφία κοιλίας (CT) εμφανίζονται σε ποσοστό 0.3-5% [121]

Κατά κανόνα οι μεταστάσεις στα επινεφρίδια δεν προκαλούν συμπτώματα. Αυτό ισχύει για το 90-95% των μεταστατικών όγκων των επινεφριδίων.[122] Οι περισσότεροι όγκοι ανακαλύπτονται στα πλαίσια του απεικονιστικού ελέγχου που πραγματοποιείται για την παρακολούθηση του πρωτοπαθούς όγκου. Κάποιες φορές εμφανίζονται συμπτώματα όπως κοιλιακό άλγος ή άλγος στην οσφυϊκή χώρα, λόγω του μεγάλου μεγέθους ή της ταχείας αύξησης του μεγέθους του όγκου, αιμορραγία μέσα στον όγκο ή σπάνια επινεφριδιακή ανεπάρκεια από διήθηση και των δυο επινεφριδίων από τον όγκο (Νόσος Addison).[123]

Οι όγκοι αυτοί κατά κανόνα είναι αποτέλεσμα αιματογενούς διασποράς, οπότε η διήθηση των πέριξ ιστών είναι σπάνια. [124] Από την απεικόνιση συνήθως υπάρχει όγκος στο επινεφρίδιο μεγαλύτερος από 3 εκ, με πιο γρήγορη κάθαρση

του σκιαγραφικού σε αξονική τομογραφία και με σταθερό σήμα στην μαγνητική τομογραφία. [125] Η αξονική τομογραφία κοιλίας είναι η εξέταση εκλογής για την ανίχνευση μετάστασης στα επινεφρίδια και διάφορες μελέτες δείχνουν υψηλά ποσοστά ειδικότητας που κυμαίνονται από το 95-99% και ποσοστά ευαισθησίας από 20-47%. [126] Το PET scan χρησιμοποιείται για να αποκλειστεί η παρουσία μεταστατικής νόσου σε άλλα σημεία του σώματος. Βιοψία του όγκου δεν έχει ένδειξη όταν πρόκειται για μονήρη μετάσταση που θα υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση καθώς υπάρχει κίνδυνος διασποράς της νόσου ή άλλων επιπλοκών.[127] Η βιοψία του όγκου έχει αντιθέτως ένδειξη για να κατευθύνει την θεραπεία όταν ο ασθενής έχει γενικευμένη νόσο ή δεν μπορεί να υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση για άλλους λόγους. [128] Όταν η μετάσταση στο επινεφρίδιο είναι μονήρης έχει ένδειξη χειρουργικής αφαίρεσης και η προσέγγιση που προτείνεται είναι η λαπαροσκοπική επινεφριδιεκτομή. Μετά από χειρουργική εξαίρεση μονήρους μετάστασης η 5ετής επιβίωση κυμαίνεται από 24 έως 29% [129] Όταν υπάρχει γενικευμένη νόσος με παρουσία μεταστάσεων και σε άλλα σημεία εκτός από τα επινεφρίδια, τότε δεν έχει ένδειξη η χειρουργική τους αφαίρεση. Στις περιπτώσεις αυτές είναι πιο αποτελεσματική η συστηματική θεραπεία με χημειοθεραπεία, στοχευμένες θεραπείες, ανοσοθεραπεία με ή χωρίς ακτινοθεραπεία. [130]



από καρκίνο νεφρού

Εικόνα 21 : μετάσταση δεξιού επινεφριδίου



μεταστάσεις επινεφριδίων από Ca στομάχου

Εικόνα 22 : αμφοτερόπλευρες

### 3.4 Χειρουργική αντιμετώπιση νεοπλασμάτων των επινεφριδίων

Η χειρουργική αντιμετώπιση των όγκων των επινεφριδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί με ανοιχτή επέμβαση , με λαπαροσκοπική επέμβαση ή με ρομποτικά υποβοηθούμενη τεχνική.[131] Αυτές οι επεμβάσεις μπορούν να πραγματοποιηθούν διακοιλιακά ή οπισθοπεριτοναϊκά , με πρόσθια , πλάγια ή οπίσθια προσπέλαση.[132] Στις μέρες μας η διακοιλιακή λαπαροσκοπική προσπέλαση είναι η πιο συχνή επέμβαση που εφαρμόζεται στους όγκους των επινεφριδίων. [133]Για την επιλογή της τεχνικής η εμπειρία του χειρουργού παίζει τον πιο σημαντικό ρόλο. Τα χαρακτηριστικά του ασθενούς όπως και το μέγεθος και η φύση του όγκου παίζουν επίσης ρόλο στην επιλογή του είδους της χειρουργικής προσέγγισης. [134]

Η λαπαροσκοπική επινεφριδεκτομή έχει αντικαταστήσει την ανοιχτή ως επέμβαση εκλογής για τους καλοήθεις όγκους των επινεφριδίων. Τα πλεονεκτήματα της λαπαροσκοπικής χειρουργικής είναι το μικρότερο μετεγχειρητικό άλγος, το καλύτερο κοσμητικό αποτέλεσμα , οι λιγότερες επιπλοκές από το τραύμα, ο μικρότερος χρόνος νοσηλείας και η ταχύτερη επάνοδος στην εργασία. Είναι εξίσου ασφαλής με την ανοιχτή καθώς έχει τη δυνατότητα αναγνώρισης και παρασκευής των παρακείμενων οργάνων και αγγείων. [135, 136]

Οι ενδείξεις της λαπαροσκοπικής επινεφριδεκτομής είναι παρόμοιες με αυτές της ανοικτής χειρουργικής και περιλαμβάνουν :

1. Σύνδρομο Cushing που οφείλεται σε αδένωμα που παράγει κορτιζόλη

2. Νόσος Cushing που δεν αντιμετωπίστηκε αποτελεσματικά με υποφυσιεκτομή ή ακτινοβολία στην υπόφυση
3. Σύνδρομο Conn από αδένωμα επινεφριδίου που εκκρίνει αλδοστερόνη
4. Φαιοχρωμοκύττωμα
5. Τυχαίωμα όταν έχει μέγεθος μεγαλύτερο από 4 εκατοστά, ορμονική έκκριση ή ύποπτα απο την απεικόνιση χαρακτηριστικά.
6. Μονήρης μετάσταση επινεφριδίου

Το μέγεθος των όγκων που μπορεί να εξαιρεθούν λαπαροσκοπικά παρουσιάζει αποκλίσεις στην διεθνή βιβλιογραφία που σχετίζονται κυρίως με την εμπειρία των κέντρων.[137] Ορισμένες σειρές θέτουν ως όριο για την λαπαροσκοπική επινεφριδιεκτομή τα 6 εκατοστά , ενώ όταν υπάρχει εμπειρία μπορεί να εξαιρεθούν λαπαροσκοπικά όγκοι μέχρι 13-14 εκατοστά [138, 139]. Απαραίτητη προϋπόθεση για την λαπαροσκοπική εκτομή μεγάλων όγκων είναι η εμπειρία στην λαπαροσκοπική χειρουργική αλλά και στην ανοιχτή χειρουργική των επινεφριδίων και των συμπαγών οργάνων της κοιλιάς. Οι μεγάλοι κακοήθεις όγκοι εξακολουθούν να χειρουργούνται ανοιχτά.[140] Προς το παρόν η λαπαροσκοπική προσέγγιση δεν ενδείκνυται για κακοήθεις όγκους των επινεφριδίων με διήθηση παρακείμενων οργάνων. [141]Εκτεταμένες en bloc εκτομές όπως νεφρεκτομή , ηπατεκτομή , παγκρεατεκτομή και σπληνεκτομή δεν είναι εφικτές με την λαπαροσκοπική χειρουργική. Η λαπαροσκοπική προσέγγιση της πρωτοπαθούς κακοήθειας των επινεφριδίων ή των ύποπτων για κακοήθεια όγκων χρήζει ιδιαίτερης προσοχής.[142] Οι λαπαροσκοπικοί χειρισμοί ενέχουν τον κίνδυνο διάσπασης της κάψας του όγκου με συνέπεια την τοπική υποτροπή της νόσου.



Τα κριτήρια επιλογής λαπαροσκοπικής επέμβασης ήταν η απουσία διήθησης περιεπινεφριδιακών ιστών ή οργάνων στην αξονική (CT) ή τη μαγνητική (MRI) τομογραφία και το μέγεθος του όγκου.[143]

### Τεχνική της λαπαροσκοπικής επινεφριδεκτομής

Προτιμάμε τη διακοιλιακή προσπέλαση σε πλάγια κατακεκλιμένη θέση, καθώς προσφέρει μέγιστη έκθεση του αδένα και των παρακείμενων οργάνων και αγγείων. Στα δεξιά χρησιμοποιούμε 3 τροκάρ των 10 χιλ και ένα των 5 χιλ. Στα αριστερά χρησιμοποιούμε 2 τροκάρ των 10 χιλ και 2 των 5 χιλ. Προτιμάμε την εγκατάσταση πνευμοπεριτοναίου με την τεχνική Hasson προς αποφυγή σχετικής νοσηρότητας.

Δεξιά επινεφριδεκτομή. Ο δεξιός τρίγωνος σύνδεσμος και οι οπισθοπεριτοναϊκές προσφύσεις του ήπατος καυτηριάζονται και διατέμνονται προκειμένου να επιτευχθεί έλξη του ήπατος και έκθεση των άνω ορίων του όγκου. Η κινητοποίηση του ήπατος είναι απαραίτητη ιδιαίτερα σε ευμεγέθεις όγκους. Αφού διανοιχτεί το οπίσθιο περιτόναιο, αναγνωρίζεται η κάτω κοίλη φλέβα και διαχωρίζεται από τον όγκο. Το περιεπινεφριδιακό λίπος απωθείται άνωθεν με endo-peanuts. Ακολούθως αναγνωρίζεται, παρασκευάζεται, απολινώνεται με 2 clips και διατέμνεται η επινεφριδιακή φλέβα. Τα άνω και κάτω επινεφριδιακά αγγεία καυτηριάζονται με ψαλίδι υπερήχων.

Αριστερή επινεφριδεκτομή. Η αριστερή κολική καμπή κινητοποιείται πάντα σε ευμεγέθεις όγκους και εκτίθεται ο άνω πόλος του νεφρού. Οι προσφύσεις του σπληνός καυτηριάζονται και διατέμνονται και αναγνωρίζεται η ουρά του

παγκρέατος. Ο σπλήνας κινητοποιείται περαιτέρω έως ότου εμφανιστεί ο στόμαχος. Στη συνέχεια διανοίγεται η περιτονία του Gerota, αναγνωρίζεται το επινεφρίδιο, παρασκευάζεται, απολινώνεται και διατέμνεται η επινεφριδιακή φλέβα. Ενίοτε αναγνωρίζεται η νεφρική φλέβα πριν την απολίνωση της επινεφριδιακής φλέβας. Τα άνω επινεφριδιακά αγγεία καυτηριάζονται συνήθως με ψαλίδι υπερήχων.

Το παρασκεύασμα τοποθετείται σε σάκο και εξέρχεται δια της τομής που πραγματοποιήθηκε με την τεχνική Hasson.

Εάν καταστεί αναγκαίο, η λαπαροσκοπική επέμβαση μετατρέπεται σε ανοικτή με τη δημιουργία μιας υποπλεύριας τομής η οποία ενώνει τις τομές εισόδου των τροκάρ, με τον ασθενή στην ίδια θέση. Η ίδια τομή επιλέγεται και στους ασθενείς που υποβάλλονται σε ανοικτή επέμβαση εξ' αρχής.

Ο ρόλος της λαπαροσκοπικής χειρουργικής στους κακοήθεις όγκους των επινεφριδίων είναι αμφιλεγόμενος, καθώς υπάρχουν πολύ μικρές σειρές ασθενών στη βιβλιογραφία για αυτήν τη σπάνια νόσο. Επιπρόσθετα, υπάρχει αμφιβολία σχετικά με τις υποτροπές και τις μεταστάσεις στα σημεία εισόδου των τροκάρ μετά από δυνητικά θεραπευτικές εκτομές.

χειρουργική εκτομή σε περιπτώσεις μονήρων επινεφριδιακών μεταστάσεων πλεονεκτεί όσον αφορά στο διάστημα ελεύθερο νόσου και τη συνολική επιβίωση του ασθενούς. Μονήρης επινεφριδιακή μετάσταση δε συνεπάγεται συστηματική νόσο και μελέτες έχουν δείξει ότι αυτοί οι ασθενείς μπορούν να αντιμετωπιστούν λαπαροσκοπικά. Επιπλέον έχει προταθεί ότι ασθενείς με μετάχρονη μετάσταση από διάφορους πρωτοπαθείς όγκους μπορούν να ωφεληθούν λόγω μικρότερης νοσηρότητας σε σχέση με την ανοικτή χειρουργική.

Τα κακοήθη φαιοχρωμοκυτώματα και τα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα πρέπει να προσεγγίζονται με προσοχή, διότι η περιεπινεφριδιακή επέκταση είναι συχνή και η πιθανότητα κατακερματισμού του όγκου και ενδοκοιλιακής διασποράς

σημαντική. Ο χειρουργός πρέπει να κινητοποιήσει τον όγκο και τον παρακείμενο λιπώδη ιστό χωρίς να συλλάβει τον όγκο ή τον αδένα. Το νυστέρι υπερήχων θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή προκειμένου να μη διασπάσει την επιφάνεια του όγκου ή του επινεφριδιακού ιστού, δημιουργώντας έτσι κατακερματισμό του όγκου και διασπορά καρκινικών κυττάρων.

Παρά τις εκατοντάδες των εξαιρεθέντων λαπαροσκοπικά φαιοχρωμοκυττωμάτων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, υπάρχει έλλειψη δεδομένων σχετικά με τη μακροχρόνια παρακολούθηση ασθενών που έχουν υποβληθεί σε λαπαροσκοπική επινεφριδεκτομή για κακοήθες φαιοχρωμοκύττωμα [144, 145]. Η φυσική ιστορία του λαπαροσκοπικά εξαιρεθέντος κακοήθους φαιοχρωμοκυττώματος παραμένει άγνωστη. Αναφορικά με τους κακοήθεις όγκους του φλοιού των επινεφριδίων, φαίνεται από τα βιβλιογραφικά δεδομένα ότι ο κίνδυνος της περιοχικής υποτροπής και διασποράς του όγκου είναι ασαφής. [146]

Παρά τις αρκετές αναφορές τοπικοπεριοχικής υποτροπής μετά από λαπαροσκοπική επινεφριδεκτομή, τα δεδομένα είναι ανεπαρκή ώστε να αποδοθεί η υποτροπή στη λαπαροσκόπηση αυτή καθ'αυτή κι όχι στην κακή χειρουργική τεχνική ή τη λανθασμένη επιλογή ασθενών.[147] Επιπλέον, στις περισσότερες αναφορές λαπαροσκοπικής επινεφριδεκτομής για καρκίνο του φλοιού, η διάγνωση της κακοήθειας δεν είχε τεθεί προεγχειρητικά. Επειδή επρόκειτο όμως για εντοπισμένους όγκους, πιθανώς στα πλαίσια λιγότερο επιθετικής νόσου, ή και δυνητικά κακοήθεις όγκους, τα αποτελέσματα ίσως να μην αντανakλούν την αληθή επιβίωση και τον κίνδυνο τοπικής υποτροπής. [148]

Δεδομένου ότι δεν υπάρχει αξιόπιστη και ακριβής διαγνωστική δοκιμασία που να επιβεβαιώνει τη διάγνωση του πρωτοπαθούς επινεφριδιακού καρκίνου ή της

τοπικής διήθησης, είναι συχνά δύσκολο να αποφασιστεί εάν η λαπαροσκοπική προσέγγιση μπορεί να επιτύχει θεραπευτική εκτομή.

Ο ρόλος της λαπαροσκοπικής χειρουργικής για ευμεγέθεις όγκους παραμένει αμφισβητούμενος. Λίγες περιπτώσεις ασθενών με καρκίνο μεγαλύτερο των 8 εκ έχουν αναφερθεί, εντούτοις σύμφωνα με την εμπειρία μας ευμεγέθεις πρωτοπαθείς κακοήθειες δεν επιδέχονται λαπαροσκοπικής εκτομής. [149] Προς το παρόν η λαπαροσκοπική επινεφριδεκτομή αντενδείκνυται για διηθητικούς κακοήθεις όγκους. En bloc εκτεταμένες εκτομές οργάνων όπως ηπατεκτομή, νεφρεκτομή, παγκρεατεκτομή και σπληνεκτομή δεν είναι εφικτές με την λαπαροσκοπική τεχνική.[150-152]

Προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες σχετικά με το ρόλο της λαπαροσκοπικής χειρουργικής στον καρκίνο των επινεφριδίων δεν είναι εφικτές εξαιτίας της σπανιότητας των πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων. Φαίνεται ότι οι μεταστατικές βλάβες στο επινεφρίδιο ευνοούν περισσότερο τη λαπαροσκοπική προσέγγιση από ότι η πρωτοπαθής νόσος.[153] Η λαπαροσκόπηση θα πρέπει να αποτελεί το πρώτο βήμα στη χειρουργική προσέγγιση εντοπισμένων πρωτοπαθών όγκων καθώς και μονήρων μεταστάσεων. Παρόλα αυτά η λαπαροσκοπική κινητοποίηση του όγκου με τους ελάχιστους χειρισμούς χωρίς τη σύλληψη του όγκου πρέπει να αποτελεί βασική αρχή τεχνικής. [154]

Στις πρωτοπαθείς επινεφριδιακές κακοήθειες η λαπαροσκοπική προσέγγιση θα πρέπει να επιλέγεται προσεκτικά, μόνο όταν μπορεί να επιτύχει πλήρη εκτομή του όγκου αφήνοντας άθικτη την κάψα του. Η απόφαση για μετατροπή σε ανοικτή επέμβαση πρέπει να λαμβάνεται έγκαιρα, πριν τον κατακερματισμό του όγκου ή τη διάσπαση της κάψας του.[155] Ασθενείς με τοπική επέκταση, πολύ μεγάλους

όγκους ή που απαιτούν συνεξαίρεση οργάνων, πρέπει να αντιμετωπίζονται ανοικτά. [156]

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 4.1. Προγνωστικοί δείκτες στο φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα

### 4.1.1 Εισαγωγή

Το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα είναι όπως αναφέρθηκε μια ιδιαίτερα σπάνια και επιθετική νόσος με χαμηλά ποσοστά πενταετούς επιβίωσης. [157] Λόγω της σπανιότητας της νόσου δεν υπάρχουν σειρές με μεγάλους αριθμούς περιστατικών. Οι περισσότερες μελέτες είναι αναδρομικές και με μικρό σχετικά αριθμό ασθενών.[158] Τα συστήματα σταδιοποίησης φαίνεται πως υστερούν ιδιαίτερα στις ενδιάμεσες μορφές στο να καθορίσουν με ακρίβεια την παρουσία ή όχι κακοήθους δυναμικού της νόσου. Για τον λόγο αυτό προκύπτει η ανάγκη αναζήτησης παραμέτρων- δεικτών μεμονωμένων ή συνδυασμοί αυτών που θα μπορούσαν με μεγαλύτερη βεβαιότητα και ακρίβεια να ορίσουν την παρουσία κακοήθειας και να προβλέψουν την πορεία της νόσου και τη επιβίωση (ελεύθερη νόσου και συνολική). Απώτερος στόχος της ανεύρεσης αυτών των δεικτών είναι η ορθότερη αντιμετώπιση των ασθενών με την επιλογή της καταλληλότερης θεραπείας και ενδεχομένως της καλύτερης παρακολούθησης αυτών.

#### 4.1.2 Σχεδιασμός και σκοπός έρευνας

Πραγματοποιήθηκε αναδρομική μελέτη σε μια σειρά ασθενών που χειρουργήθηκαν για φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα στην Γ'Χειρουργική Κλινική του Γ.Ν.Α 'Γ.Γεννηματάς' από τον ίδιο χειρουργό (Γ.Ν.Ζ). Όλοι οι ασθενείς έδωσαν έγγραφη συγκατάθεση για την συμμετοχή τους στην μελέτη. Η μελέτη εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του νοσοκομείου. Στο πρώτο μέρος της μελέτης μας έγινε μελέτη ανοσοιστοχημικών χαρακτηριστικών των ACCs και συσχέτισή τους με κλινικά και μορφολογικά δεδομένα αλλά και με την πορεία της νόσου και τη συνολική επιβίωση των ασθενών.

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης μας μελετήθηκε η έκφραση των γονιδίων των υποδοχέων ERα, ERβ, GPR30 and EGFR σε καλοήθεις και κακοήθεις όγκους του φλοιού των επινεφριδίων η οποία πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (qPCR). Στόχος μας ήταν η πιθανή ανεύρεση διαφοράς στην έκφραση αυτών των γονιδίων στους κακοήθεις όγκους σε σχέση με τις καλοήθεις παθήσεις, αλλά και μεταξύ των διαφόρων καλοήθων καταστάσεων (ορμονοπαραγωγά καλοήθη νεοπλάσματα vs μη εκκριτικά). Η διαφορά έκφρασης των ERs μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης κακοήθους συμπεριφοράς κι επίσης να δώσει τη δυνατότητα ανάπτυξης νέων θεραπειών με τη χορήγηση κατάλληλων εκλεκτικών τροποποιητών των υποδοχέων των οιστρογόνων (SERMs)

### 4.1.3 Υλικά και μέθοδοι

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη αναγράφονται αναλυτικά στον πίνακα που ακολουθεί. Αφορούν το φύλο , την ηλικία , το μέγεθος και το βάρος του όγκου, την ορμονική έκκριση , το στάδιο κατά ENSAT, το είδος της επέμβασης, το Weiss score και την συσχέτιση τους με την συνολική επιβίωση. Στους ασθενείς με Weiss score > 3 έγινε ανοσοϊστοχημικός έλεγχος για Inhibin-a, Melan A, Calretinin, Ki67 Chromogranin A, Synaptophysin, CKAE1 /AE3, p53, Vimentin και στις πιο πρόσφατες περιπτώσεις για τον SF-1.

Πίνακας 1

Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα

Patient no	sex	Age	location	Tumor size	Tumor weight	Hormone levels above normal range	Stage	Surgery	Weiss score	Follow up
1	F	59	left	9x8x7,5cm	127gr		II	L A	7	DOD after 11 months
2	F	37	Right	7,5x6,5x4,8	95gr		II	R A	5	NED after 16 months
3	F	57	Right	5x4,5x4,5	66gr	-	II	L A	4	
4	F	74	Left	10x6x2,5	97gr	-	IV	R A	7	DOD after 6 months



5	M	50	Left	10,5x9,5x8,7	344gr	-	II	L A / N	4	
6	F	48	Left	9,5x8,4	210gr	-	II	L A	7	NED after 18 months
7	F	68	Left	12,5x6,5x4	80gr	-	II	Lap R A	6	Alive after 18 months lung meta
8	F	71	Left	5,5x5,5x4,5	61,3gr	-	II	Lap L A	5	
9	F	63	Right	8,5x5x5cm	74gr	-	II	L R	3	
10	F	30	Right	7x5x3,5	45gr	-	II	Lap R A	oncocytic	NED after 9 months
11	F	42	Left	6,5x6x4,3	81gr	-	II	Lap L A	oncocytic	NED after 8 months
12	F	55	Left	9,5x8x4,3	98gr	-	II	Lap LA	3	
13	M	21	Right	19x15,3x6,1	350gr	SC	IV	Rt A	8	DOD after 1 month
14	F	68	Right	7,6x5,5x3,6	52gr	-	II	R A	3	
15	F	44	Right	8,5x8x5,5 cm	20gr	SC	III	RA /Nephrectomy	7	
16	M	56	Right	7x1,4x1 cm	68gr	-	II	Lap RA	oncocytic	
17	M	64	Right	11,2,10x10cm	620gr	-	III	RA/Nephrectomy	7	NED after 88 months
18	F	49	Right	9,5x9,5x5cm	230gr	-	III	RA	oncocytic	
19	F	48	Left	12x11x10 cm	550gr	-	III	LA/nephrectomy	6	
20	F	71	Left	4,5x4,3x2 cm	31gr	SC	II	LA		
21	F	64	Left	3,5x3,5x3,2	18gr	-	I	Lap LA		
22	M	72	Left	8x7x6 cm	190gr	-	II	LA		

23	M	29	Right	9,5x8x3,7	127gr	-	II	RA	oncocytic	
24	M	77	Right	22x16x14cm	1300gr	SC	III	RA/nephrectomy		
25	F	48	Left	9,5x8x4cm	210gr	-	II	LA		NED after 58 months
26	M	58	Left	5x4x3cm	60,6gr	-	I	Lap LA		
27	F	47	Right	12x10x1,5cm	300gr	-	II	RA		DOD after 14 months
28	M	42	Left	10x8,5x5cm	150gr	-	II	Lap LA		
29	M	45	Left	9x7x7cm	340gr	-	II	LA		
30	F	19	Right	16x11x4,5cm	920gr	SC	III	Lap conversion		DOD after 2 months
31	F	63	Left	14x11,5x4,5	360gr	-	II	LA/nephrectomy		
32	M	46	Left	18x11x9cm	1400gr	-	III	LA Nephrectomy splenectomy	7	
33	M	60	Right	8x3,4x1,6cm	41gr	SC	II	Lap RA	6	
34	F	76	Left	8X6,5X4,3cm	101gr	SC	II		4	DOD after 11 months
35	M	75	Left	5,5x6,5x4,5	27gr	SC	II	LA	5	DOD after 30 months
36	F	48	Left	4,7x4x2,7cm	18gr		III	LA upper pole left kidney	7	
37	F	65	Right	6,5x6,3x5cm	144gr	-	II	RA	6	
38	M	58	Left	8,5x4x6cm	132 gr	SC	III	LA /Nephrectomy	7	DOD after 24 months

39	M	60	Left	4,8X3,5X3,2	27gr	-	I	LA	4	
40	M	62	Left	6,5x5x3cm	48gr	-	II	Lap LA	Oncocytic 3	
41	F	45	Right	10x8,5x6	400gr	-	III	Lap conversion		
42	M	33	Right	13x10x6,5 cm	472gr	-	III	RA	7	NED after 2 months
43	F	71	Left	6x5,5,4cm	xgr	-	II	LA	x	NED after 49 months
44	M	52	Right	9x7x7cm	400gr	-	II	Lap RA	4	NED after 6 months
45	F	49	Right	16x13x8	405gr	SC+A	III	RA/Nephrectomy	7	NED after 1 month

LA : Left Adrenalectomy, RA : Right Adrenalectomy, NED : No evidence of disease, DOD : dead of disease ,LTFU: Lost to follow up

Πίνακας 2 : Δημογραφικά ,κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά ασθενών με ACC

	Number	%
<b>Gender</b>		
women	26	57.7
men	19	42.3
<b>Age</b>		
<20	1	2.2
20-30	2	4.4
31-40	2	4.4
41-50	14	31.1

51-60	10	22.2
61-70	8	17.8
>70	8	17.8
<b>Tumor size (greatest dimension)</b>		
<10cm	30	66.6
≥10cm	15	33.3
<b>Tumor weight</b>		
<300g	31	68.8
≥300g	14	31.1
<b>Lateralisation</b>		
Left adrenal	26	57.7
Right adrenal	19	42.3
<b>Stage (ENSAT)</b>		
I	3	6.6
II	28	62.3
III	12	26.7
IV	2	4.4
<b>Surgical approach</b>		
Open adrenalectomy	30	66.6
Laparoscopic adrenalectomy	12	26.7
Conversion to open	3	6.6
Resection of additional organs (kidney,spleen)	10	22.2
<b>Hormonal activity</b>		
Functional	17	37.7
Nonfunctional	28	62.3

Χειρουργήθηκαν 45 ασθενείς με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα τη χρονική περίοδο από τον Ιούνιο του 1997 μέχρι τον Σεπτέμβριο του 2019 από τον ίδιο χειρουργό (Γ.Ν.Ζ). Πληροφορίες για την προεγχειρητική διάγνωση, το είδος της επέμβασης, τις επιπλοκές, την διάρκεια νοσηλείας, την ιστολογική έκθεση και το follow up των ασθενών αντλήθηκαν από το αρχείο των φακέλων του νοσοκομείου που αφορούσε μια σειρά 742 ασθενών που υποβλήθηκαν σε 758 επινεφριδιεκτομές για καλοήθεις ή κακοήθεις όγκους την αντίστοιχη χρονική περίοδο.

Ο προεγχειρητικός εντοπισμός του όγκου πραγματοποιήθηκε σε όλους τους ασθενείς με αξονική τομογραφία κοιλίας (computed tomography CT) ή μαγνητική τομογραφία κοιλίας (magnetic resonance imaging MRI). Ενδοκρινολογική εκτίμηση με πλήρη ορμονολογικό έλεγχο έγινε σε όλους τους ασθενείς προεγχειρητικά ώστε να καθοριστεί η παρουσία ορμονικής έκκρισης. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης πραγματοποιήθηκε με την ολοκλήρωση της ιστολογικής έκθεσης. Έγινε ανοσοϊστοχημικός έλεγχος για Inhibin-a, Melan A, Calretinin, Ki67 Chromogranin A, Synaptophysin, CKAE1/AE3, p53, Vimentin και στις πιο πρόσφατες περιπτώσεις για τον SF-1. Οι τιμές των δεικτών αυτών καταγράφονται στον πίνακα 2 που ακολουθεί.

Πίνακας 3 : ανοσοϊστοχημικοί δείκτες ασθενών με ACC

Patient no	CKAE1/A E3	Inhibin a	p53	Melan A	Calretinine	Synaptophysin	Chromogranin A	Ki 67	Vimentin
1	+	+	+70%	+	+	+	-	45%	+
2	-	+	+1%	+	+	+	-	3%	+
3	+	+	+5%	+	+	-	-	17%	-
4	+	+	+20%	+	+	+	+	70%	+
5	-	+	-	+	+	-	-	10-15%	-
6	-	+	-	+	+	+	-	33%	+
7	+/-	+	+5-7%	+	+	+	-	15-17%	+
8	+	+	+7%	+	+	+	-	10%	+
9	-	+	+	+	+	+	-	2%	+
10	-	+	+62%	+	+	+	-	5-6%	
11	-	+	+<1%	+	+	+	-	1%	+
12									
13	-	+	-	+	+	+	-	5%	+
14	-	+	-	+	+	+	-	15%	+
15	-	+	-	+	+	+	--	2-5%	+
16	-	+	-	+	+	+	-	2-3%	+
17	+	+	+	+	+	+	-	4-5%	+
18	-	+	-	+	+	+	-	4-5%	+
19	-	+	+	+	+	+	-	15%	+

20	-	+	-	+	+	+	-	20-25%	+
21	-	+	-	+	+	-	-	4%	+
22	-	+	-	+	+	+	-	7%	+
23	-	+	+	+	+	+	-	1-3%	+
24	-	+	-	+	+	+	-	5-15%	+
25	-	+	-	+	+	+	-		+
26	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
27	-	+	+<8%	+	+	+	-	25-30%	+
28	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,5%	nd
29	-	+	-	+	+	+	-	17%	+
30	-	+	-	-	+	+	-	10%	-
31	-	+	-	-	+	+	-	6%	+
32	+	+	-	-	-	-	-	>70%	+
33	-	+	-	+-	+	+		3%	+
34	-	+	-	+	+	+	-	10%	+
35	-	+	-	-	+	+	-	40%	+
36	-	+	-	-	+	+	-	10%	+
37	-	+	-	+	+	+	-	30%	+
38	-	+	-	+	+	+	-	25%	+
39	+	+	-	-	+	+	-	<1%	+
40	-	-	-	-	-	-	-	<1%	-
41	-	-	-	+	+	+	-	4-5%	+
42	-	+	-	-	+	+	-	15%	+
43	-	+	+<1%	+	+	+	-	45%	+

44	-	+	-	+	+	+	-	5% 10- 15%(hot spot)	+
45	-	+		+	-	+	-	30%	+

Πίνακας 4 : Συμπληρωματικός πίνακας

Immunohistochemical Markers	Male (n=20)	Female (n=25)
<b>CKAE1/AE3</b>	Yes(n=4) No(n=14)	Yes(n=4) No(n=18)
<b>Inhibin A</b>	Yes(n=17) No(n=1)	Yes(n=23) No(n=1)
<b>P53</b>	Yes (normal) (n=14) Overexpression (n=3)	Yes (normal) (n=20) Overexpression (n=3)
<b>Melan A</b>	Yes(n=12) No(n=6)	Yes(n=21) No(n=3)
<b>Synaptophysin</b>	Yes(n=15) No(n=3)	Yes(n=22) No(n=2)
<b>Vimentin</b>	Yes(n=15) No(n=2)	Yes(n=21) No(n=2)
<b>Ki67</b>	≤4% (n=6) >4% (n=12)	≤4% (n=3) >4% (n=21)



Όλες οι επεμβάσεις , ανοιχτές και λαπαροσκοπικές , πραγματοποιήθηκαν με τον ασθενή σε πλάγια κατακεκλιμένη θέση. Με τον τρόπο αυτό δεν υπήρχε ανάγκη για αλλαγή θέσης διεγχειρητικά στις περιπτώσεις που χρειάστηκε να γίνει μετατροπή από λαπαροσκοπική σε ανοιχτή επέμβαση. Η διακοιλιακή πλάγια προσπέλαση χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις επεμβάσεις. Οι χειρισμοί στο επινεφρίδιο κατά τη διάρκεια της παρασκευής των ιστών ήταν πάντα ιδιαίτερα προσεκτικοί έτσι ώστε να αποφευχθεί ο τραυματισμός, του επινεφριδίου ή η παραμικρή ρήξη της κάψας ή τμήματος του όγκου,. Στις λαπαροσκοπικές επεμβάσεις το παρασκεύασμα τοποθετείται πάντοτε μέσα σε ειδικό σάκο ώστε να αφαιρεθεί με ασφάλεια μέσα από την κοιλιά μέσα από μικρή επέκταση της αρχικής τομής.

Τριάντα επεμβάσεις έγιναν ανοιχτά , 12 λαπαροσκοπικά ενώ 3 επεμβάσεις ξεκίνησαν λαπαροσκοπικά και έγινε μετατροπή σε ανοιχτή επέμβαση. Σε 10 επεμβάσεις κρίθηκε απαραίτητη η εκτομή γειτονικών οργάνων ( νεφρός, σπλήνας). Δεν υπήρξε μετεγχειρητική θνητότητα. Η μέση διάρκεια νοσηλείας ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στις ανοικτές επεμβάσεις σε σχέση με τις λαπαροσκοπικές ( 7 μέρες σε σχέση με 3 μέρες αντίστοιχα).

#### 4.1.4 Ιστολογική εκτίμηση και ανοσοϊστοχημεία

Η ιστολογική εκτίμηση των παρασκευασμάτων πραγματοποιήθηκε στο παθολογοανατομικό τμήμα του νοσοκομείου Γ.Ν.Α 'Γ,Γεννηματάς'. Όλες οι περιπτώσεις ταξινομήθηκαν με βάση το Weiss score και σε όσες το score ήταν ίσο ή μεγαλύτερο του 3 γεγονός που δηλώνει την παρουσία κακοήθειας έγινε ανοσοϊστοχημεία με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε το Helsinki score [ (5x παρουσία νεκρώσεων ) +( 3x μιτώσεις >5 ανά οπτικό πεδίο) + δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67}. Score >8.5 θεωρείται ενδεικτικό κακοήθειας όπως προαναφέρθηκε.

Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική μελέτη σε έναν αντιπροσωπευτικό αποπαραφινωμένο ιστό μετά από ανάκτηση αντιγόνου χρησιμοποιώντας τους κατάλληλους θετικούς και αρνητικούς ελέγχους σε όλες τις περιπτώσεις. (on a representative deparaffinized tissue section after antigen retrieval using appropriate positive and negative controls in all cases). Ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 εκτιμήθηκε όσον αφορά την πρόγνωση των ασθενών με ACC χρησιμοποιώντας το αντίσωμα anti-human Ki67 antibody (clone MIB-1, DAKO). Το Ki-67 score εκτιμήθηκε ως το ποσοστό του αριθμού των ανοσοχρωσμένων πυρήνων ανάμεσα στον συνολικό αριθμό των πυρήνων των καρκινικών κυττάρων (count 500-2000 tumor cells) ανά οπτικό πεδίο ( high-power field ) μετρημένο σε περιοχές με την υψηλότερη πυκνότητα θετικών πυρήνων (hotspots). Η σταδιοποίηση του όγκου έγινε με βάση την ταξινόμηση από το European Network for the Study of Adrenal Tumours (ENSAT). Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τα αντισώματα

anti p53 (clone DO-7, DAKO), CK-PAN (clone AE1/AE3, DAKO), Inhibin- $\alpha$  (clone EP378, BioSB), Melan A (clone A103, DAKO), Calretinin (clone DAK-Carelt1, DAKO), Synaptophysin (clone DAK-SYNAP, DAKO), Chromogranin A (clone DAK-A3, DAKO) and Vimentin (clone V9, DAKO) antibodies. Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τα DAKO EnVision™ FLEX (Dako, Carpinteria, CA, US). Η ένταση της χρώσης (staining intensity) σε κάθε πλακάκι εκτιμήθηκε ανεξάρτητα από δύο διαφορετικούς παθολογοανατόμους, οι οποίοι δεν γνώριζαν κλινικές πληροφορίες ( τυφλή μελέτη) μέσα στα πλαίσια αυτής της μελέτης. Η ανοσοϊστοχημική χρώση θεωρήθηκε θετική στις περιπτώσεις που περισσότερο από το 10% των αντισωμάτων υπό μελέτη ήταν κεχρωσμένο. Για την αξιολόγηση της χρώσης του p53 (p53 staining) το ποσοστό 5-20% των καρκινικών κυττάρων με ετερογένεια στην ένταση της χρώσης θεωρήθηκε ως φυσιολογικό ή με αυξημένα επίπεδα έκφρασης του p53 του άγριου τύπου (wild type TP53 gene) ενώ η υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε ποσοστό >20% των καρκινικών κυττάρων tumor cells θεωρήθηκε παθολογική και ενδεικτική της παρουσίας μετάλλαξης του γονιδίου TP53.

#### **4.1.5 Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων**

Το Shapiro-Wilk test χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της σωστής διανομής των δεδομένων της μελέτης μας (normality of data distribution). Για τις ποιοτικές μεταβλητές (qualitative variables) συγκρίσεις ανάμεσα σε δύο ή περισσότερες ομάδες πραγματοποιήθηκαν με την χρήση του Chi-squared test ή του Fisher's exact test. Για τις ποσοτικές μεταβλητές (quantitative parameters), οι συγκρίσεις μεταξύ των δύο ομάδων έγιναν με το Student's t-test, το Welch's t-test και το

Mann-Whitney U-test, ανάλογα με την περίπτωση, ενώ συγκρίσεις μεταξύ τριών ή περισσότερων ομάδων πραγματοποιήθηκαν με το ANOVA ή το Kruskal-Wallis test, ανάλογα με την περίπτωση. Συσχετίσεις μεταξύ δύο ποιοτικών μεταβλητών μετρήθηκαν με την μέθοδο Pearson's correlation coefficient or Spearman's rank correlation coefficient, ανάλογα με την περίπτωση. Οι Kaplan-Meier καμπύλες και το log-rank test χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση και την σύγκριση όλων των παραμέτρων με την συνολική επιβίωση. Η Cox regression εφαρμόστηκε για την πολυπαραγοντική ανάλυση της επιβίωσης (multivariate survival analysis). Όλα τα τεστ πραγματοποιήθηκαν δύο φορές (two-tailed) και τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά όταν η τιμή της p-value ήταν μικρότερη από 0.05. Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η 25th edition of Statistical Package for Social Sciences (SPSS) (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

#### **4.1.5.1 Δημογραφικά και κλινικά δεδομένα**

Από τον συνολικό αριθμό των 45 ασθενών που διαγνώστηκαν με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα, η πλειοψηφία ήταν γυναίκες (1.37:1) με μέση ηλικία τα 55.5 έτη (IQR 19–77) τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης. Η εντόπιση του όγκου ήταν στο αριστερό επινεφρίδιο σε 26 ασθενείς (57.7%) και στο δεξιό επινεφρίδιο σε 19 ασθενείς (42.3%). Στην σειρά μας δεν υπήρξαν περιπτώσεις αμφοτερόπλευρου φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος ή κάποιου κληρονομικού συνδρόμου.

Τα κύρια κλινικά συμπτώματα ήταν αυτά που σχετίζονται με την έκκριση ορμονών , ιδίως κορτιζόλης , καθώς δεν σημειώθηκαν συμπτώματα όπως κοιλιακό ή οσφυϊκό άλγος ή κούραση , που έχουν αναφερθεί σε άλλες σειρές. Ορμονική υπερέκκριση παρατηρήθηκε σε 17 ασθενείς (37.7%) ως εξής : υπερπαραγωγή κορτιζόλης σε 15 ασθενείς (33.3%) , υπερέκφραση περισσότερων από μια ορμονών (κορτιζόλη και ανδρογόνα ή οιστρογόνα ) σε 2 ασθενείς (4.4%)

Δεν υπήρξε περίπτωση στην οποία να υπάρχει υπερέκκριση αλδοστερόνης, ενώ έχει περιγραφεί σε μικρό ποσοστό σε άλλες σειρές.

Η κλινική παρακολούθηση των ασθενών μετεγχειρητικά κατέστη εφικτή σε 38 από τους 45 ασθενείς με μέσο χρόνο παρακολούθησης ( follow up ) μια περίοδο 18 μηνών (IQR 1-96 months). Η σταδιοποίηση των όγκων έγινε με χρήση του ENSAT staging system; τρεις ασθενείς (6.6%) θεωρήθηκαν στάδιο I, 28 στάδιο II (62.3%) , 12 (26.7%) ως στάδιο III και 2 (4.4%) ως στάδιο IV. Είκοσι-δύο ασθενείς είναι ζωντανοί 1 με 96 μήνες μετά την αρχική τους διάγνωση. Δεκαέξι ασθενείς πέθαναν από τη νόσο τους 1 με 36 μήνες μετά την αρχική τους διάγνωση. Επτά ασθενείς χάθηκαν στο follow up. Η ενός έτους επιβίωση ήταν 70.3% και η 5ετής επιβίωση ήταν 18.9%.

#### **4.1.5.2 Μακροσκοπικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων.**

Τα ενδεικτικά για κακοήθεια μακροσκοπικά χαρακτηριστικά , όπως οι αιμορραγίες και οι νεκρώσεις , ανιχνεύθηκαν σε όλα τα περιστατικά της σειράς μας με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. Δεν ήταν δυνατή η αναγνώριση φυσιολογικού επινεφριδιακού ιστού σε κανένα απο τα παρασκευάσματα της σειράς μας.

Το μέσο μέγεθος των όγκων ήταν 9 εκατοστά στην μεγαλύτερη τους διάσταση (IQR 3.5- 22 cm) και το βάρος τους κυμάνθηκε από 18 μέχρι 1400 γραμμάρια (μέσο βάρος τα 127 γραμμάρια).

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της συσχέτισης μεταξύ των μακροσκοπικών χαρακτηριστικών, της εντόπισης του όγκου και του Weiss score:

Ο συνολικός όγκος και η διάμετρος των ACCs ήταν μεγαλύτερα στους όγκους που εντοπίζονταν στο δεξιό επινεφρίδιο σε σχέση με εκείνους που εντοπίζονταν επιτυγχάνοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $p=0.08$  και  $p=0.07$  αντίστοιχα).

Επιπρόσθετα διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του συνολικού μεγέθους του όγκου ( $p=0.011$ ,  $r=0.418$ ), της διαμέτρου ( $p=0.005$ ,  $r=0.449$ ), του βάρους του ( $p=0.04$ ,  $r=0.339$ ) και του Weiss score.

#### **4.1.5.3 Ανοσοϊστοχημικοί δείκτες στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα.**

Η έκφραση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών στα 45 φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον συμπληρωματικό πίνακα (supplementary table)

Η διάγνωση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος επιβεβαιώθηκε ιστολογικά με Weiss score  $> 3$ , με διακύμανση από 4 μέχρι 8. Ο αριθμός των μιτώσεων κυμάνθηκε από 2 μέχρι 28 (mitoses per 50 high power fields). Να σημειωθεί ότι μεταξύ των 45 ACCs υπήρξαν 6 ογκοκυτταρικού τύπου. Σε όλο τα ογκοκυτταρικού τύπου καρκινώματα ο αριθμός των μιτώσεων ήταν  $< 5/50$  ανά οπτικό πεδίο. Σε 28 ασθενείς η ιστολογική έκθεση ανέφερε την παρουσία ινώδους κάψας που καλυπτε εξ ολοκλήρου τον όγκο, σε 3 περιέγραφε διήθηση της κάψας

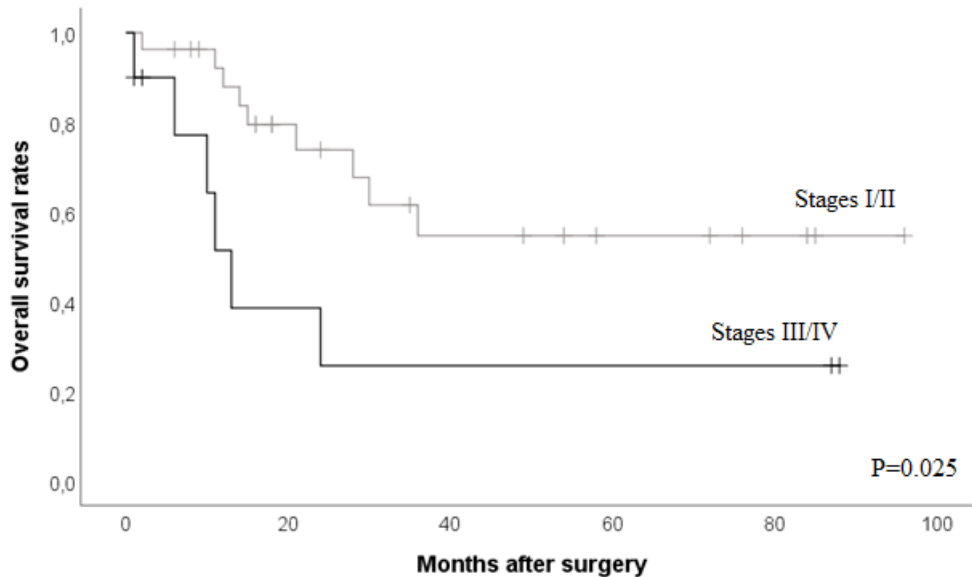
από τον όγκο , ενώ σε 14 ασθενείς δεν γινόταν καμία αναφορά για παρουσία ή διήθηση κάψας.

Όλοι οι όγκοι με εξαίρεση 5 εξ αυτών ήταν θετικοί για συναπτοφυσίνη , 9 όγκοι (20%) ήταν θετικοί για CKAE1/AE3, 34 (75.5%) όγκοι θετικοί για Melan-A, 41 (91.11%) για την inhibin A, 37 (82.22%) για vimentin, και 40(88.88%) για την calretinin.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων ανέδειξε ότι η έκφραση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 είχε θετική συσχέτιση με το Weiss score ( $p=0.25$ ,  $r=0.383$ ) όπως ήταν αναμενόμενο. Τα δεδομένα μας έδειξαν επίσης συσχέτιση ανάμεσα στο Weiss score και στην έκφραση της vimentin και της synaptophysin ( $p=0.02$  και  $p=0.07$ , αντίστοιχα ). Η συσχέτιση της υπερέκφρασης των CKAE1/AE3 όπως και της Inhibin A με το Weiss score ( $p=0.14$  και  $p=0.14$  αντίστοιχα ) έδειξε μια τάση προς στατιστικώς αξιολογήσιμη διαφορά.

Επιπρόσθετα , η έκφραση του Ki-67 παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με το Helsinki score ( $p<0.001$ ,  $r=0.979$ ) ενώ αντίθετα δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των p53, CKAE1/AE3 και Inhibin A με το Helsinki score ( $p=0.14$ ,  $p=0.11$  και  $p=0.13$  αντίστοιχα).

Μέσα από την ανάλυση των δεδομένων μας δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην σχέση μεταξύ των ανοσοϊστοχημικών δεικτών (IHC markers ) και την σταδιοποίηση κατά ENSAT (I/II vs. III/IV). (διάγραμμα που ακολουθεί)



#### 4.1.5.4 Κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά και συσχέτιση αυτών με τη συνολική επιβίωση των ασθενών με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα

Όπως προαναφέρθηκε η μέση διάρκεια παρακολούθησης των ασθενών μας ήταν 18 μήνες (IQR 1–96) , μικρή σχετικά , κι αυτό επειδή μεγάλος αριθμός των ασθενών μας διαγνώστηκε σχετικά πρόσφατα. Επτά ασθενείς (15.5%) χάθηκαν στο follow up, 12 ασθενείς (31.58%) είχαν  $\leq 1$  χρόνο επιβίωση και 17 (44.74%) παρουσίασαν  $\leq 5$  χρόνια επιβίωση. Η επιβίωση των ασθενών με



φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους ασθενείς σταδίου I–II κατά ENSAT σε σχέση με τους ασθενείς σταδίου III–IV ( $62 \pm 8.7$  μήνες vs  $31 \pm 12.1$  μήνες,  $p=0.02$ ), όπως ήταν αναμενόμενο.

Διάμετρος όγκου  $>10$  cm ( $p=0.007$ ), συνολικό μέγεθος όγκου  $>500$  cm<sup>3</sup> ( $p=0.0003$ ), βάρος όγκου  $>300$  gr ( $p=0.03$ ), Ki-67 index  $>4\%$  ( $p=0.04$ ), Weiss score  $>5$  ( $p=0.001$ ), Helsinki score  $>8$  ( $p=0.06$ ) παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με χαμηλότερη συνολική επιβίωση σε ανάλυση μιας μεταβλητής (univariable analysis). Αντίθετα η έκφραση της Melan A σε συνδυασμό με τη χαμηλότερη έκφραση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 ( $\leq 4\%$ ) εμφάνισαν ανεξάρτητη συσχέτιση με καλύτερη επιβίωση ( $p=0.01$ ). Η σχέση μεταξύ διάμεσης και μέσης διάρκειας επιβίωσης (an ERage and median survival period) με την έκφραση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών σε ασθενείς με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα.

**Πίνακας 5.** Av ERage and median of survival period in patients with ACC in relation to immunohistochemical markers

Immunohistochemical staining		Av ERage period of survival (months)	Median	Standard Error	95% confidence interval	Log Rank test
<b>CKAE1/AE3</b>	Yes (n=8)	61.5	NR*	15.3	31.5-91.5	P=0.881
	No (n=28)	53.9	30	8.6	37.1-70.7	
<b>Inhibin A</b>	Yes (n=34)	56.3	NR	8.1	40.4-72.2	P=0.177
	No (n=1)	13	13	0	13-13	
<b>P53</b>	Yes (normal) (n=29)	49.7	28	8.8	32.6-66.8	P=0.306
	Overexpression (n=5)	68.8	NR	16.7	36.1-101.4	
<b>Melan A</b>	<b>Yes (n=30)</b>	<b>61.8</b>	<b>NR</b>	<b>8.5</b>	<b>45.2-78.4</b>	<b>P=0.014</b>
	<b>No (n=5)</b>	<b>15.1</b>	<b>15</b>	<b>5.7</b>	<b>4-26.1</b>	
<b>Synaptophysin</b>	Yes (n=32)	53.9	30	8.3	37.6-70.3	P=0.765
	No (n=3)	60	NR	19.6	21.6-98.4	
<b>Vimentin</b>	Yes (n=30)	57.2	NR	8.2	41.1-73.4	P=0.106
	No (n=3)	10.7	12	3.8	3.2-18.1	
<b>Ki67</b>	<b>≤4% (n=7)</b>	<b>81</b>	<b>NR</b>	<b>13</b>	<b>55.5-106.5</b>	<b>P=0.049</b>
	<b>&gt;4% (n=28)</b>	<b>40.4</b>	<b>24</b>	<b>7.9</b>	<b>24.8-55.9</b>	

The patients lost to follow-up have been excluded from the analysis.

\*NR=Not Reached Yet

Σε πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων μας ( multivariable analysis ) , ηλικία >50 έτη (p=0.031), συνολικό μέγεθος όγκου >500 cm<sup>3</sup> (p=0.008), Weiss score >5 (p=0.02) και υπερέκφραση του p53 (p=0.006) παρουσίασαν ανεξάρτητη

συσχέτιση με την επιβίωση (independently associated with survival). Πιο συγκεκριμένα, , Cox regression analysis ανέδειξε ότι ασθενείς που είτε είχαν διαγνωστεί σε ηλικία μεγαλύτερη των 50 ετών είτε εμφάνιζαν υψηλότερη έκφραση του p53 είχαν 91.5% και 99.4% υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης. Αντιθέτως, ασθενείς που είχαν είτε συνολικό μέγεθος όγκου >500 cm<sup>3</sup> είτε υψηλότερο Weiss score (>5) φάνηκε πως είχαν 58.82% και 57.05% χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης (Table 3).

**Πίνακας 6 :** Multivariable Cox-regression analysis in 45 ACC patients.

	P values	Hazard Rate (HR)	95,0% CI	
			Lower	Upper
Gender	0,809	1,300	0,155	10,887
<b>Age&gt;50</b>	<b>0,031</b>	<b>0,085</b>	<b>0,009</b>	<b>,798</b>
stage III/IV	0,654	1,869	0,122	28,714
<b>Volume&gt;500 cm<sup>3</sup></b>	<b>0,008</b>	<b>58,821</b>	<b>2,840</b>	<b>1218,326</b>
CKAE1/AE3	0,620	0,437	0,017	11,515
<b>p53</b>	<b>0,006</b>	<b>0,004</b>	<b>0,000</b>	<b>0,195</b>
Melan A	0,155	0,192	0,020	1,867
Synaptophysin	0,329	13,600	0,072	2566,703
Vimentin	0,223	0,082	0,001	4,562
<b>Weiss score&gt;5</b>	<b>0,021</b>	<b>57,051</b>	<b>1,857</b>	<b>1752,479</b>

## 4.2 Φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα και οιστρογονικοί υποδοχείς

### 4.2.1 Εισαγωγή-σκοπός

Η συντριπτική πλειοψηφία των όγκων των επινεφριδίων είναι καλοήθεις (αδενώματα), με το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα (ACC) να είναι σπάνιο και με ιδιαίτερα πτωχή πρόγνωση. Προηγούμενες μελέτες έχουν αναδείξει πως τα οιστρογόνα παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση και την εξέλιξη αρκετών νεοπλασμάτων ενδοκρινούς προέλευσης όπως οι όγκοι του φλοιού των επινεφριδίων.[159]. Τα οιστρογόνα είναι στεροειδείς ορμόνες που εμπλέκονται σε παθοφυσιολογικές διεργασίες σημαντικές για την επιβίωση. Το κυρίαρχο οιστρογόνο στον άνθρωπο είναι η 17β-εστραδιόλη, που δρά σε αρκετούς ιστούς-στόχους συμπεριλαμβάνοντας και το καρδιαγγειακό σύστημα. Η ικανότητα των οιστρογόνων να επάγουν συγκεκριμένες δραστηριότητες σε διαφορετικούς ιστούς εξηγείται από την αναγνώριση των οιστρογονικών υποδοχέων(ER) στους ιστούς αυτούς. Οι βιολογικές δράσεις των οιστρογόνων λαμβάνουν χώρα μέσω δύο διαφορετικών ενδοκυτταρικών υποδοχέων-πρωτεϊνών, ERα και ERβ .[160] Η προοπτική πως τα ενδοκυτταρικά μονοπάτια που επάγονται από τα οιστρογόνα μπορούν να διεγερθούν ή να ανασταλλούν μέσω εκλεκτικών αγωνιστών ή ανταγωνιστών, παρέχουν νέες θεραπευτικές επιλογές σε διάφορους κλινικούς τομείς.

Οι μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων οι ERα και ERβ ρυθμίζουν την μεταγραφή γονιδίων μέσω πρόσδεσης σε συγκεκριμένες περιοχές στους promoters των γονιδίων στόχων έχουν περιγραφεί λεπτομερώς. Αυτές οι κλασσικές γενομικές δράσεις εξαρτώνται από τη μετάφραση γονιδίων καθώς η εστραδιόλη και άλλα στεροειδή ασκούν άμεσα αποτελέσματα σε ποικίλους ιστούς-στόχους.

Ένα παράδειγμα είναι η επαγόμενη από τα οιστρογόνα αγγειοδιαστολή, που πυροδοτείται από τα οιστρογόνα εντός λεπτών και γι' αυτό δε μπορεί να είναι αποτέλεσμα αλλαγής στην έκφραση γονιδίου. Αυτοί οι μη-γενομικοί (μη κλασσικοί) μηχανισμοί περιλαμβάνουν την πρόσδεση σε υποδοχείς που εντοπίζονται στην κυτταρική μεμβράνη, στα μιτοχόνδρια και στο ενδοπλασματικό δίκτυο.[161] Ο κλασσικός μηχανισμός δράσης των ER περιλαμβάνει την πρόσδεση του συμπλέγματος ορμόνης-υποδοχέα σε ακολουθίες νουκλεοτιδίων που αποκρίνονται στα οιστρογόνα και βρίσκονται στους promoters των γονιδίων στόχων και αναγνωρίζονται ειδικά από τα οιστρογόνα. Η πρόσδεση της ορμόνης στην περιοχή πρόσδεσης του υποδοχέα πυροδοτεί μια διαμορφωτική αλλαγή που επιτρέπει τη συσχέτιση του συμπλέγματος ορμόνης-υποδοχέα με άλλες πρωτείνες γνωστές και ως coactivators, διευκολύνοντας έτσι την έκφραση γονιδίων.[160] Παρόλαυτα οι οιστρογονικοί υποδοχείς μπορούν επίσης να ελέγξουν την έκφραση γονιδίων μέσω εναλλακτικών μηχανισμών, χωρίς πρόσδεση στην ERE ακολουθία που συνήθως βρίσκεται στο 5' άκρο του γονιδίου που εκφράζεται. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν αλληλεπίδραση σε επίπεδο πρωτεϊνών μεταξύ οιστρογονικών υποδοχέων και άλλων μεταγραφικών παραγόντων.[162] Επιπροσθέτως η φωσφορυλίωση και η ενεργοποίηση των πυρηνικών οιστρογονικών υποδοχέων μπορεί να μεσολαβηθεί από αυξητικούς παράγοντες μέσω καταρρακτών πρωτεϊνικών κινασών που οδηγούν στην πρόσδεση ERs με EREs. Παρόλαυτα κάποιες μη γενομικές δράσεις των οιστρογόνων μπορεί να επάγουν γενομική απάντηση, ρυθμίζοντας έναν αριθμό μεταφραστικών παραγόντων.

Οι υποδοχείς των οιστρογόνων έχουν βρεθεί να εκφράζονται τόσο και φυσιολογικό όσο και σε νεοπλασματικούς ιστούς επινεφριδίων και μάλιστα με διαφορετική πυκνότητα [163].

Μάλιστα η έκφραση του ERβ διαφοροποιείται ανάλογα με τη ζώνη του φλοιού του επινεφριδίου (δικτυωτή, σπειροειδή, στηλιδωτή) και τη ηλικία του ατόμου. [164 , 165]. Αντιθέτως ο ERα υποδοχέας εκφράζεται ελάχιστα. Η παθοφυσιολογική σημασία της έκφρασης αυτής των οιστρογονικών υποδοχέων στον πολλαπλασιασμό (φυσιολογικό ή παθολογικό) των κυττάρων του επινεφριδιακού ιστού δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί.

Το κλασικό μοντέλο που ισχύει για τους περισσότερους ιστούς είναι ότι ο ERα είναι ογκογόνος και αυξάνει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, ενώ ο ERβ ασκεί αντίθετες δράσεις, όντας προστατευτικός και προαποπτωτικός στα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο αυτή η διάκριση δε βρίσκει εφαρμογή σε όλους τους ιστούς που εκφράζονται και οι δύο υποτύποι των υποδοχέων. Στην πραγματικότητα ο ERα φαίνεται να παίζει κυρίαρχο ρόλο σε ιστούς όπως η μήτρα, ο μαστός, η υπόφυση, ο λιπώδης ιστός, οι μύες και τα οστά, ενώ ο ERβ παίζει σημαντικότερο ρόλο στην ωοθήκη, προστάτη, πνεύμονα, καρδιαγγειακό και ΚΝΣ [166 ].

Κατά την ανάπτυξη επινεφριδιακής νεοπλασίας διαφοροποιείται η έκφραση των υποδοχέων ERα και ERβ. Ωστόσο η υπάρχουσα βιβλιογραφία είναι περιέχει αντικρουόμενα ευρήματα σε σχέση με το ποιός εκφράζεται περισσότερο [163,165-169] Τα οιστρογόνα ασκούν γονιδιωματικές δραστηριότητες μέσω των πυρηνικών οιστρογονικών υποδοχέων (ER) τύπου α και β, ενώ η μη γονιδιωματική τους δράση επάγεται από την συνδεδεμένη με τους οιστρογονικούς υποδοχείς G πρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης (GPR30).[170] Πρόσφατα , πειράματα in vitro ανέδειξαν ότι η χρήση ανταγωνιστών των ER-α όπως και αγωνιστών των

GPER30 καταστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στις H295R κυτταρικές σειρές.

Τα δεδομένα που υπάρχουν μέχρι στιγμής για την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων σε φυσιολογικούς ιστούς φλοιού επινεφριδίων όσο και σε νεοπλάσματα φλοιού είναι περιορισμένα. Επιπρόσθετα η έκφραση του EGFR gene έχει βρεθεί να είναι ιδιαίτερα αυξημένη στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο στα αδενώματα του φλοιού.[171] Η έκφραση του EGFR παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων σε καρκίνο του μαστού ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα που να αφορούν την συσχέτιση του EGFR με τους ER σε φλοιοεπινεφριδιακά νεοπλάσματα.

Σκοπός της μελέτης μας είναι η αξιολόγηση της έκφρασης των ERs και EGFRs σε νεοπλάσματα του φλοιού των επινεφριδίων και η συσχέτιση τους με την βιολογική συμπεριφορά των όγκων αυτών.

Πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA και πρωτεϊνών από φρέσκο κατεψυγμένο ιστό : 8 μη λειτουργικά αδενώματα (NFA) , 8 αδενώματα που παράγουν κορτιζόλη (CPA), γειτονικός σε αυτά τα αδενώματα επινεφριδιακός ιστός (NAT) και 8 φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACC).

#### **4.2.2 Απομόνωση του ολικού RNA**

Για την απομόνωση του ολικού RNA από τα κύτταρα χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα υλικά :

1. αντιδραστήριο Trizol ( Invitrogen)
2. χλωροφόρμιο (Merck )

3. ισοπροπανόλη (Merck)
4. αιθανόλη 75%
5. νερό επεξεργασμένο με DEPC(Diethyl-Pyrocabonate)

Η απομόνωση του ολικού RNA περιλαμβάνει τα εξής στάδια :[172]

1. Ομογενοποίηση : Τοποθετείται 1 ml Trizol ανα 10 cm<sup>2</sup> επιφάνειας καλλιέργειας κυττάρων μέσα στο τρυβλίο με τα κύτταρα με στόχο να επιτευχθεί λύση αυτών. Ακολουθούν επαναλαμβανόμενες αναδεύσεις με την πιπέτα και στην συνέχεια το διάλυμα μεταφέρεται σε φιαλίδιο τύπου eppendorf.
2. Διαχωρισμός φάσης : Πραγματοποιείται προσθήκη 0.2 ml χλωροφορμίου ανά 1 ml Trizol. Ακολουθεί έντονη ανακίνηση για 15-30 δευτερόλεπτα και επώαση για 2 με 3 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τα δείγματα φυγοκεντρώνται στις 14000 rpm για 25 λεπτά στους 4oC ώστε να γίνει ο διαχωρισμός των φάσεων. Το RNA παραμένει στην ανώτερη υδατική φάση.
3. Καταβύθιση του RNA : Γίνεται μεταφορά της υδατικής φάσης σε καθαρό σωληνάκι και προσθέτονται 0.5 ml ισοπροπανόλης , ακολουθεί ισχυρή ανάδευση , επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στους 4oC στις 1400 rpm.
4. Εκπλυση του RNA : Απομακρύνεται το υπερκείμενο της φυγοκέντρησης και το ίζημα που απομένει περιέχει το RNA. Ακολουθεί πλύση με 1 ml αιθανόλη 75% , ανακίνηση ώστε να γίνει η αποκόλληση του ιζήματος από



τον πάτο του σωληναρίου και φυγοκέντρωση για 5 λεπτά στους 40C στις 14000 rpm.

5. Διαλυτοποίηση του RNA : Το ίζημα αφήνεται με ανοιχτό καπάκι για 5 με 10 λεπτά ώστε να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια αναδιαλύεται σε 30 μl νερού επεξεργασμένου με DEPC.

Η έκφραση των γονιδίων των υποδοχέων ERα, ERβ, GPR30 and EGFR εκτιμήθηκε με την μέθοδο της ποσοτικής αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (qPCR).

### **4.2.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polym ERase Chain Reaction, PCR )**

Η τεχνική PCR είναι μια in vitro μέθοδος και αφορά την επιλεκτική ενίσχυση τμήματος DNA που βρίσκεται ανάμεσα σε δύο περιοχές γνωστής αλληλουχίας με τη χρήση ειδικών συνθετικών ολιγο δεοξυριβονουκλεοτιδίων που ονομάζονται εκκινητές (primers).[173] Οι εκκινητές είναι απόλυτα συμπληρωματικοί με τις δυο μονόκλωνες αλυσίδες εκμαγείου DNA. Εξαίρεση στον προηγούμενο κανόνα αποτελεί η περίπτωση εισαγωγής θέσης περιορισμού στα προϊόντα της αντίδρασης PCR και τότε η συμπληρωματικότητα των εκκινητών με τις δυο αλυσίδες του υποστρώματος δεν φτάνει το 100 %. Το κύριο προϊόν της αντίδρασης PCR είναι δίκλωνο DNA. Τα άκρα του δίκλωνου αυτού DNA καθορίζονται απο τα 5' άκρα των εκκινητών και το ίδιο ουσιαστικά περιλαμβάνει την μεταξύ τους απόσταση.[174] Επιπρόσθετα σε αμελητέα ποσότητα παράγονται

και προϊόντα λίγο μεγαλύτερου μεγέθους τα οποία δεν πολλαπλασιάζονται εκθετικά όπως συμβαίνει με την αλληλουχία στόχο. [175]

Η αντίδραση PCR περιλαμβάνει επαναλαμβανόμενους θερμικούς κύκλους. [176]  
Κάθε κύκλος έχει τρία στάδια :

1. Θερμική αποδιάταξη των αλυσίδων του υποστρώματος DNA σε θερμοκρασία 95°C για 30 με 60 δευτερόλεπτα.
2. Υβριδισμός των μορίων εκκινητών στους συμπληρωματικούς κλώνους του υποστρώματος DNA. Το στάδιο αυτό πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 52 έως 64 °C.
3. Επιμήκυνση των εκκινητών και αντιγραφή τμήματος DNA που θα ενισχυθεί. Πραγματοποιείται σε θερμοκρασία 72°C.

Τα παραπάνω στάδια θέρμανσης - ψύξης επαναλαμβάνονται πολλές φορές (28-40 κύκλοι) με στόχο τον εκθετικό πολλαπλασιασμό του επιθυμητού τμήματος DNA. Πριν από τους θερμικούς κύκλους υπάρχουν δύο κοινά στάδια , ένα αποδιάταξης του DNA στους 95°C για 3 λεπτά και ένα επιμήκυνσης των παραγομένων προϊόντων στους 72°C για 10 λεπτά. Η αντίδραση πολυμερισμού πραγματοποιείται σε θερμικό κυκλοποιητή και το ένζυμο που κατά κανόνα χρησιμοποιείται είναι η Taq πολυμεράση. Το ένζυμο Taq πολυμεράση έχει απομονωθεί από το βακτήριο *Thermus aquaticus* και έχει μέγιστη απόδοση στους 72°C και ο χρόνος ημίσειας ζωής της είναι 40 λεπτά στους 95°C. Το ένζυμο αντιγράφει το DNA με ταχύτητα κατά προσέγγιση 1000 βάσεις ανά λεπτό. Το διάλυμα της αντίδρασης εκτός από το υπόστρωμα DNA περιέχει το ζεύγος εκκινητών , το μίγμα των τεσσάρων τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (

dNTPs) , το ρυθμιστικό διάλυμα που εξασφαλίζει σταθερό pH, ιόντα Mg<sup>2+</sup> και την Taq πολυμεράση. [177]

Για να πραγματοποιηθεί με επιτυχία η τεχνική PCR χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή σε συγκεκριμένα σημεία :[178]

1. Επιλέγεται η κατάλληλη θερμοκρασία πρόσδεσης των εκκινητών στο υπόστρωμα DNA. Η θερμοκρασία αυτή εξαρτάται από το μέγεθος των εκκινητών και την περιεκτικότητά τους σε ζεύγη γουανίνης και κυτοσίνης. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να μην είναι χαμηλότερη της θερμοκρασίας τήξης των εκκινητών γιατί σε αυτή την περίπτωση ευνοείται η παραγωγή μη ειδικών προϊόντων πολυμερισμού. Από την άλλη πλευρά μια θερμοκρασία πολύ υψηλότερη βέλτιστης για ένα δεδομένο ζεύγος εκκινητών είναι πιθανό να μην οδηγήσει σε παραγωγή προϊόντος πολυμερισμού.
2. Είναι σημαντικό η επιλογή του χρόνου επιμήκυνσης των εκκινητών να κυμαίνεται μεταξύ των 30-60 δευτερολέπτων ανάλογα με την απόσταση που υπάρχει ανάμεσα τους και επομένως και με το μέγεθος του προϊόντος πολυμερισμού.
3. Ο αριθμός των κύκλων της αντίδρασης πρέπει να περιορίζεται στους ελάχιστους απαραίτητους έτσι ώστε να αποφευχθεί η δημιουργία λαθών κατά την αντιγραφή και παραγωγή μη ειδικών προϊόντων.

4. Η αρχική ποσότητα του DNA να κυμαίνεται μεταξύ 10-500 ng ανάλογα με την καθαρότητα του και τον αριθμό των αντιγράφων του τμήματος προς ενίσχυση.
5. Η τελική συγκέντρωση του MgCl<sub>2</sub> να κυμαίνεται μεταξύ 1mM και 8mM. Τα ιόντα Mg<sup>2+</sup> είναι σημαντικά για την ειδικότητα της υβριδοποίησης των εκκινητών με το υπόστρωμα DNA και την απόδοση του ενζύμου.
6. Οι εκκινητές είναι ιδανικό να έχουν μήκος 17-30 βάσεις και η τελική τους συγκέντρωση να κυμαίνεται από 0.1 μM έως 1μM. Σε ειδικές περιπτώσεις μπορεί να χρησιμοποιούνται εκκινητές μήκους μέχρι και 60 βάσεων. Οι εκκινητές είναι απαραίτητο να έχουν παρόμοια περιεκτικότητα ζευγών γουανίνης - κυτοσίνης 50-60 %, να μην έχουν συμπληρωματικότητα κυρίως στα 3' άκρα τους προς αποφυγή σχηματισμού ολιγομερών και να μην εμφανίζουν δευτεροταγείς δομές.

Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής PCR σε σχέση με άλλες τεχνικές κλωνοποίησης είναι η ευαισθησία της μεθόδου, η ακρίβεια, το μικρό κόστος, η ευκολία και η ταχύτητα της. [179] Το σημαντικότερο της όμως πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα που έχει να αναγνωρίζει την αλληλουχία που αποτελεί στόχο ακόμα και όταν το αρχικό εκμαγείο DNA βρίσκεται σε μικρή ποσότητα ή καθορισμένη καθαρότητα. [178] Οι ιδανικές συνθήκες της αντίδρασης ποικίλλουν και χρειάζονται βελτιστοποίηση για κάθε ξεχωριστή αντίδραση.

#### **4.2.4 Αλυσιδωτή αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής- RT-PCR ( Reverse Transcription PCR )**

Το RNA υποβάλλεται σε σύνθεση ενός κλώνου cDNA με τη χρήση της αντίστροφης μεταγραφάσης AMV (Avian Myeloblastosis Virus , AMV), η οποία είναι μια RNA εξαρτώμενη DNA πολυμεράση , η οποία συνθέτει τον ένα cDNA κλώνο από το υπόστρωμα μονόκλωνο RNA , στο οποίο πρώτα έχουν υβριδοποιηθεί τα τυχαία συνθετικά μόρια εκκινητών. Το παραγόμενο cDNA μπορεί να πολλαπλασιαστεί περαιτέρω μέσω PCR. [179-180]

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται στην RT-PCR είναι τα ακόλουθα :

1. διάλυμα τυχαίων εκκινητών σε συγκέντρωση 300 ng/μl (Promega)
2. δείγματα ολικού RNA με συγκέντρωση 0.4 ng/μl έως 1000 ng/μl
3. μείγμα dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) με συγκέντρωση 2.5 mM στο καθένα (Promega)
4. ρυθμιστικό διάλυμα 5x (Promega)
5. αναστολέας ριβονουκλεάσης (RNase inhibitor) με συγκέντρωση 40 U/μl (Invitrogen)
6. αντίστροφη μεταγραφάση (AMV) με συγκέντρωση 200 U/μl (Promega)

#### 4.2.5 Περιγραφή της μεθόδου RT-PCR

- Σε ένα μικρό σωλήνα τύπου erpendorf όγκου 0.5 ml, προστίθενται τα ακόλουθα αντιδραστήρια που αποτελούν το μίγμα A :
  1. διαλυμα τυχαίων εκκινητών (1 μl)
  2. δείγμα ολικού RNA (2μl)
  3. ddH<sub>2</sub>O αποστειρωμένο (7μl)
  
- Το δείγμα θερμαίνεται στους 70oC για 5 λεπτά με στόχο να αποδιαταχτούν όλες οι μη μονοκλωνες αλυσίδες RNA και στη συνέχεια ψύχεται στους 4oC απότομα για 5 λεπτά.
  
- Ακολούθως στο ίδιο erpendorf προστίθεται το μίγμα B που περιλαμβάνει τα εξής στοιχεία :
  1. ρυθμιστικό διάλυμα 5x (Promega) (5 μl)
  2. dNTPs (2.5 μl)
  3. αναστολέας ριβονουκλεάσης (1 μl)
  4. AMV
  5. ddH<sub>2</sub>O αποστειρωμένο (5.5μl)
  
- Πραγματοποιείται ήπια ανάμιξη ενώ ο όγκος του δείγματος ανέρχεται σε αυτή τη φάση στα 25 μl.
  
- Το δείγμα θερμαίνεται στους 37oC για μια ώρα ώστε να δράσει η αντίστροφη μεταγραφάση και στη συνέχεια το ένζυμο απενεργοποιείται με επώαση στους 70oC για 10 λεπτά. Ακολουθεί ενίσχυση του cDNA μέσω PCR χρησιμοποιώντας κατάλληλους εκκινητές. [181]

#### 4.2.6 Ανοσοϊστοχημεία

Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημεία για την εκτίμηση των επιπέδων των EGFR , GPR30 και ERα.

Η μέθοδος βασίστηκε στην ειδική αναγνώριση της επιθυμητής πρωτεΐνης από πολυκλωνικό αντίσωμα σε ιστοτεμάχια. Στην μέθοδο αυτή το πρώτο αντίσωμα αναγνωρίζεται ειδικά από δεύτερο αντίσωμα , το οποίο είναι συζευγμένο με τον κατάλληλο ιχνηθέτη , συνήθως ένα ένζυμο όπως η υπεροξειδάση του μαύρου ρεπανιού (Horse-Radish- Peroxidase /HRP).[182] Στη συνέχεια προστίθεται ένα υπόστρωμα η διαμινο-βενζιδίνη (3,3'-Diaminobenzidine,DAB). Το ένζυμο HRP είναι ικανό να μετατρέψει το υπόστρωμα σε ανιχνεύσιμο φωτεινό σήμα με φωτογραφικά (απεικονιστικά ) μέσα. Με τον τρόπο αυτό γίνεται δυνατή η τοπολογική αναγνώριση της πρωτεΐνης στόχου στον ιστό.

#### 4.2.6.1 Υλικά της μεθόδου

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα ακόλουθα :

1. ξυλόλη
2. αιθανόλη
3. διάλυμα PBS 1X ( ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων , NaCl 137mM, KCL 2.7mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O ή 2H<sub>2</sub>O 8mM)
4. διάλυμα 5% BSA (αλβουμίνη ορού βοός) σε PBS
5. πολυκλωνικό αντίσωμα αντι-ERp29
6. SuperPicTure™ Polymer Detection Kit (Invitrogen) : δεύτερο αντίσωμα ,συζευγμένο με HPR και τα υλικά για ανάπτυξη χρωμογόνου.
7. Μέσο στερέωσης

#### 4.2.6.2 Στάδια της μεθόδου

Η μέθοδος περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια :[183]

1. Αποπαραφινοποίηση- ενυδάτωση : πραγματοποιείται αποπαραφινοποίηση του εγκλεισμένου σε παραφίνη ιστού με πλύσιμο σε ξυλόλη δυο φορές από 5 λεπτά , αφού έχει προηγηθεί θέρμανση σε κλίβανο θερμοκρασίας 55-60 οC για 30 λεπτά. Στη συνέχεια ακολουθεί ενυδάτωση του ιστού μέσα από διαδοχικές συγκεντρώσεις αιθανόλης ξεκινώντας από 100% (v/v), 96% (v/v), 70% (v/v) και τέλος πλύση σε απεσταγμένο νερό. Ακολουθεί πλύση για 15 λεπτά σε διάλυμα PBS.



2. Δέσμευση των μη ειδικών θέσεων : αυτό επιτυγχάνεται με προσθήκη διαλύματος 5% BSA για 10 λεπτά ενώ ακολουθεί πλύση σε PBS για 15 επίσης λεπτά.
3. Προσθήκη του πρώτου αντισώματος : γίνεται προσθήκη του πρώτου πολυκλωνικού αντισώματος έναντι της GRP30 σε αραιώση 1:100 σε PBS και επώαση στους 4οC για 12 ώρες. Ακολούθησε πλύση με PBS για 15 λεπτά.
4. Προσθήκη του δεύτερου αντισώματος : πραγματοποιείται προσθήκη του δεύτερου αντισώματος σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά. Ακολουθεί πλύση με PBS για 15 λεπτά.
5. Προσθήκη υποστρώματος : γίνεται έκθεση του ιστού στο διάλυμα του DAB χρωμογόνου για 5 λεπτά και έπειτα πλύση με απεσταγμένο νερό για 5 λεπτά.
6. Συμπληρωματική χρώση : πραγματοποιείται χρώση με αιματοξυλίνη για περίπου 1 λεπτό ώστε να χρωματιστούν οι πυρήνες των κυττάρων με μπλε-μοβ χρώμα. Ακολουθεί ξανά πλύση με απεσταγμένο νερό για 3 λεπτά.
7. Αφυδάτωση του ιστού : εκτελούνται διαδοχικές πλύσεις με αιθανόλη 70% (v/v), 96% (v/v), 100% (v/v) και ξυλόλη 2 φορές η καθεμία από τις οποίες διαρκεί 5 λεπτά.

8. Μονιμοποίηση : γίνεται προσθήκη του μέσου στερέωσης και εφαρμόζεται η καλυπτρίδα με στόχο να παρατηρηθεί ο ιστός στο μικροσκόπιο. [184,185]

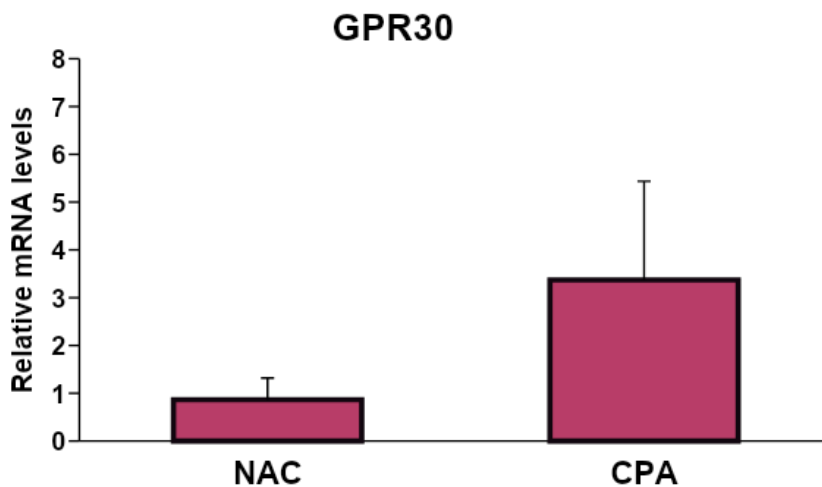
#### **4.2.7 Αποτελέσματα**

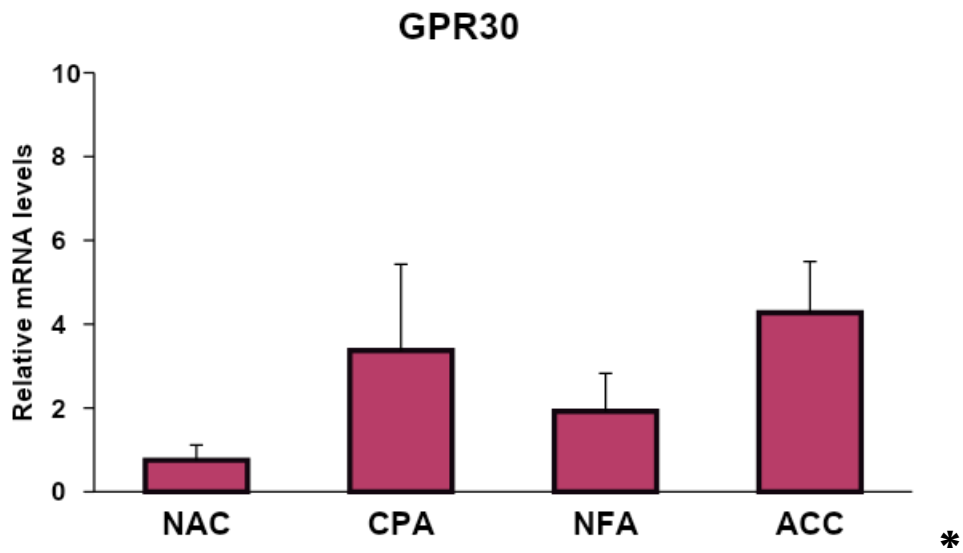
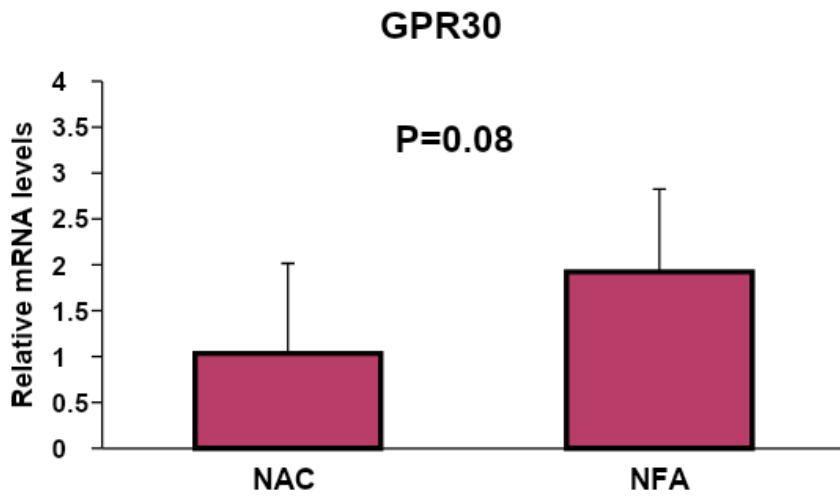
Η έκφραση τόσο των ERα όσο και της GPR30 ήταν υψηλότερη στα αδενώματα που παρήγαγαν κορτιζόλη σε σχέση με τους αντίστοιχους φυσιολογικούς ιστούς ( $p < 0.05$ ) ενώ δεν σημειώθηκε σημαντική διαφορά στην έκφραση των ERβ και EGFR mRNA επιπέδων μεταξύ των αδενωμάτων , λειτουργικών ή μη , και των αντίστοιχων φυσιολογικών επινεφριδιακών ιστών. Η έκφραση της GPR30 ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα μη λειτουργικά αδενώματα και τους φυσιολογικούς ιστούς ( $p < 0.05$ ) και οριακά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα λειτουργικά αδενώματα. Επιπρόσθετα η έκφραση των ERα και EGFR ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα αδενώματα ( $p < 0.1$ ). Ο ανοσοϊστοχημικός έλεγχος ανέδειξε σημαντικά υψηλότερη έκφραση του EGFR στα καρκινώματα σε σχέση με τους καλοήθεις όγκους του φλοιού. Οριακά θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε στην έκφραση των EGFR και GPER-30 στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα.

#### 4.2.8 Συμπέρασμα

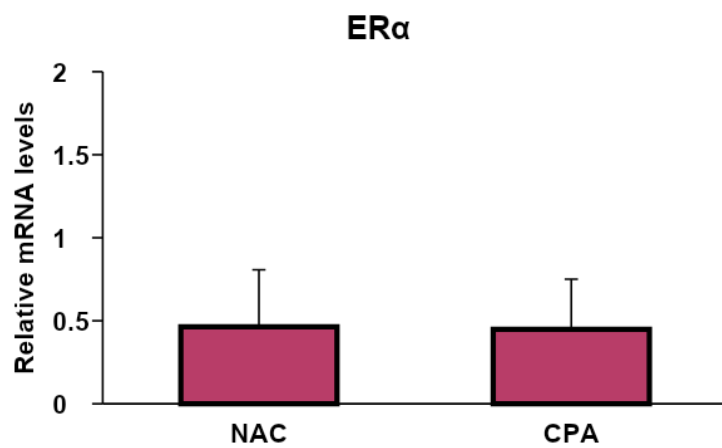
Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η πρώτη που αξιολογεί την έκφραση της μεμβρανικής πρωτεΐνης GPR30 σε φλοιοεπινεφριδιακά νεοπλάσματα σε ανθρώπους. Τα αρχικά μας αποτελέσματα επισημαίνουν τον πιθανό ρόλο των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. Μελλοντικές μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων είναι απαραίτητες ώστε να καθοριστεί ο ακριβής ρόλος των ERs και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος

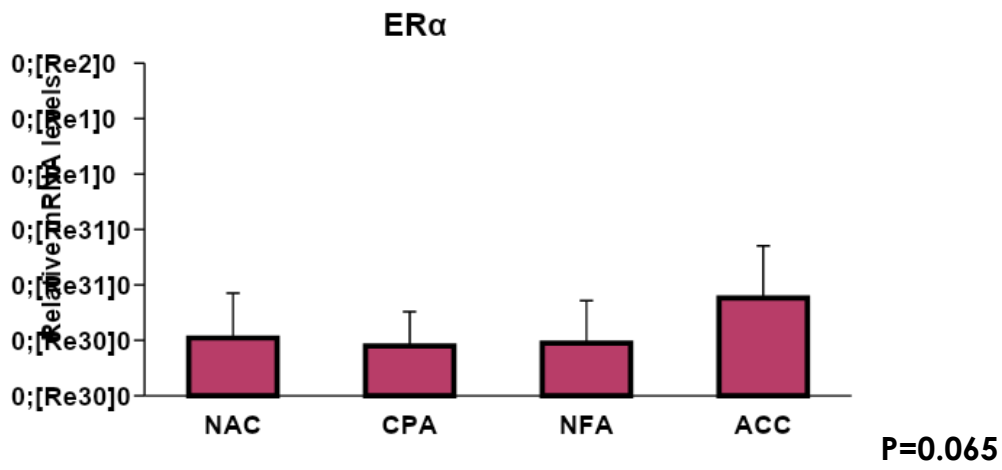
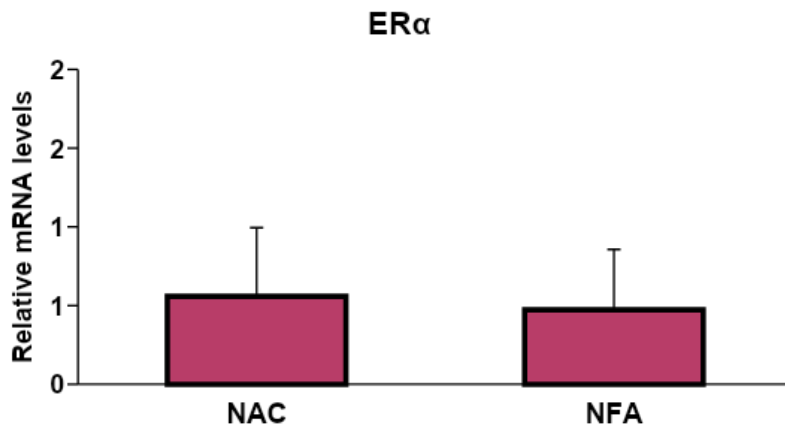
Η GPR30 υπερεκφράστηκε στα επινεφριδιακά νεοπλάσματα σε σχέση με τον φυσιολογικό , γειτονικό στα αδενώματα ,επινεφριδιακό ιστό (NAC) .





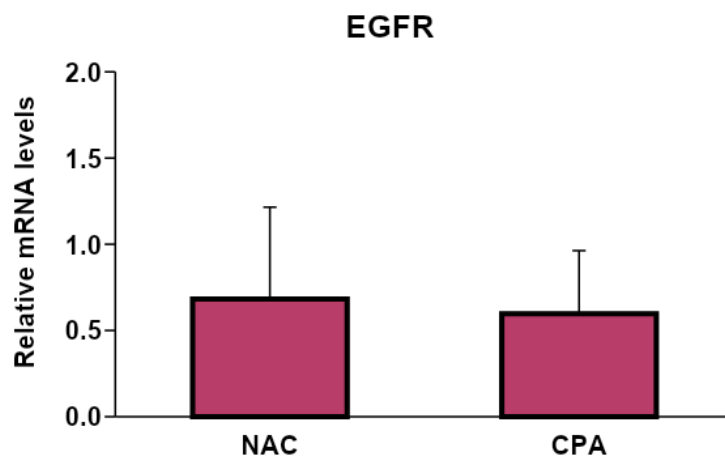
Οι οιστρογονικοί υποδοχείς ERα παρουσίασαν οριακή υπερέκφραση στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα ( ACC ) σε σχέση με τα αδενώματα που είχαν έκκριση κορτιζόλης (CPA) και τα μη λειτουργικά αδενώματα ( NFA)

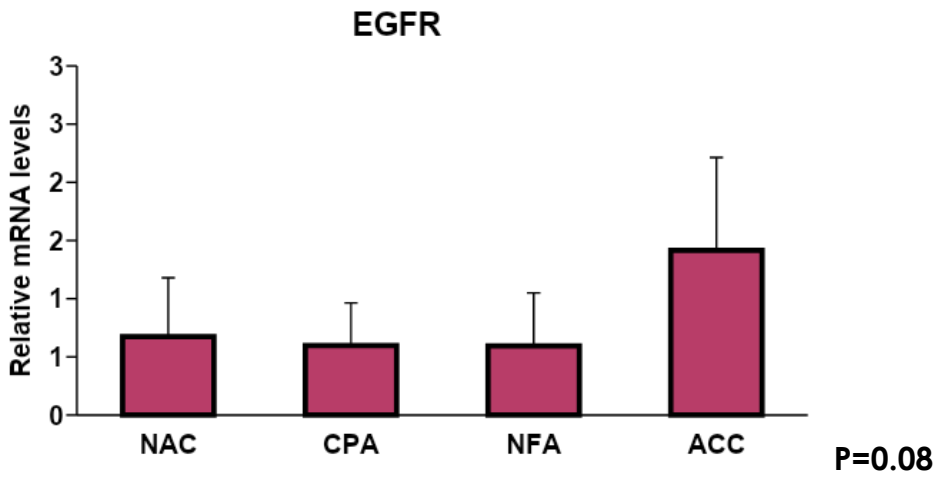
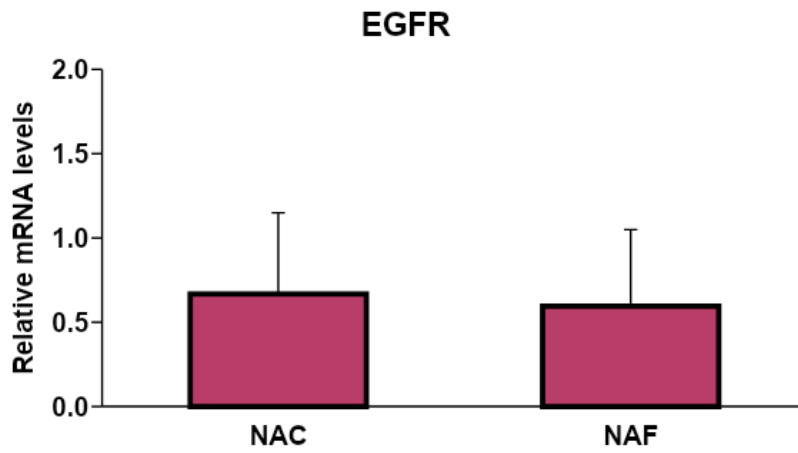




**P=0.08**

Δεν σημειώθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα ERβ mRNA ούτε μεταξύ των αδενωμάτων που εκκρίνουν κορτιζόλη ( CPA) και των μη λειτουργικών αδενωμάτων ( NFA) και του γειτονικού τους φυσιολογικού επινεφριδιακού ιστού ούτε στην ομάδα των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων ( ACC group)  
(EGFR expression was marginally higher in ACC as compared to either CPA or NF)





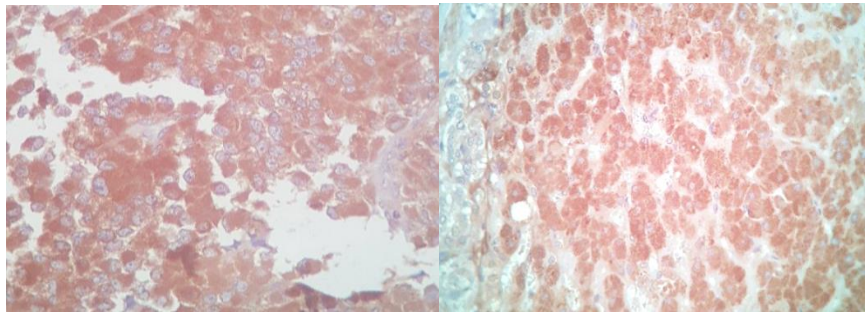
**P=0.08**

(A marginal positive correlation between EGFR and GPR30 expression was observed in ACC)

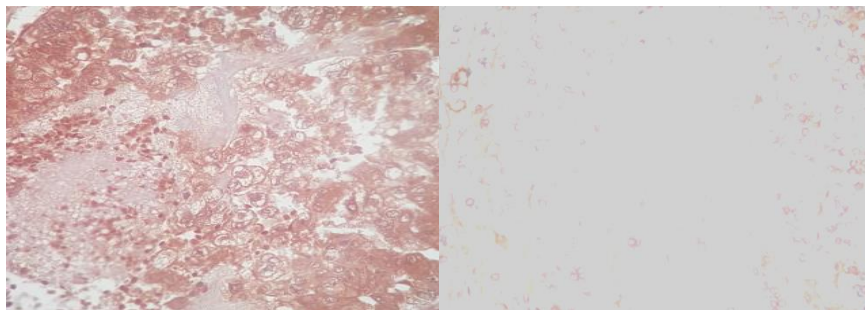


**ER $\alpha$ , GPR30 and EGFR υπερεκφράστηκαν στα ACC σε σχέση με τα ACA**

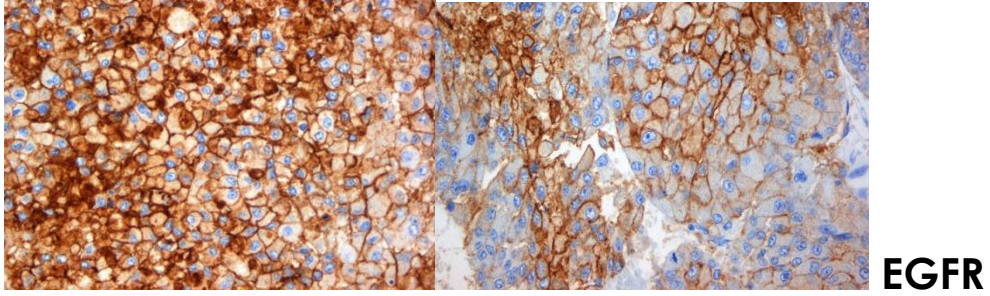
**ACC      ACA (CPA+NFA)**



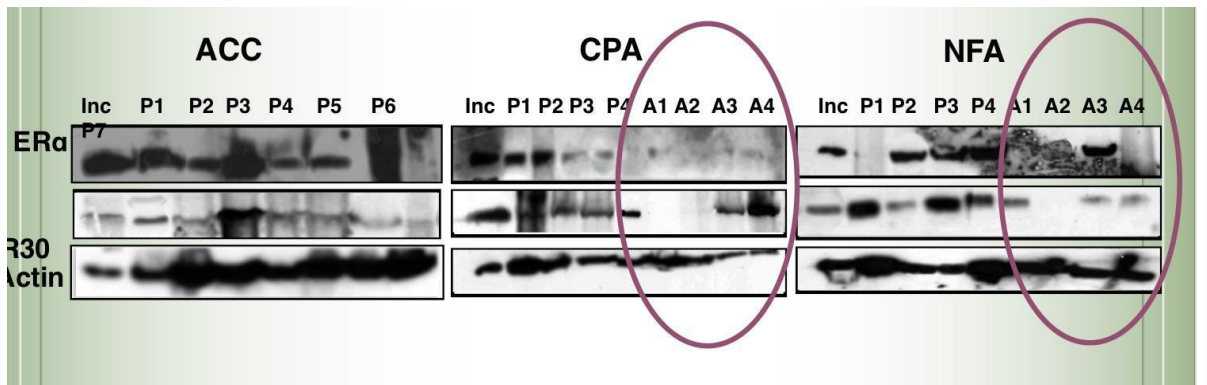
**ER $\alpha$**



**GPR30**

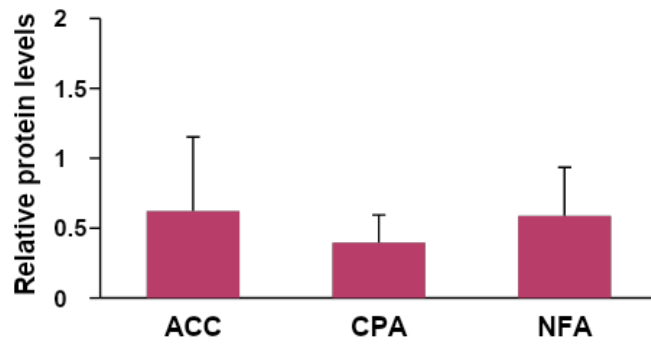


ER $\alpha$  and GPR30 are over-expressed in ACC as compared to ACA

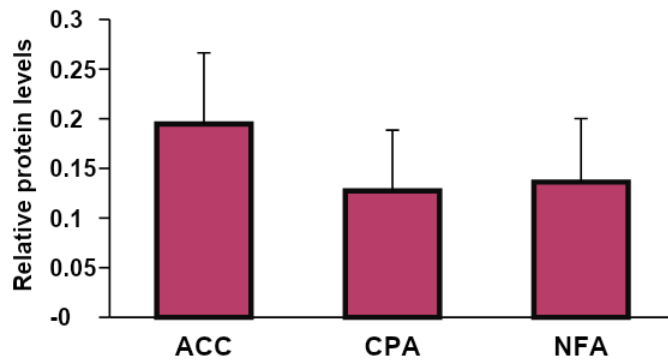


Inc : Internal control  
 P : Pathological tissue  
 A : Adjacent normal tissue

### ER $\alpha$



### GPR30



**Inc** : Internal control

**P** : Pathological tissue

**A** : Adjacent normal tissue

Η GPR30 παρουσίασε υπερέκφραση στα αδενώματα με έκκριση κορτιζόλης (CPA) σε σχέση με τον γειτονικό στα αδενώματα επινεφριδιακό ιστό (adjacent NAC) καθώς και στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACC) σε σχέση με τα μη λειτουργικά αδενώματα (NFA) και τον φυσιολογικό επινεφριδιακό ιστό (NFA) ( $p < 0.1$ )

Οι ERα παρουσίασαν οριακή υπερέκφραση στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACC) σε σχέση με τα αδενώματα με έκκριση κορτιζόλης (CPA) και με τα μη λειτουργικά αδενώματα (NFA) ( $p < 0.1$ ).

Δεν σημειώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα των ERβ mRNA ούτε μεταξύ των αδενωμάτων που παράγουν κορτιζόλη (CPA) ή των μη λειτουργικών αδενωμάτων (NFA) και των γειτονικών με αυτά επινεφριδιακών ιστών ούτε μεταξύ των ανωτέρω (CPA, NFA or normal tissues) και των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων (ACC).

Η έκφραση του EGFR ήταν οριακά υψηλότερη στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα ACC σε σχέση με τα αδενώματα που εκκρίνουν κορτιζόλη και τα μη λειτουργικά αδενώματα (CPA or NFA).

Στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACC) διαπιστώθηκε μια οριακή θετική συσχέτιση μεταξύ του EGFR και της GPER30.

Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και σε επίπεδο πρωτεϊνών.

Τα δεδομένα μας ανέδειξαν ένα πιθανό ρόλο των GPR30 and EGFR στην ανάπτυξη φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.

Περαιτέρω πειράματα θα επιβεβαιώσουν και ενδεχομένως θα ανακαλύψουν την πιθανή αιτιολογική συσχέτιση ανάμεσα στην υπερέκφραση των GPR30, EGFR και της δημιουργίας καρκίνου στον φλοιό των επινεφριδίων.

## 5. Συζήτηση

Το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα είναι ένας ιδιαίτερα σπάνιος και επιθετικός όγκος με χαμηλά ποσοστά επιβίωσης.[186] Συχνά η διάκριση ενός κακοήθους από τους καλοήθεις όγκους των επινεφριδίων είναι δύσκολη ακόμα και μετά από τη μελέτη της ιστολογικής τους ταυτότητας.[187] Τα κριτήρια που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι στιγμής για την διάκριση ενός καλοήθους από έναν κακοήθη όγκο του φλοιού των επινεφριδίων δεν έχουν ικανοποιητική ακρίβεια στο να καθορίσουν το κακόηθες δυναμικό του όγκου. [188] Να σημειωθεί ότι η διάκριση μεταξύ φλοιοεπινεφριδιακού αδενώματος και καρκινώματος είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς η αντιμετώπιση και η πορεία τους είναι εντελώς διαφορετική.

Στην παρούσα φάση, τα μόνα αποδεκτά κριτήρια που δηλώνουν την ύπαρξη κακοήθειας είναι η διήθηση των γύρω ιστών και η παρουσία σύγχρονων ή μετάχρονων μεταστάσεων. [189] Η παρουσία τοπικής υποτροπής στις επανεπεμβάσεις δεν αποτελεί απόλυτο κριτήριο παρουσίας κακοήθειας καθώς η διεγχειρητική ρήξη της κάψας στην αρχική επέμβαση ακόμα και σε έναν καλοήθη όγκο μπορεί να προκαλέσει τοπική διασπορά της νόσου με σταδιακή αύξηση του μεγέθους και διήθηση ιστών που θυμίζει την διήθηση που προκαλούν οι κακοήθεις όγκοι. [190] Οι πρωτοπαθείς όγκοι του φλοιού των επινεφριδίων μπορεί να δώσουν μεταστάσεις στους πνεύμονες , στο ήπαρ, στο περιτόναιο , στα οστά , στο άλλο επινεφρίδιο και στον εγκέφαλο. [191] Επειδή δεν υπάρχουν ειδικά κριτήρια για την διαγνώση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος , ο συνδυασμός διαφόρων παραμέτρων κρίνεται απαραίτητος έτσι ώστε να επιτευχθεί η τελική διάγνωση.

Το μεγάλο μέγεθος αποτελεί ένα κριτήριο για την πιθανή παρουσία κακοήθειας. Μεγάλοι επινεφριδιακοί όγκοι συνήθως είναι κακοήθεις.[192] Τα όρια του μεγέθους που αυξάνουν σημαντικά την πιθανότητα παρουσίας κακοήθειας είναι μια διάμετρος μεταξύ των 7-10 εκατοστών.[193] Το μέγεθος που υποδηλώνει την παρουσία κακοήθειας μπορεί να είναι μικρότερο σε όγκους που εκκρίνουν ανδρογόνα σε σχέση με άλλους όγκους του φλοιού.[194] Μόνο το 3% των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων έχει μέγεθος μικρότερο από 4 εκατοστά. Παρόλα αυτά το μέγεθος μιας κακοήθειας ποικίλλει και έχουν αναφερθεί καρκίνοι φλοιού επινεφριδίων που ήταν μικρότεροι από 1 εκατοστό.[195] Συγκεκριμένα ο κίνδυνος παρουσίας καρκίνου φλοιού επινεφριδίου είναι 2% σε όγκους μέχρι 4 εκατοστά, 6% σε όγκους 4 με 6 εκατοστά, και 25 % σε όγκους μεγαλύτερους των 6 εκατοστών.[196] Το μέγεθος της επινεφριδιακής μάζας, το οποίο καθορίζεται προεγχειρητικά με αξονική ή μαγνητική τομογραφία κοιλίας, αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη αν και όχι τον καλύτερο για την πρόβλεψη της ιστολογικής ταυτότητας του επινεφριδιακού όγκου.[197] Η μέτρηση των μονάδων Hounsfield (Hounsfield units -HU) στην αξονική τομογραφία κοιλίας (CT) είναι συχνά καθοριστική για τη διάκριση μεταξύ καλοήθους και κακοήθους μάζας των επινεφριδίων. Η χαρακτηριστική τιμή των 10 HU έχει ευαισθησία και ειδικότητα 71% και 98% αντίστοιχα στο να καθορίζει την καλοήθη ή την κακοήθη φύση μιας επινεφριδιακής μάζας.. Η καθυστερημένη έκπλυση του σκιαγραφικού στην αξονική κοιλίας (CT with delayed contrast media washout analysis) είναι δυνατόν να βελτιώσει την διαγνωστική ακρίβεια της μεθόδου. Επινεφριδιακοί όγκοι με πυκνότητα στην αξονική κοιλίας >10 HU, έκπλυση του σκιαγραφικού <50% (a wash out <50%), και απόλυτη τιμή >35% HU στα 10-15 λεπτά μετά την χορήγηση σκιαγραφικού είναι ιδιαίτερα ύποπτα για την παρουσία κακοήθειας.[198] Η παρουσία νεκρώσεων ή αιμορραγικής διήθησης, η τοπική διήθηση γειτονικών ιστών ή οργάνων, ιδίως εντός της κάτω κοίλης φλέβας με

δημιουργία θρόμβου όπως επίσης και η παρουσία ύποπτων για διήθηση λεμφαδένων αυξάνουν την πιθανότητα παρουσίας φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. [199] Η ακριβής περιγραφή της επιφάνειας διατομής του όγκου ( the cut surface of the tumor ) είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανίχνευση εστιών νέκρωσης ή αιμορραγίας τα οποία χαρακτηρίζουν τους κακοήθεις όγκους και σπάνια συναντιούνται σε καλοήγη αδενώματα του φλοιού των επινεφριδίων.[200] Η παρουσία τόσο νεκρώσεων όσο και αιμορραγίας αποτελεί ισχυρό δείκτη ύπαρξης κακοήθειας. Υπάρχουν παρόλα αυτά περιπτώσεις φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος που δεν εμφανίζουν αυτά τα χαρακτηριστικά. [201] Όσον αφορά το μέγεθος, τα περισσότερα αδενώματα του φλοιού των επινεφριδίων ζυγίζουν λιγότερο από 50 γραμμάρια. Το βάρος τους παρόλα αυτά μπορεί να είναι και πολύ μεγαλύτερο. Οριακά βάρη για την διάκριση μεταξύ καλοήθειας και κακοήθειας θεωρούνται αυτά που κυμαίνονται ανάμεσα στα 50 και 100 γραμμάρια. Τα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα είναι τυπικά όγκοι μεγαλύτεροι, με βάρος που υπερβαίνει τα 100 γραμμάρια. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι όγκοι μικρότεροι από 50 γραμμάρια μπορεί να εμφανίζουν μια δυναμική δημιουργίας μεταστάσεων καθώς και ένα μικρό ποσοστό όγκων μεγαλύτερων από 1000 γραμμάρια μπορεί να μην έχουν αυτή τη δυναμική. [200] Στην δική μας σειρά το μέσο μέγεθος των όγκων ήταν τα 9 εκατοστά στην μέγιστη διάμετρο τους (IQR 3.5-22 cm) ενώ το βάρος τους κυμάνθηκε από τα 18 στα 1400 γραμμάρια με μέσο βάρος τα 127 γραμμάρια. Παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους του όγκου (tumor volume ,  $p=0.011$ ,  $r=0.418$ ), της διαμέτρου ( $p=0.005$ ,  $r=0.449$ ), του βάρους του ( $p=0.04$ ,  $r=0.339$ ) και του Weiss score.

Η σταδιοποίηση των φλοιοεπινεφριδιακών όγκων με βάση το European Network for the Study of Adrenal Tumors (ENSAT -staging) παρουσιάζει μεγαλύτερη διαγνωστική ακρίβεια σε σχέση με την σταδιοποίηση των International Union Against Cancer staging classification for ACC.[201] Η σταδιοποίηση με βάση το

ENSAT staging system (tumor-node-metastasis /TNM classification) ορίζει ως στάδιο I τα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα που έχουν μέγιστη διάμετρο < 5 εκατοστά και περιορίζονται στον αδένα του επινεφριδίου (T1,N0,M0), στάδιο II όγκους >5 εκ χωρίς επέκταση εκτός του επινεφριδίου (T2,N0,M0), στάδιο III όγκους με σύγχρονη παρουσία διηθημένων λεμφαδένων ή διήθηση γειτονικών οργάνων ή ιστών ή παρουσία θρόμβου μέσα στην κάτω κοίλη φλέβα ή τη νεφρική φλέβα (T1-T2,N1,M0/T3-T4,N0-N1,M0), ενώ το στάδιο IV περιλαμβάνει μόνο ασθενείς με απομακρυσμένες μεταστάσεις (T1-T4,N0-N1,M1). [202]

Πρόσφατα η σταδιοποίηση κατά ENSAT ( ENSAT classification of TNM stages) και αξιολόγηση της ριζικής ή όχι εκτομής του όγκου ανανεώθηκαν και επαναπροσδιόρισαν την πρόγνωση της νόσου αναλύοντας ανεξάρτητα την κατάσταση των λεμφαδένων και τη διήθηση των φλεβων καθώς και τον αριθμό των οργάνων που είναι διηθημένα από τον όγκο.[203]

Η σταδιοποίηση κατά mENSAT ( mENSAT classification ) ορίζει το στάδιο III ως T3-4N0M0 και το στάδιο IV ανάλογα με τον αριθμό των οργάνων που είναι διηθημένα από το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα IVa: 2, IVb: 3, IVc>3 όργανα. [204]

Η ιστολογική διάγνωση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος βασίζεται στην αναγνώριση διαφόρων μορφολογικών παραμέτρων καμία από τις οποίες από μόνη της δεν είναι παθογνωμονική για την παρουσία κακοήθειας. Για τον λόγο αυτό , πραγματοποιείται ένας συνδυασμός αυτών των παραμέτρων και διαμορφώνονται κάποια συστήματα βαθμονόμησης (scoring systems ). Τα συστήματα αυτά περιλαμβάνουν μικροσκοπικά και μακροσκοπικά κριτήρια.[205]

Το Weiss score παρουσιάστηκε και εφαρμόστηκε πρώτη φορά το 1984, αργότερα αναθεωρήθηκε και τροποποιήθηκε το 2002 στην μορφή που έχει και σήμερα και χρησιμοποιείται στην πράξη για την επιβεβαίωση της διάγνωσης του



φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.[206] Περιλαμβάνει 9 ιστολογικές παραμέτρους : 3 από αυτές σχετίζονται με την δομή του όγκου (παρουσία νεκρώσεων , διαταραχή αρχιτεκτονικής, ποσοστό καθαρών κυττάρων), άλλες 3 σχετίζονται με την δομή των κυττάρων ( άτυπες μιτώσεις ,αριθμός μιτώσεων, υψηλή διαφοροποίηση πυρήνα) και οι υπόλοιπες 3 σχετίζονται με τη διήθηση ( διήθηση αγγείων , διήθηση τριχοειδών , διήθηση κάψας) [207, 208]

Σύμφωνα με το σύστημα Weiss, ένας όγκος του φλοιού των επινεφριδίων ορίζεται ως καρκίνωμα όταν παρουσιάζει τουλάχιστον τρία από τα παραπάνω κριτήρια. Η παρουσία τριών ή περισσότερων από τα κριτήρια Weiss έχει ειδικότητα >95% και ειδικότητα 100% για την διάγνωση κακοήθειας σε πολλές σειρές.[209] Παρολα αυτά υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν ότι όγκοι με 3 κριτήρια στο Weiss score διατήρησαν καλόηθες προφίλ στην πορεία της νόσου των ασθενών , ενώ περιπτώσεις όγκων με σκορ 2 παρουσίασαν κακοήθη συμπεριφορά κατά τη διάρκεια του follow up. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει μια αδυναμία του συστήματος βαθμονόμησης , Weiss score system, στο να καθορίσει με ακριβεια την ταυτότητα των όγκων ειδικα στις οριακές περιπτώσεις των φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων.[210]

Το σύστημα βαθμονόμησης Lin-Weiss-Bisceglia score δημιουργήθηκε ειδικά για τα ογκοκυτταρικά νεοπλάσματα (10% of ACCs) και προτάθηκε από τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας (WHO ) το 2017 [30]. Πρόσφατα το Helsinki score προτάθηκε ως το πιο αξιόπιστο σύστημα βαθμονόμησης για όλους τους τύπους των φλοιοεπινεφριδιακών όγκων.

Το σύστημα Helsinki περιλαμβάνει δύο κριτήρια από το σύστημα Weiss τα οποία πολλαπλασιάζονται ( νεκρώσεις x5 και αριθμός μιτώσεων x3) και τον δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 ο οποίος καταγράφεται από ανάλυση της

εικόνας σε υπολογιστή. [211] Το Helsinki score, με μια οριακή τιμή (cut-off value) 8.5, έχει τη δυνατότητα να διαγνώσει ένα μεταστατικό φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα με 100% ευαισθησία και 99.4% ειδικότητα.[212]

Το σκορ του συστήματος αυτού έχει επίσης συσχέτιση με την επιβίωση.

Διαιρώντας τους ασθενείς σε τρεις ομάδες παρατηρείται σημαντική διαφορά στην επιβίωση των ασθενών :

- ομάδα 1: καλοήθεις όγκοι με Helsinki score 0 με 8.5),
- ομάδα 2 : κακοήθεις όγκοι με Helsinki score 8.5 με 17)
- ομάδα 3: κακοήθεις όγκοι με Helsinki score >17 [213]

Στην δική μας σειρά Weiss score >5 (p=0.001) και Helsinki score >8 (p=0.06) είχαν σημαντική συσχέτιση με την συνολική επιβίωση σε μονοπαραγοντική ανάλυση (univariable analysis).

Για να ξεπεραστούν οι περιορισμοί των συστημάτων βαθμονόμησης πολλοί ερευνητές αναζητούν εντατικά ανοσοϊστοχημικούς δείκτες ειδικούς για την παρουσία κακοήθειας.[214] Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί ο ιδανικός για το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα ανοσοϊστοχημικός δείκτης που θα μπορούσε από μόνος του να θέσει τη διάγνωση. Για τον λόγο αυτό μέχρι στιγμής χρησιμοποιούνται συνδυασμοί ανοσοϊστοχημικών δεικτών με στόχο την επιβεβαίωση της διάγνωσης.

Ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki 67 (Ki 67 Proliferation Index (PI)), μια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στον διπλασιασμό του DNA , συνδέεται άμεσα με την ικανότητα πολλαπλασιασμού ενός ιστού. [215] Έχει αναγνωριστεί ως ένας χρήσιμος δείκτης για τη διάγνωση κακοήθειας στους όγκους του φλοιού των επινεφριδίων. Παρολα αυτά κάποιες αλληλοεπικαλύψεις μεταξύ καλοήθων και κακοήθων όγκων στις τιμές του Ki67 έχουν αναφερθεί. Ο δείκτης κυτταρικού

πολλαπλασιασμού αποτελεί σημαντικό προγνωστικό δείκτη στο εντοπισμένο φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα.

Όταν η τιμή του Ki 67 με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας εκτιμάται να είναι >10% μπορεί να ξεχωρίσει όγκους που έχουν υψηλότερο κίνδυνο για τοπική υποτροπή και ενδεχομένως να επωφεληθούν από συμπληρωματική θεραπεία.

[216] Υψηλά επίπεδα Ki-67 έχουν επίσης συσχετιστεί με χειρότερη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο και συμβάλλουν στις αποφάσεις για τον καθορισμό της θεραπείας. [217]

Ο Zlatibor και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τιμές Ki67 >7% παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με μικρότερη διάρκεια επιβίωσης σε ασθενείς με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. [218] Στην δική μας σειρά ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού κυμάνθηκε από 1% έως >70% και η έκφραση του παρουσίασε θετική συσχέτιση με το Weiss score ( $p=0.14, r=0.383$ ) και ιδιαίτερα σημαντική συσχέτιση με το Helsinki score ( $p<0.001, r=0.979$ ).

Η Inhibin – a είναι ένας ανοσοϊστοχημικός δείκτης ο οποίος χρησιμοποιείται καιρό στην διαφορική διάγνωση των νεοπλασμάτων του φλοιού των επινεφριδίων καθώς εμφανίζει σταθερή ανοσοαντίδραση σε φυσιολογικό φλοιό επινεφριδίων, σε υπερπλασία φλοιού και σε όγκους του φλοιού των επινεφριδίων. [219] Κωδικοποιείται από την INHA και δημιουργεί την inhibin A και την inhibin B. Η δράση της INHA ως ογκοκατασταλτική στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα παραμένει αμφιλεγόμενη ,καθώς μπορεί να απουσιάζει από επιβεβαιωμένα καρκινώματα ή να εκφράζεται σε άλλες νόσους. [220] Πρόσφατη μελέτη αναδεικνύει πως ένα ελεύθερο πεπτίδιο από την inhibin-a, η inhibin pro-aC, βρέθηκε αυξημένη σε ασθενείς με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα και προτείνουν τη χρήση του ως καρκινικό δείκτη για τα καρκινώματα του φλοιού των επινεφριδίων. Παρόλα αυτά και το συγκεκριμένο πεπτίδιο μπορεί να είναι

αρνητικό σε μικρό ποσοστό ασθενών με ACCs. [221] Ο Weissferdt και συνεργάτες έδειξαν έντονα θετική έκφραση στο 92.5% των περιπτώσεων ACC. [222] Στην δική μας σειρά η Inhibin-a ήταν θετική στο 91.11% των περιπτώσεων και η συσχέτιση της υπερέκφρασης της με το Weiss score έδειξε τάση για στατιστική σημαντικότητα.

Η Melan A (MART-1) είναι ένας ανοσοϊστοχημικός δείκτης που εκφράζεται κυρίως στα κακοήθη μελανώματα αλλά εκφράζεται και σε μια σειρά ιστών που παράγουν στεροειδή και των αντίστοιχων όγκων τους. Σε αυτούς τους όγκους περιλαμβάνεται και το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. [223] Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι η ανοσοαντίδραση στην melan A στους όγκους του φλοιού των επινεφριδίων μπορεί να οφείλεται σε διασταυρούμενη αντίδραση με άλλους επίτοπους παρά γνήσια έκφραση της και κάποιες φορές η έκφραση της μπορεί να μην είναι διάχυτη αλλά αδύναμη και ανομοιόμορφη. [224]

Τα ποσοστά ειδικότητας και ευαισθησίας της ανοσοϊστοχημείας για την Melan A είναι πολύ υψηλά με την προϋπόθεση να έχει αποκλειστεί η διάγνωση του πρωτοπαθούς μελανώματος ή του επινεφριδιακού PEComa ( malignant perivascular epithelioid cell tumor) με την χρήση άλλων ειδικών για αυτά δεικτών. [225] Οι Zhang και συνεργάτες έδειξαν θετική ανοσοαντίδραση στην Melan A στο 89% των ασθενών με όγκο του φλοιού των επινεφριδίων [226] Στην σειρά μας η Melan A ήταν θετική στο 75.5% των περιπτώσεων.

Η Calretinin είναι ένας ανοσοϊστοχημικός δείκτης ο οποίος συνήθως εκφράζεται στο κακόηθες μεσοθηλίωμα αλλά έχει φανεί πως εκφράζεται και σε όγκους που εκκρίνουν στεροειδή όπως οι όγκοι του φλοιού των επινεφριδίων. [227] Φαίνεται πως αποτελεί έναν σταθερό δείκτη για το ACC και διάφορες σειρές παρουσιάζουν μια έκφραση της Calretinin στο 70%-98% των περιπτώσεων. [228]

Οι Weissferdt και συνεργάτες έδειξαν σημαντική έκφραση Calretinin στο 80% των καρκινωμάτων του φλοιού της σειράς τους. [229] Στην δική μας σειρά η Calretinin εκφράστηκε στο 88.8 % των περιπτώσεων φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.

Η Synaptophysin και η Chromogranin A είναι δείκτες που εκφράζονται ιδιαίτερα στα φαιοχρωμοκυττώματα και αναδεικνύουν την νευροενδοκρινή φύση αυτών των όγκων.[230] Τα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα είναι συνήθως αρνητικά για την Chromogranin A και θετικά σε μεγάλο ποσοστό για την synaptophysin , όπως έχει περιγραφεί σε πολλές μελέτες. Η έκφραση της Synaptophysin σε συνδυασμό με αρνητική χρωμογρανίνη ενισχύει την προέλευση του όγκου από κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων. Παρόμοια αποτελέσματα είχαμε και στη δική μας σειρά όπου η Chromogranin A ήταν αρνητική στο 97.6% των περιπτώσεων και η Synaptophysin ήταν θετική στο 88.6% των περιπτώσεων. Η ανάλυση των δεδομένων μας ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ του Weiss score και της έκφρασης της synaptophysin ( $p=0.07$ ).[231,232]

Η έκφραση του Sf1 (Steroid factor-1) είναι ειδική για τον φλοιό των επινεφριδίων. Παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ιστών που παράγουν στεροειδή και εμπλέκεται στην ρύθμιση της λειτουργίας της σύνθεσης των στεροειδικών ορμονών. [233] Θεωρείται ως ο καλύτερος δείκτης για την αναγνώριση των όγκων του φλοιού και αυτό γιατί δεν βασίζεται μόνο στην υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα του αλλά και στο γεγονός ότι δεν εκφράζεται σε όγκους που δεν εκκρίνουν στεροειδή όπως τα φαιοχρωμοκυττώματα και οι μεταστάσεις στα επινεφρίδια από όγκους άλλων οργάνων.

Στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα το πλαίσιο του κυττάρου ( cellular context) μοιάζει περισσότερο με τον εμβρυϊκό φαινότυπο ενεργοποιώντας την ανάπτυξη του επινεφριδίου. [234] Επιπρόσθετα φαίνεται πως η έκφραση του Sf1 δεν έχει καμία σχέση με την ορμονική έκκριση των όγκων και αυτό ενισχύει την άποψη

ότι στους επινεφριδιακούς όγκους η δράση του Sf1 έχει περισσότερο σχέση με την ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και την απόπτωση και όχι με την στεροειδογένεση.[235] Ο Sbi ERα και οι συνεργάτες του έδειξαν πως η ευαισθησία , η ειδικότητα , η θετική προγνωστική αξία και η αρνητική προγνωστική αξία του SF-1 στην ανίχνευση του ACC ήταν 98.6%,100%,100% και 97,3% ,αντίστοιχα. [236] Στην δική μας σειρά η έκφραση του SF-1 μετρήθηκε μόνο σε λίγες πρόσφατες περιπτώσεις , οπότε η έκφραση του δεν συμπεριλήφθηκε στην στατιστική ανάλυση.

Σχετικά με την επίδραση των οιστρογόνων στο ACC μέσω της δράσης τους στους ERs,μια μελέτη έχει δείξει ότι στα καρκινώματα επινεφριδίων (ACC) απουσιάζει ο ERα και αυξάνεται η έκφραση του ERβ όπως αξιολογήθηκε με ανοσοιστοχημεία [163] .Άλλες μελέτες έχει δείξει ότι υπάρχει γενικά μια μείωση της έκφρασης του ER κατά την εξέλιξη του καρκίνου του επινεφριδίου [167,168].

Επιπλέον, καταδεικνύουν χαμηλά επίπεδα ERβ και/ή υψηλά επίπεδα ERα σε διάφορες περιπτώσεις καρκίνου επινεφριδίου, με αποτέλεσμα να οδηγούν σε υψηλό λόγο ERα/ERβ σε σχέση με τον υγιή ιστό [165].

Αντιθέτως, σε μία καρκινική κυτταρική σειρά NCI-H295R φλοιού επινεφριδίων βρέθηκε υψηλότερη έκφραση του ERβ σε σχέση με τον ERα ενώ στην ίδια μελέτη η χορήγηση ταμοξιφαίνης, μείωσε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό [169].

Μια πρόσφατη *in vitro* μελέτη έδειξε αν και η έκφραση των ERα και ERβ υποδοχέων ήταν μικρή, ωστόσο η ταμοξιφαίνη άσκησε κυτταροτοξική δράση στην καρκινική φλοιεπινεφριδιακή κυτταρική σειρά NCI-H295R [237]

Μάλιστα η έκθεση στο φάρμακο οδήγησε σε μετακίνηση του ERβ στον πυρήνα ενώ δεν άλλαξε η κατανομή του ERα σε κυτοσόλιο-πυρήνα. Σύμφωνα με τους συγγραφείς φαίνεται ότι η κυτταροτοξική και αντι-πολλαπλασιαστική δράση της ταμοξιφαίνης μάλλον ασκείται μέσω της σύνδεσής της με τον ERβ. Αυτό είχε

δειχθεί και σε προηγούμενη μελέτη [238]. Αυτό ας σημειωθεί ότι έρχεται σε συμφωνία και με αποτελέσματα από καρκινικές κυτταρικές σειρές μαστού που εκφράζουν σταθερά τον ERβ, και που αυτός ο υποδοχέας ρυθμίζει πολλά γονίδια που μειώνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό [166].

Στην ίδια μελέτη οι συγγραφείς καταλήγουν ότι ο ERβ ασκεί προστατευτικό ρόλο μειώνοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγοντας την κυτταρική διαφοροποίηση όπως συμβαίνει σε πολλούς ιστούς και όργανα, είτε υπό φυσιολογικές συνθήκες είτε κατά την καρκινική εξαλλαγή [166]. Ωστόσο τα αποτελέσματα αυτά αφορούσαν μόνο το κυτταρικό καρκινικό (ACC) μοντέλο πρωτοπαθούς όγκου και όχι τα κυτταρικά μοντέλα μεταστατικού φλοιοεπινεφριδιακού όγκου, τα οποία εξέφραζαν ελάχιστα τις δύο ισομορφές του ER και ήταν ανθεκτικά στην χορήγηση ταμοξιφαίνης. Η κλινική σημασία των ευρημάτων τους μειώθηκε γιατί η ανοσοιστοχημική ανάλυση των πρωτοπαθών ACC ανθρώπινων ιστών έδειξε πάρα πολύ μειωμένη έκφραση των δύο ανωτέρω ισομορφών του ER. Επίσης και οι ανθρώπινοι μεταστατικοί ιστοί δεν εξέφραζαν σχεδόν καθόλου ERα και ERβ, μειώνοντας επίσης την κλινική αξία χορήγησης του SERM ταμοξιφαίνης.

Σε μια άλλη μελέτη οι συγγραφείς αξιολόγησαν την παρουσία υποδοχέων προγεστερόνης (PR), υποδοχείς εστραδιόλης (ER), και αρωματάσης σε 5 ασθενείς με πρωτοπαθής μελαγχρωματική οζώδη νόσο των επινεφριδίων (PPNAD), 15 αδενώματα φλοιού επινεφριδίου (ACAs) και παρακείμενους φυσιολογικούς ιστούς, 12 φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACCs) και 3 φυσιολογικούς επινεφριδιακούς αδένες (NA). Η έκφραση των PRs και των ERα αξιολογήθηκε από ενζυμική ανοσοδοκιμασία, real time RT-PCR, ανοσοιστοχημεία και cytosol based ligand binding δοκιμασία. Τα επίπεδα των ERβ και της αρωματάσης αξιολογήθηκαν μέσω real time RT-PCR. Τα επίπεδα των ERα ήταν χαμηλά στα

NA, στους παρακείμενους των ACA φυσιολογικούς επινεφριδιακούς ιστούς(51+/-33), στα ACC(53+/-78) και χαμηλότερα στα αδενώματα του φλοιού (ACAs) (11+/-11fmol/mgDNA). Αντίθετα, η συγκέντρωση των PRs ήταν υψηλές στα NA και στους παρακείμενους στα ACA ιστούς(307+/-216fmol/mg DNA) και ήταν ακόμα υψηλότερα σε αδενώματα φλοιού(ACAs) (726+/-706fmol/mgDNA) και 1154+/-1586fmol/mgDNA στα ACC και σε PPNAD όζους. Σε ασθενείς με PPNAD ισχυρά θετικό ανοσοιστοχημικό σήμα σχετιζόταν αποκλειστικά με τις απομονωμένες οζώδεις περιοχές. Τα επίπεδα αντιγράφων ERβ ήταν πολύ υψηλά σε όλα τα δείγματα εκτός από εκείνα τα ACCs όπου τα επίπεδα αρωματάσης ήταν χαμηλά. PR και ERβ είναι ξεκάθαρα παρόντα σε φυσιολογικό επινεφριδιακό ιστό και σε όγκους επινεφριδίων. Περαιτέρω μελέτες ίσως ρίξουν φως σε πιθανή παθολογικό ρόλο αυτών των υποδοχέων στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό του επινεφριδίου. [239]

Παρολαυτά όμως επειδή οι κλασσικοί οιστρογονικοί υποδοχείς(ERs) δεν εκφράζονται στην περιφέρεια του φλοιού του επινεφριδίου, η δράση των οιστρογόνων θα έπρεπε να επάγεται και από ανεξάρτητα από τους ERs μονοπάτια. Αρκετές πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει ανεξάρτητες των ERs δράσεις των οιστρογόνων σε νευρώνες και σε κύτταρα στον καρκίνο του μαστού.

Με δεδομένο πως η GPR30 πρόσφατα αναφέρθηκε ως νέος διαμεμβρανικός ER, εξετάστηκε η πιθανότητα έκφρασης σε ανθρώπινο επινεφριδιακό ιστό. Με ενδιαφέρον παρατηρήθηκε πως η GPR30 εκφραζόταν σε μεγάλο βαθμό στην περιφέρεια του φλοιού του επινεφριδίου παρέχοντας ένα σχετιζόμενο με τη μεμβράνη πιθανό μηχανισμό για τοπική υποκάψιο δράση των οιστρογόνων. Σε προηγούμενες μελέτες έχει φανεί πως ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού είναι υψηλός στη σπειροειδή ζώνη(ZG) του ανθρώπινου επινεφριδιακού ιστού, από την εμβρυική ζωή ως τα τέλη της εφηβείας εναρμονισμένο με το μοντέλο



μετανάστευσης και είχε υποτεθεί πως ο IGF θα μπορούσε να εμπλέκεται σε μηχανισμούς πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης των πρόγονων επινεφριδιακών κυττάρων στην νεογνική ηλικία.[240]

Παρόλαυτα ο μοριακός μηχανισμός που σχετίζεται με αυτή τη διαδικασία παραμένει πτωχά κατανοήτος και είναι λογικό να υποθέσουμε πως παίζουν ρόλο πολλαπλοί παράγοντες. Έχει αναφερθεί πως τα οιστρογόνα επάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στην κυτταρική σειρά H295R στον ανθρώπινο φλοιό των επινεφριδίων. [169] Για αυτό υπάρχει η υπόθεση πως μετά την ηλικία των 6 ετών, ταυτόχρονα με την περίοδο ανάπτυξης της σπειροειδούς ζώνης(ZR) ,τα οιστρογόνα που παράγονται από τη ZR πιθανώς να διεγείρουν τοπικά τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των πρόγονων επινεφριδιακών κυττάρων μέσω ενός σχετιζόμενου με την GPR30 μηχανισμού. Επίσης περισσότερες ευθείες αλληλεπιδράσεις μεταξύ IGF1 και σχετιζόμενων με σηματοδότηση μέσω οιστρογόνων μονοπατιών υπάρχουν σε αρκετούς ιστούς και στην πορεία νοσημάτων περιλαμβάνοντας γενομικές και μη γενομικές δράσεις. [241,242]

Οι γενετικές τροποποιήσεις που έχουν αναγνωριστεί μέχρι στιγμής στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα είναι περιορισμένες. Οι περισσότεροι σποραδικοί επινεφριδιακοί όγκοι είναι μονόκλωνοι και αυτό σημαίνει οτι καποια σωματική μετάλλαξη έχει συμβεί νωρίς κατά την εξέλιξη της ογκογένεσης. Αρκετά γονίδια έχουν αναγνωριστεί ως εκκινήτες ( tumor drivers) στο σποραδικό φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. Το πιο σημαντικά γονίδια ανάμεσα τους είναι τα TP53, insulin like growth factor και β-catenin (CTNNB1 or ZNFR3) [243] Η λειτουργία του P53 είναι κατά κανόνα κατεσταλμένη στα καρκινικά κύτταρα , συνήθως ως αποτέλεσμα σωματικών μεταλλάξεων , οι οποίες συμβαίνουν στο 50% περίπου όλων των καρκίνων και αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο της καρκινογένεσης.

Η πρωτεΐνη p53 γνωστή ως και ‘ο φύλακας του γονιδιώματος’ παίζει σημαντικό ρόλο στην απάντηση του κυττάρου στο stress.[244] Σύμφωνα με την φυσιολογία η πρωτεΐνη p53 αναστέλλει την αντιγραφή του κυττάρου και επιτρέπει την επιδιόρθωση των κατεστραμμένων τμημάτων του DNA. Η P53 δίνει το έναυσμα για την απόπτωση όταν υπάρχει ζημιά στο γενετικό υλικό σε μεγάλη έκταση.

Η συσχέτιση των μεταλλάξεων του TP53 με το ACC ανακαλύφθηκαν πρόσφατα σε ασθενείς με σύνδρομο Li-Fraumeni, οι οποίοι εμφάνισαν μεταλλάξεις του TP53 (germline mutations) και φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα. Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι μεταλλάξεις της πρωτεΐνης TP53 συμβαίνουν στο 25 με 35% του σποραδικού ACC στους ενήλικες και φαίνεται να σχετίζεται με μεγαλύτερους όγκους και πιο προχωρημένη νόσο.[245]. Υπάρχει συχνά το εύρημα της απώλειας της ετεροζυγωτίας (loss of heterozygosity (LOH)) στο 17p13 locus στα σποραδικά ACCs. Ο Libe και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι όγκοι με μετάλλαξη p53 ήταν μεγαλύτεροι σε μέγεθος, με πιο προχωρημένη νόσο και με μικρότερο χρόνο επιβίωσης ελεύθερου νόσου.[246] Στην δική μας ανοσοϊστοχημική μελέτη η σχέση της έκφρασης του p53 με το Helsinki score δεν ήταν στατιστικώς σημαντική (missed statistical significance threshold,  $p=0.14$ ).

Μια παρατήρηση που αναδείχθηκε από την μελέτη μας είναι ότι το ανοσοϊστοχημικό προφίλ ήταν παρόμοιο σε όλα τα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα ανεξάρτητα από τον τύπο τους.

Τα ογκοκυτταρικά δηλαδή καρκινώματα είχαν παρόμοια ανοσοϊστοχημική εικόνα με τα υπόλοιπα ACCs. Βέβαια ο αριθμός των ογκοκυτταρικών καρκινωμάτων ήταν μικρός.

Συμπερασματικά, περιγράψαμε την ανοσοϊστοχημεία μιας σειράς φλοιοεπινεφριδιακών καρκινωμάτων. Ο περιορισμός της μελέτης μας ήταν ο μικρός αριθμός περιστατικών παρολο που πρόκειται για μια σπάνια νόσο και οι περισσότερες μεγαλύτερες σειρές έχουν αναλογα νούμερα. Τα αποτελέσματα μας

συμφωνούν με αυτά προηγούμενων σειρών στην έκφραση των διαφορών ανοσοϊστοχημικών δεικτών.

Η μελέτη μας θέλει να δώσει έμφαση στο γεγονός ότι παρόλο που δεν υπάρχει ο ιδανικός δείκτης, μια επιλογή δεικτών και διαφόρων άλλων χαρακτηριστικών των όγκων μπορεί να μας φέρει πιο κοντά στην σωστή διάγνωση του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.

Είναι βέβαιο ότι δεν έχει βρεθεί ακόμα ο σωστός συνδυασμός δεικτών που θα κάνει ακόμα πιο ασφαλή και αποτελεσματική την προσέγγιση των φλοιοεπινεφριδιακών όγκων. Ο κατάλληλος συνδυασμός κλινικών, ιστολογικών και μοριακών παραμέτρων θα βελτιώσει στο μέλλον την πρόγνωση των ασθενών με φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα και θα ανοίξει το δρόμο για μια πιο προσωποποιημένη αντιμετώπιση των ασθενών αυτών. Η ακριβής διάγνωση θα προφυλάξει ασθενείς που έχουν καλύτερη πρόγνωση από επιθετική διαχείριση μετά από ριζική εκτομή του όγκου με αποφυγή επιθετικής θεραπείας με μιτοτάνη και κυτταροτοξικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Θα προστατέψει επίσης ασθενείς με μέτρια ή κακή πρόγνωση με ένα πιο συστηματικό

follow up και εφαρμογή πιο επιθετικών συστηματικών θεραπειών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Eustachii B (1975) *Opuscula Anatomica*. Quoted by Harrison TS, Gann DS, Edis AJ, Egdahl RH. *Surgical disorders of the adrenal gland*. Grune and Stratton, New York, pp 1–2
2. Wharton T (1659) *Adenographia: sive Glandularum totius corporis descriptio*, 2nd edn. (Coll: London: Socio) Amstelaedami, p 139
3. Medvei VC (1982) *A history of endocrinology*. MTP Press, Lancaster, England, p 125
4. Trousseau, A. Bronze (1856) Addison's disease. *Arch Gén Méd* 8:478
5. Addison T (1855) *On the constitutional and local effects of disease of the suprarenal capsules*. S. Highley, London
6. Osler W (1896) Six cases of Addison's disease. *Int Med Mag* 5:3–11
7. Brown-Séguard E (1856) *Recherches expérimentales sur la physiologie et la pathologie des capsules surrénales*. *Arch Gén Méd (Paris)* 8:385–401
8. Cushing H (1932) The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). *Johns Hopkins Hosp Bull* 50:137–195
9. Kepler EJ (1949) Cushing's disease: a primary disorder of the adrenal cortices? *Ann NY Acad Sci* 50:657–678
10. Walters W, Wilder RM, Kepler EJ (1934) The suprarenal cortical syndrome. *Ann Surg* 100:670–688
11. Priestley JT, Sprague RG, Walters W, Salassa RM (1951) Subtotal adrenalectomy for Cushing's syndrome. *Ann Surg* 134:464–475

12. Conn JW (1955) Primary aldosteronism, a new syndrome. *J Lab Clin Med* 45:3–17
13. Conn JW (1961) Aldosteronism and hypertension. *Arch Intern Med* 107:813–828
14. Gagner M, Lacroix A, Bolte E (1992) Laparoscopic adrenalectomy in Cushing's syndrome and pheochromocytoma. *N Engl J Med* 327:1033
15. Kelly HM, Piper MC, Wilder RM, Walters W (1936) Case of paroxysmal hypertension with paraganglioma. *Proc Mayo Clin* 11:65–70
16. Gill GN. The adrenal gland. In: West JB (ed) , *Physiologic Basis of Medical Practice*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1991:820-832.
17. Hedican SP. Kidneys and adrenal glands. Minimal access surgical anatomy. Carol E.H. Scott-Conner. Lippincott Williams & Wilkins 2000: 267-292.
18. Joel AB et al. Laparoscopic appreciation of the adrenal artery: fact or fiction? *J Endourol*. 2005;19(7):793-796.
19. Lal G , Duh QY. Laparoscopic adrenalectomy: indications and technique. *Surg Oncol* 2003;12(2);105-123.
20. Parnaby CN et al. Experience in identifying the venous drainage of the adrenal gland during laparoscopic adrenalectomy. *Clin Anat*. 2008;21(7):660-665.
21. Peplinski GR. The adrenal glands. *Maingot's Abdominal Operations*. 10th Ed. Appleton & Lance 1997: 723-760.
22. Scholten A.MD et al. Variant Adrenal Venous Anatomy in 546 Laparoscopic Adrenalectomies. *JAMA SURG/* 148(No4) Apr 2013:378-383.

23. Skandalakis L.J. et al. *Surgical Anatomy and Technique*. 2009:603-630.
24. Skandalakis JE et al. Adrenal (suprarenal) glands. Skandalakis' *Surgical Anatomy. The embryologic and anatomic basis of modern surgery*. 2004:1541-1566.
25. Stack SP et al. Anomalous left adrenal venous drainage directly into the inferior vena cava. *J Vasc Interv Radiol*. 2001;12(3):385-387.
26. Standring S. Suprarenal (adrenal) gland. In: Standring S ed. *Gray's Anatomy*. London, England. Elsevier. 2005:1245-1249. *N Engl J Med* 2007;356:601
27. Young WF Jr. *Clinical practice*. The incidentally discovered adrenal mass.
28. Grumbach MM, Biller BM, Braunstein GD, et al. Management of the clinically inapparent adrenal mass ("incidentaloma"). *Ann Intern Med* 2003; 138:424.
29. Herrera MF, Grant CS, van Heerden JA, et al. Incidentally discovered adrenal tumors: an institutional perspective. *Surgery* 1991; 110:1014.
30. Bovio S, Cataldi A, Reimondo G, et al. Prevalence of adrenal incidentaloma in a contemporary computerized tomography series. *J Endocrinol Invest* 2006; 29:298.
31. Terzolo M, Stigliano A, Chiodini I, et al. AME position statement on adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol* 2011; 164:851.
32. Hedeland H, Ostberg G, Hökfelt B. On the prevalence of adrenocortical adenomas in an autopsy material in relation to hypertension and diabetes. *Acta Med Scand* 1968; 184:211.

33. Angeli A, Osella G, Alì A, Terzolo M. Adrenal incidentaloma: an overview of clinical and epidemiological data from the National Italian Study Group. *Horm Res* 1997; 47:279.
34. Young WF Jr. Management approaches to adrenal incidentalomas. A view from Rochester, Minnesota. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000; 29:159.
35. Cawood TJ, Hunt PJ, O'Shea D, et al. Recommended evaluation of adrenal incidentalomas is costly, has high false-positive rates and confers a risk of fatal cancer that is similar to the risk of the adrenal lesion becoming malignant; time for a rethink? *Eur J Endocrinol* 2009; 161:513.
36. Nieman LK. Approach to the patient with an adrenal incidentaloma. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:4106.
37. Mantero F, Terzolo M, Arnaldi G, et al. A survey on adrenal incidentaloma in Italy. Study Group on Adrenal Tumors of the Italian Society of Endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:637.
38. Fassnacht M, Arlt W, Bancos I, et al. Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *Eur J Endocrinol* 2016; 175
39. Sakai Y, Yanase T, Takayanagi R, et al. High expression of cytochrome b5 in adrenocortical adenomas from patients with Cushing's syndrome associated with high secretion of adrenal androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76:1286.
40. Cawood TJ, Hunt PJ, O'Shea D, Cole D, Soule S. Recommended evaluation of adrenal incidentaloma is costly, has high positive rates and confers a risk of fetal cancer that is similar to the risk of the

adrenal lesion becoming malignant ; time for a rethink. Eur J Endocrinol 2009;161(4):513

41. Lacroix A, Feelders RA, Stratakis CA, Nieman. Cushing syndrome. Lancet. 2015;386(9996):913.
42. Reznik Y, Lefebvre H, Rohmer V, Charbonnel B, Tabarin A, Rodien P, Lecomte P, Bardet S, Coffin C, Mahoudeau J, REHOS study group. Aberrant adrenal sensitivity to multiple ligands in unilat ER $\alpha$  incidentaloma with subclinical autonomous cortisol hypersecretion: a prospective clinical study. Clin Endocrinol (Oxf). 2004;61(3):311.
43. Beuschlein F, Schulze E, Mora P, et al. Steroid 21-hydroxylase mutations and 21-hydroxylase messenger ribonucleic acid expression in human adrenocortical tumors. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83:2585.
44. Arlt W, Biehl M, Taylor AE, et al. Urine steroid metabolomics as a biomarker tool for detecting malignancy in adrenal tumors. J Clin Endocrinol Metab 2011; 96:3775.
45. Hodgson A et al. A diagnostic approach to adrenocortical tumors. Surg Pathol Clin 2019 ;12(4):967-995
46. Sherlock M et al. Adrenal incidentaloma. Endocr Rev 2020;41(6):775-820
47. Stratakis CA. Cushing syndrome caused by adrenocortical tumors and hyperplasias (corticotrophin-independent Cushing syndrome) Endocr Dev 2008;13:117-132
48. Nieman LK, Biller BM et al. The diagnosis of Cushing's syndrome ; an Endocrine Society Clinical practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:1526



49. Lin CL , Wu TJ et al Urinary free cortisol and cortisone determined by high performance liquid chromatography in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:151
50. Arnaldi G, Angeli A et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome : a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5593
51. Newell-Price J , Trainer P et al. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocrin Rev* 1998;19:647
52. Pfohi B, Sherman B et al. Differences in plasma ACTH and cortisol between depressed patients and normal controls. *Biol Psychiatry* 1985;20:1055
53. Gold PW et al. Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *N Engl J Med* 1986;314:1329
54. Yanovski JA , Cutler GB , Chrousos GP , Nieman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *JAMA* 1993;259:2232
55. Martin NM et al. Comparison of the dexamethasone-suppressed corticotropin releasing hormone test and low-dose dexamethasone suppression test in the diagnosis of Cushing's syndrome *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2582
56. Erickson D et al. Dexamethasone-suppressed corticotropin releasing hormone stimulation test for diagnosis of mild hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:4290

57. Rubinstein G, Osswald A, Hoster E et al. Time to diagnosis in Cushing's Syndrome ; A meta-analysis based on 5367 patients J Clin Endocrinol Metab 2020;105
58. Elamin MB , Murad MH et al. Accuracy of diagnostic tests for Cushing's syndrome : a systematic review and metanalysis. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:1553
59. Nieman ,Lynnette K. Uptodate on subclinical Cushing's syndrome Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity 2015;22(3):180-184
60. Reincke M. Subclinical Cushing's syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am 2000;29(1):43-56
61. Terzolo M et al. Subclinical Cushing's syndrome :definition and management. Clin Endocrinol (Oxf) 2012;76(1):12-8
62. Schirpenbach C , Segmiller F et al. The diagnosis and treatment of primary hyperaldosteronism in Germany:Results on 555 patients from the german Conn Registry. Dtsch Arztebl Int 2009;106(18):305-311
63. Born- Frontsberg E et al.Conn's syndrome Internist 2009;50(1):17-26. Hundemer GL et al. Primary aldosteronism Diagnosis and management : a clinical approach. Endocrinol Metab Clin North Am 2019;48(4):681-700
64. Young WF. Primary aldosteronism :renaissance of a syndrome Clin Endocrinol 2007 ;66(5):607-18
65. Gleason PE , Weinberger MH , PrattJH et al. Evaluation of diagnostic tests in the differential diagnosis of primary aldosteronism :unilateral adenoma versus bilateral micronodular hyperplasia J Urol 1993;150:1365

66. Holland OB , Brown H et al. Further evaluation of saline infusion for the diagnosis of primary aldosteronism. *Hypertension* 1984;6:717
67. Young WF, Klee GG. Primary aldosteronism. Diagnostic evaluation *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988;17:367
68. Umakoshi H, Sakamoto R et al. Role of aldosterone and potassium levels in sparing confirmatory tests in primary aldosteronism . *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105
69. Kaplan NM. Current diagnosis and treatment of primary aldosteronism *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2010;8(11):1527-30
70. Young WF. Primary aldosteronism :management issues *Ann N Y Acad Sci* 2002;970:61-76
71. Mulatero P et al. Evaluation of primary aldosteronism. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2010;17(3):188-93
72. Guo Z , Poglitsch M et al. Threshold values in screening and confirmatory testing for primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 2018;103 (11):3965-73
73. Young W. Diagnosis of primary aldosteronism Uptodate Waltham, Massachusetts , USA,2019
74. Maiolino G , Rossitto G et al. Quantitative value of aldosterone-renin ratio for detection of aldosterone -producing adenoma : The Aldosterone-Renin ratio for primary aldosteronism (AQUARR) study *J AM Heart Assoc* 2017;6 (5)
75. Kempers MJ, Lenders JW et al. Systematic review :diagnostic procedures to differentiate unilateral from bilateral adrenal abnormality in primary aldosteronism. *Ann Intern Med* 2009;151(5):329-37

76. Lim V , Guo Q et al. Accuracy of adrenal imaging and adrenal venous sampling in predicting surgical cure of primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(8):2712-9
77. Young WF, Stanson AW et al. Role of adrenal venous sampling in primary aldosteronism. *Surgery* 2004;136(6):1227-35
78. Williams TA , Lenders JWM et al. Primary aldosteronism surgery outcome i. Outcomes after adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism : an international consensus on outcome measures and analysis of remission rates in an international cohort. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5(9):689-99
79. Kupers EM et al. A clinical prediction score to diagnose unilateral primary aldosteronism, *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(10):3530-7
80. Kobayashi T et al. Bilateral adrenocortical adenomas along with virilization and Cushing ‘s syndrome *Intern Med* 2019;58(3):405-409
81. Surrey LF et al. Ectopic functioning adrenocortical oncocytic adenoma (oncocytoma) with myelolipoma causing virilization. *Case Rep Pathol* 2012;326418
82. Carre J et al. Virilizing oncocytic adrenocortical carcinoma: clinical and immunohistochemical studies. *Gynecol Endocrinol* 2016;32(8):662-666
83. Lim YJ et al. Virilizing adrenocortical oncocytoma in a child: a case report. *J Korean Med Sci* 2010;25(7):1077-9
84. Gumus P et al. Virilizing para-adrenocortical adenoma associated with idiopathic-acquired generalized anhidrosis girl. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2011;24(3-4):233-5
85. Kamilaris D et al. Testosterone-secreting adrenal adenoma in a peripubertal girl. *JAMA* 1987;258 (18):2558-61

86. Wanis, K.N. and R. Kanthan, Diagnostic and prognostic features in adrenocortical carcinoma: a single institution case series and review of the literature. *World J Surg Oncol.* 2015. 13: p. 117.
87. Bilimoria, K.Y., et al., Adrenocortical carcinoma in the United States: treatment utilization and prognostic factors. *Cancer*, 2008. 113(11): p. 3130-6.
88. Kebebew, E., et al., Extent of disease at presentation and outcome for adrenocortical carcinoma: have we made progress? *World J Surg*, 2006. 30(5): p. 872-8.
89. Crona, J. and F. Beuschlein, Adrenocortical carcinoma - towards genomics guided clinical care. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 15(9): p. 548-560.
90. Ayala-Ramirez, M., et al., Adrenocortical carcinoma: clinical outcomes and prognosis of 330 patients at a tertiary care center. *Eur J Endocrinol.* 2013.169(6): p. 891-899.
91. Mete, O., et al., Immunohistochemical Biomarkers of Adrenal Cortical Neoplasms. *Endocr Pathol.* 2018.29(2): p. 137-149.
92. Else, T., et al., Adrenocortical carcinoma and succinate dehydrogenase gene mutations: an observational case series. *Eur J Endocrinol*,2017. 177(5): p. 439-444.
93. Hofland J, Feelders R.A, Van der Walr et al.Serum inhibin pro-aC is a tumor marker for adrenocortical carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2012 ;166(2):281-9
94. Zlatibor, L., et al., Prognostic significance of immunohistochemical markers in adrenocortical carcinoma. *Acta Chir Belg*,2018. 120(1): p. 23-29.

95. Fassnacht M, Dekkers O.M, Else T, Baudin E et al. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guidelines on the Management of Adrenocortical Carcinoma in Adults , in collaboration with the European Network for the study of Adrenal Tumors. Hormones.org. 2018
96. Allolio B & Fassnacht M. Clinical review: adrenocortical carcinoma :clinical update. Journal of clinical Endocrinology and Metabolism 2006;91:2017-2037.
97. Fassnacht M and Allolio B. Clinical management of adrenocortical carcinoma. Best Practice and Research. Clinical Endocrinology and Metabolism 2009 ;23:273-289
98. Fassnacht M, Kroiss M, Allolio B. Update in adrenocortical carcinoma. J Clin Endocrinol Metab. 2013; 98:4551-64.
99. Wanis K.N, Kanthan R. Diagnostic and prognostic features in adrenocortical carcinoma : a single institution case series and review of the literature. World J Surg Oncol 2015; 13:117
100. Terzolo M, Ali A, Osella G & Mazza E. Prevalence of adrenal carcinoma among incidentally discovered adrenal masses. A retrospective study from 1989 to 1994. Arch Surg 1997;132: 914-919
101. Terzolo M, Stigliano A, Chiodini I et al. Italian Association of clinical Endocrinologists AME position statement on adrenal incidentaloma. Eur J Endocrinology 2011;164: 851-870.

102. Laily E. Adrenocortical development and cancer: focus on SF-1. *J Mol Endocrinol* 2010;44: 301-307.
103. Berruti, A., et al., Adrenal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*,2012. 23 Suppl 7: p. vii131-8.
104. Lughezzani G, Sun M, Perrotte P et al. The European Network for the Study of Adrenal Tumors staging system is prognostically superior to the international union against cancer staging system : a North American validation. *Eur J Cancer* 2010 ;46:713.
105. Fassnacht, M., et al., Improved survival in patients with stage II adrenocortical carcinoma followed up prospectively by specialized centers. *J Clin Endocrinol Metab*,2010. 95(11): p. 4925-32.
106. Zografos G.N, Vasiliadis G, Farfaras A et al. Laparoscopic surgery for malignant adrenal tumor *JSLs* 2009;13:196-202.
107. Kostianen, I., et al., Adrenocortical carcinoma: presentation and outcome of a contemporary patient series. *Endocrine*,2019. 65(1): p. 166-174.
108. Kahm M. Can we safely target the Wnt pathway? *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(7):513-532
109. Megerle, F., et al., Mitotane Monotherapy in Patients With Advanced Adrenocortical Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*,2018. 103(4): p. 1686-1695.

110. Calabrese et al. Adjuvant mitotane therapy is beneficial in non-metastatic adrenocortical carcinoma at high risk of recurrence. *Eur J Endocrinol* 2019. 180(6):387-396.
111. Lacroix Andre. Clinical presentation and evaluation of adrenocortical tumors. *Uptodate* 2019
112. Proye C.A.G, Pattou F.N, Armstrong J. Primary Adrenocortical Carcinoma ; 13:131-142. Book :Adrenal Glands - Diagnostic Aspects and surgical therapy. Springer 2005
113. Torti JF, Correa R. Adrenal Cancer Book StatPearls Publishing 2020.
114. Else T, Kim A.C et al. Adrenocortical carcinoma. *Endocr Rev* 2014 ;35(2):282-326
115. Latronico A.C, Chrousos G.P. Adrenocortical Tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82:1317-1324.
116. Nakamura Y, Yamazaki Y, Felizola SJ, et al. Adrenocortical carcinoma : review of the pathologic features ,production of adrenal steroids and molecular pathogenesis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2015;44:399-410
117. Niederle B, Heinz-Peer G, Kaczirek K, Kurtaran A. The value of adrenal imaging in adrenal surgery ; 5: 41-56. Book: Adrenal Glands -Diagnostic Aspects and surgical therapy. Springer 2005
118. Sisman, P., et al., Adrenocortical carcinoma: Single center experience. *Turk J Urol*,2017. 43(4): p. 462-469.



119. Antonelli A, Cozzoli A, Simeone C, Zani D, Zanotelli T, Portesi E, Cosciani, and Cunico S: Surgical treatment of adrenal metastasis from renal cell carcinoma: a single-centre experience of 45 patients. *BJU International* 97: 505-508, 2006. PMID: 16469016.
120. Spartalis E, Drikos I, Ioannidis A et al. Metastatic carcinomas of the adrenal glands : from diagnosis to treatment. *Anticancer Research* 39:2699-2710.
121. Palazzo FF, Sebag F , Sierra M et al. Long-term outcome following laparoscopic adrenalectomy for large solid adrenal cortex tumors. *World J Surg* 2006; 30(5):
122. Lam KY et al. Metastatic tumors of the adrenal glands: a 30-year experience in a teaching hospital. *Clin Endocrinol* 2002;56(1):95-101.
123. Frattolillo et al. The role of laparoscopic surgery in isolated adrenal metastasis :our personal experience. *G Chir* 2020;41(1):46-490
124. Takayuki Goto et al. Feasibility of laparoscopic adrenalectomy for metastatic adrenal tumors in selected patients : a retrospective multicenter study of Japanese populations. *Int J Clin Oncol* 2020;25(1):126-134
125. Hatano K et al. The outcomes of adrenalectomy for solitary adrenal metastasis : A 17-year single-center experience. *Asia Pac J Clin Oncol* 2020;16(2):e86-e90
126. Puccini M et al. The role of laparoscopic resection of metastases to adrenal glands. *Gland Surg* 2017;6(4):350-354

127. Douglas Zippel et al. The non-responding adrenal metastasis in melanoma : The case for minimally invasive adrenalectomy in the age of modern therapies. *Am J Surg* 2020; 220(2):349-353.
128. Muth et al. Prognostic factors for survival after surgery for adrenal metastasis. *Eur J Surg Oncol* 2010;36(7):699-704
129. Kaneko G et al. Retroperitoneoscopic partial adrenalectomy for metachronous renal cell carcinoma metastasis to solitary adrenal gland. *Int Cancer Conf J* 2019;9(1):1-4
130. Gerber E et al. Laparoscopic adrenalectomy for isolated adrenal metastasis. *JSLs* 2004;8(4):314-9
131. Lucchi M, Dini P, Amborgi M.C et al. Metachronous adrenal masses in resected non-small cell lung cancer patients: therapeutic implications of laparoscopic adrenalectomy. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;27(5):753-756
132. Henry JF, Sebag F, Iacobone M, Mirallie E. Results of laparoscopic adrenalectomy for large and potentially malignant tumors. *World J Surg* 2002;26(8):1043-1047.
133. Raeburn CD, Mcintyre RC. Laparoscopic approach to adrenal and endocrine pancreatic tumors. *Surg Cl N Am* 2000;80:1427-1433.
134. Zografos GN, Markou A, Aggeli CH et al. Laparoscopic surgery for adrenal tumors. A retrospective analysis. *Hormones* 2006;5(1):52-56.

135. Nocca D, Aggarwal R, Mathieu A et al. Laparoscopic surgery and corticoadrenalomas. *Surg Endosc* 2007; 21(8):1373-1376.
136. Zografos GN, Farfaras A, Aggeli C, Kontogeorgos G, Vasiliadis G, Papastratis G. Laparoscopic adrenalectomy for large adrenal metastasis from contralateral renal cell carcinoma. *JLS* 2007;11(2):261-265.
137. Kirshtein B, Yelle JD, Moloo H, Poulin E. Laparoscopic adrenalectomy for adrenal malignancy: a preliminary report comparing the short-term outcomes with open adrenalectomy. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2008;18(1)
138. Linos DA: Management approaches to adrenal incidentalomas (adrenalomas). A view from Athens, Greece. *Endocrin Metab Clin North Am* 29: 141-157, 2000. PMID: 10732269.
139. Linos DA and Stylopoulos N: How accurate is computed tomography in predicting the real size of adrenal tumors? *Arch Surg* 132: 740-743, 1997. PMID: 9230858.
140. Kebebew E, Siperstein AE, Duh QY. Laparoscopic adrenalectomy: the optimal surgical approach. *J Laparoendosc Adv Surg Tech* 2001;11(6):409-413)
141. Shen WT, Kebebew E, Clark OH, Duh QY. Reasons for conversion from laparoscopic to open or hand-assisted adrenalectomy: review of 261 laparoscopic adrenalectomies from 1993 to 2003. *World J Surg* 2004;28(11):1176-1179.

142. Zografos G.N, Vasiliadis G., Farfaras A, Aggeli C, Digalakis M. Laparoscopic surgery for malignant adrenal tumors. *JLS* 2009; 13(2): 196–202.
143. Heniford BT, Arca MJ, Walsh RM, Gili IS. Laparoscopic adrenalectomy for cancer. *Semin Surg Oncol* 1999; 16:293-306.
144. Giraudo G, Del Genio G, Porpiglia F, Parini D, Garrone C, Morino M. Laparoscopic adrenalectomy in multiple endocrine tumors, in secreting and non-secreting lesions. *Minerva Chir* 2004; 59(1):1-5.
145. Lombardi CP, Raffaelli M, Crea C, Bellatone R. Role of laparoscopy in the management of adrenal malignancies. *J Surg Oncol* 2006;94:128-131.
146. Li ML, Fitzg ERald PA, Price DC et al. Iatrogenic pheochromocytosis: a previously unreported result of laparoscopic adrenalectomy. *Surgery* 2001;130(6):1072-1077
147. Kebebew E, Siperstein A, Clark O, Quan-Yang D. Results of laparoscopic adrenalectomy for suspected and unsuspected malignant adrenal tumors. *Arch Surg* 2002; 137:948-953.
148. Sturgeon C, Kebebew E et al. Laparoscopic adrenalectomy for malignancy. *Surg Clin N Am* 2004; 84:755-774.
149. Mazzaglia PJ, Vezeridis MD. Laparoscopic adrenalectomy:balancing the operative indications with the technical advances. *J Surg Oncol* 2010;101(8):739-744.
150. Suzuki K et al. Laparoscopic surgery for malignant adrenal tumors. *Biomed Pharmacother* 2002; 56 (1):139-144

151. Fendrich et al. Minimal invasive surgery of adrenal tumors. 2018;143(17):1235-1241
152. Chiapini A et al. Current role of open surgery in adrenal tumors. 2020;41(1):79-83
153. Wafa A et al. Adrenalectomy for benign and malignant adrenal tumors. Experience from Misurata Cancer Center. 2019; 40(4):348-354.
154. Shimmack et al. Surgery of adrenal diseases. Chirurg 2020;91(9):783-792
155. Taffureli G et al. Open adrenalectomy in the era of laparoscopic surgery : a review. Updates Surg 2017;69(2):135-143
156. Morelli L et al. Robotic assisted versus pure laparoscopic surgery of the adrenal glands: a case-control study comparing surgical techniques. Langerbecks Arch Surg 2016;401(7):999-1006
157. Fulmer, B.R., Diagnosis and management of adrenal cortical carcinoma. Curr Urol Rep, 2007. 8(1): p. 77-82.
158. Hahner, S., E. Caoili, and T. Else, 5th International ACC Symposium: Imaging for Diagnosis and Surveillance of Adrenal Tumors-New Advances and Reviews of Old Concepts. Horm Cancer, 2015. 7(1): p. 40-3.
159. Kassi E, Spilioti E, Nasiri-Ansari N et al. Vascular inflammation and atherosclerosis. The role of Estrogen Receptors. Curr Med Chem 2015;22 (22):2651-2665

160. Slowikowski BK, Lianeri M, Jagodzinski PP. Exploring estrogenic activity in lung cancer. *Mol Biol Rep* 2017;44(1):35-50
161. Nilsson S, Makela S, Treuter E et al. Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev* 2001,81(4),1535-1565
162. Levin E.R. Plasma membrane estrogen receptors, *Trends Endocrinol Metab* 2009,20(10),477-482
163. Bjornstrom L, Sjoberg M. Mechanisms of estrogen receptor signaling :convergence of genomic and nongenomic actions on target genes . *Mol. Endocrinol* 2005,19 (4),833-42
164. De Cremoux P, Rosenberg D, Goussard J et al. Expression of Progesterone and Estradiol Receptors in Normal Adrenal Cortex , Adrenocortical Tumors and Primary Adrenocortical Disease. *Endocr Relat Cancer* 2008, 15(2):465-74.
165. Baquedano MS, Saraco N, Berensztein E et al. Identification and Developmental Changes of Aromatase and Estrogen Receptor Expression in Prepubertal and Pubertal human adrenal Tissues *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92(6):2215-22
166. Barzon L, Masi G, Pacenti M et al. Expression of Aromatase and Estrogen Receptors in Human Adrenocortical Tumors. *Virchows Arch* 2008, 452(2):181-91
167. Zhao C, Dahlman-Wright K , Gustafsson J-A. Estrogen Receptor  $\beta$  : An Overview and Update . *Nucl Recept Signal* 2008, 6: e003

168. Medwid S, Guan H, Yang K. Bisphenol A stimulates Adrenal Cortical cell Proliferation Via Er $\beta$ -Mediated Activation of the Sonic Hedgehog Signalling pathway. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2018, 178:254-62.
169. Shen XC, Gu XC, Qui YQ, Du CJ, Fu YB, Wu JJ. Estrogen Receptor Expression in Adrenocortical Carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2009,10(1):1-6.
170. Montanaro D, Maggiolini M Recchia AG et al. Antiestrogens Upregulate Estrogen Receptor Beta Expression and Inhibit Adrenocortical H295R Cell Proliferation. *J Mol Endocrinol* 2005,35(2):245-56
171. Puglisi R, Mattia G, et al. Non-genomic effects of estrogen on cell homeostasis and remodeling with special focus on cardiac ischemia /reperfusion injury. *Frontiers in Endocrinology*,25 Oct 2017
172. Siriani R, Zolea F, Chimento A et al. Targeting Estrogen Receptor- $\alpha$  reduces adrenocortical cancer (ACC) cell growth in vitro and in vivo: potential therapeutic role of selective estrogen receptor modulators (SERMs) for ACC treatment *JCEM* 2012, 97(12):E2238-E2250
173. Chimento A , Siriani R , Casaburi I et al. GPER agonist G-1 decreases adrenocortical carcinoma (ACC) cell growth in vitro and in vivo. *Oncotarget* 2015;6 :19190-19203

174. Seshacharyulu P et al. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. Expert opinion on therapeutic targets 16(1).15-31,2012.
175. Green MR et al. The basic Polymerase Chain Reaction (PCR) Cold Spring Harb Protoc. 2018 (5)
176. Ramesh R et al. Polymerase chain reaction. Natl Med J India 1992 ; 5(3):115-9
177. Walters DL et al. The polymerase chain reaction (PCR) general methods. Methods Mol Biol 2014;1099:65-75
178. Brunstein J et al. PCR :the basics of the polymerase chain reaction MLO Med Lab Obs 2013;45(4):32,34-5
179. Markham AF et al. The polymerase chain reaction : a tool for molecular medicine. BMJ 1993;13;306(6875):441-6
180. Reiss J et al. The polymerase chain reaction and its potential role in clinical diagnostics and research. J Intern Med 1991;230(5):391-5
181. Morley AA et al. Digital PCR :A brief history. Biomol Detect Quantif 2014;15(1):1-2
182. Bachman J. Reverse -transcription PCR (RT-PCR). Methods Enzymol 2013;530:67-74
183. Green MR et al. Quantification of RNA by Real-Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Cold Spring Harb Protoc 2018(10).



184. Bridge JA et al. Reverse transcription-polymerase chain reaction molecular testing of cytology specimens: Pre-analytic and analytic factors. *Cancer Cytopathol* 2017;125(1):11-19
185. Higgins SE et al. Applications of immunochemistry to endocrine pathology *Adv Anat Pathol* 2018;25(6):413-129
186. Sesano et al. Adrenocortical cytopathology. *Am J Clin Pathol* 1995;104(2):161-6
187. Baudin E et al. Adrenocortical carcinoma. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2015;44(2):411-34
188. Vaidya A et al. Treatment of adrenocortical carcinoma. *Surg Pathol Clin* 2019;12(4):997-1006
189. SIna Jasim et al. Management of adrenocortical carcinoma. *Curr Oncol Rep* 2019;21(3):20
190. Else T et al. Adrenocortical carcinoma. *Endocr Rev* 2014;35(2):282-326
191. Pezzani R et al. Adrenocortical carcinoma: current knowledge. *Minerva Endocrinol* 2019;44(2):232
192. Varghese J et al. Update on adrenocortical carcinoma management and future directions. *Curr Opin Endocrinol* 2017;24(3):208-214
193. Libe R. Clinical and molecular prognostic factors in adrenocortical carcinoma. *Minerva Endocrinol* 2019;44(1):58-69
194. Jouinot A et al. Management of endocrine disease: adrenocortical carcinoma: differentiating the good from the poor prognostic tumors. *Eur J Endocrinol* 2018;178(5):215-230

195. Miller BS. Changes in the evaluation and management of adrenocortical carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2018;25(12):3413-3415
196. Machado ND et al. Laparoscopic adrenalectomy for large adrenocortical carcinoma. *JSLs* 2015;19(3)e2015.00036
197. Lacroix Andre. Clinical presentation and evaluation of adrenocortical tumors. Uptodate 2019
198. Proye C.A.G, Pattou F.N, Armstrong J. Primary Adrenocortical Carcinoma ; 13:131-142
199. Book :Adrenal Glands -Diagnostic Aspects and surgical therapy. Springer 2005
200. Torti JF, Correa R. Adrenal Cancer Book StatPearls Publishing 2020.
201. Else T, Kim A.C et al. Adrenocortical carcinoma. *Endocr Rev* 2014 ;35(2):282-326
202. Latronico A.C, Chrousos G.P. Adrenocortical Tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82:1317-1324
203. Sasano, H., T. Suzuki, and T. Moriya, Recent advances in histopathology and immunohistochemistry of adrenocortical carcinoma. *Endocr Pathol*, 2006. 17(4): p. 345-54.
204. Sasano H,Suzuki T, Moriya T. Recent advances in surgical pathology of adrenal incidentaloma. *Biomed. Pharmacother.* 2000;54: 169-174

205. Fassnacht M, Jonhanssen S, Quinker M, et al. Limited prognostic value of the 2004 International Union Against Cancer staging classification for adrenocortical carcinoma: proposal for a revised TNM Classification. *Cancer* 2009;115-243
206. Libe, R., et al., Prognostic factors in stage III-IV adrenocortical carcinomas (ACC): an European Network for the Study of Adrenal Tumor (ENSAT) study. *Ann Oncol*,2015.26(10): p. 2119-25.
207. Creemers, S.G., et al., Future directions in the diagnosis and medical treatment of adrenocortical carcinoma. *Endocr Relat Cancer*,2015. 23(1): p. R43-69.
208. Tissier F, Aubert S, Leteurtre E, Al Ghuzlan et al. Adrenocortical tumors: Improving the practice of the Weiss system through virtual microscopy.A National Program of the French Network. *Am J Of Surg Pathology* 2012; 36:1194-1201.
209. Papotti M, Duregon E, Volante M & McNicol AM. Pathology of the adrenal cortex : a reappraisal of the past 25 years focusing on adrenal cortical tumors. *Endocrine Pathology* 2014; 25:35-48.
210. Erickson, L.A., Challenges in surgical pathology of adrenocortical tumours. *Histopathology*,2017. 72(1): p. 82-96.
211. Wong, D.D., et al., Oncocytic adrenocortical neoplasms--a clinicopathologic study of 13 new cases emphasizing the importance of their recognition. *Hum Pathol*,2011. 42(4): p. 489-99

212. Papotti M et al. The Weiss score and beyond histopathology for adrenocortical carcinoma. *Horm Cancer* 2011;2(6):333-40
213. Creemers SG et al. Future directions in the diagnosis and medical treatment of adrenocortical carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 2016;23(1):43-69
214. Ahmed AA et al. Adrenal cortical carcinoma : pathology , genomics , prognosis, imaging features and mimics with impact on management. *Abdom Radiol* 2020;45(4):945-963
215. Renaudin, K., et al., Clinicopathological description of 43 oncocytic adrenocortical tumors: importance of Ki-67 in histoprognostic evaluation. *Mod Pathol*,2018.31(11): p. 1708-1716.
216. Pennanen, M., et al., Helsinki score-a novel model for prediction of metastases in adrenocortical carcinomas. *Hum Pathol*,2015. 46(3): p. 404-10.
217. Duregon E et al. Validation of the prognostic role of the “Helsinki score” in 225 cases of adrenocortical carcinoma *Hum Pathol* 2017;62:1-7
218. Assie G et al. Prognostic parameters in adrenocortical carcinoma. *J Clin Endocrinol* 2007;92:148-154
219. Yerushalmi, R., et al., Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol*,2010;11(2): p. 174-83.

220. Assie, G., et al., Value of Molecular Classification for Prognostic Assessment of Adrenocortical Carcinoma. *JAMA Oncol.*2016
221. Dalino Ciaramella, P., et al., Analysis of histological and immunohistochemical patterns of benign and malignant adrenocortical tumors by computerized morphometry. *Pathol Res Pract*,2017; 213(7): p. 815-823.
222. Weissferdt, A., et al., Adrenocortical carcinoma: a comprehensive immunohistochemical study of 40 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*,2013; 22(1): p. 24-30.
223. Hofland J et al. Serum inhibin pro- $\alpha$ C is a tumor marker for adrenocortical carcinomas. *Eur J Endocrinol* 2012;166(2):281-9
224. Hofland J, Steenbergen J, Voorsluis JM et al. Inhibin Alpha-Subunit (INHA) Expression in Adrenocortical Cancer is linked to genetic and epigenetic INHA promoter variation. [www.plosone.org](http://www.plosone.org) 2014; 9 (8): p. e104944.
225. Hoffland J , Timmerman MA et al. Expression of activin and inhibin subunits , receptors and binding proteins in human adrenocortical neoplasms. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65;792-799
226. Busaam KJ, Iversen K,Coplan KA et al. Immunoreactivity for A103 , an antibody to melan-A (Mart-1), in adrenocortical and other steroid tumors. *Am J Surg Pathol* 1998;22;57-63.

227. Zhang, P.J., et al., The role of calretinin, inhibin, melan-A, BCL-2, and C-kit in differentiating adrenal cortical and medullary tumors: an immunohistochemical study. *Mod Pathol*, 2003. 16(6): p. 591-7.
228. Sbiera, S., et al., High diagnostic and prognostic value of steroidogenic factor-1 expression in adrenal tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010; 95(10): p. E161-71.
229. Beuschlein, F., et al., Major prognostic role of Ki67 in localized adrenocortical carcinoma after complete resection. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100(3): p. 841-9.
230. Faria, A.M. and M.Q. Almeida, Differences in the molecular mechanisms of adrenocortical tumorigenesis between children and adults. *Mol Cell Endocrinol*, 2011; 351(1): p. 52-7.
231. Angelousi, A., et al., The role of epithelial growth factors and insulin growth factors in the adrenal neoplasms. *Ann Transl Med*, 2018; 6(12): p. 253.
232. Shen X.C. et al. Estrogen receptor expression in adrenocortical carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2009;10(1):1-6.
233. Al-Risi ES et al. Chromogranin A as a biochemical marker for neuroendocrine tumors: a single center experience at royal hospital Oman. *Oman Med J* 2017;32(5):365-370
234. Babinska, A., et al., Diagnostic and prognostic role of SF1, IGF2, Ki67, p53, adiponectin, and leptin receptors in human adrenal cortical tumors. *J Surg Oncol*, 2017; 116(3): p. 427-433.

235. Almeida, M.Q., et al., Primary malignant tumors of the adrenal glands. *Clinics (Sao Paulo)*,2018; 73(suppl 1): p. e756s.
236. Bonnet-Serrano, F. and J. Bertherat, Genetics of tumors of the adrenal cortex. *Endocr Relat Cancer*,2017; 25(3): p. R131-R152.
237. Parker KL, Schimmer BP Steroidogenic factor 1: a key determinant of endocrine development and function. *Endocr Rev* 1997;18:361-377
238. Rossini E, Tamburello M, Abate A et al. Cytotoxic effect of Progesterone , Tamoxifen and Their Combination in Experimntal Cell Models of Human Adrenocortical Cancer . *Frontiers in Enocrinology* 2021 , 669426
239. Gruvberger -Saal SK, Bendahl PO, Saal LH et al. Estrogen Receptor Beta Expression is associated with Tamoxifen Response in ERalpha-negative Breast Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007, 13(7)1987-94.
240. De Cremoux P, Raffin Sanson ML, Rosenberg D. Expression of progesterone and estradiol receptors in normal adrenal cortex, adrenocortical tumors and primary pigmented nodular adrenocortical disease. *Endocrine Related Cancer* 2008,15 :465-474
241. Saraco N, Pepe C, Berensztein E, Bianchini M. Identification and Developmental Changes of Aromatase and Estrogen Receptor Expression in Prepubertal and Pubertal

Human Adrenal Tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92(6):2215-2222.

242. Cardona-Gomez GP, Mendez P, Doncarlos LL et al. Interactions of estrogen and insulin-like growth factor I in the brain: molecular mechanisms and functional implications. *J Steroid Biochem Mol Biol* 83:211-217
243. Karl M, Potier M, Schulman IH et al. Autocrine activation of the local insulin-like growth factor I system is upregulated by estrogen receptor (ER)-independent estrogen actions and accounts for decreased ER expression in type 2 diabetic mesangial cells. *Endocrinology* 2005, 146:889-900
244. Heaton JH et al. Progression to adrenocortical tumorigenesis in mice and humans through insulin-like growth factor-2 and beta-catenin. *Am J Pathol* 2012;181(3):1017-33
245. Borges KS et al. Wnt/beta-catenin activation cooperates with loss of p53 to cause adrenocortical carcinoma in mice. *Oncogene* 2020;39(30):5282-5291
246. Kamilaris CDC et al. Adrenocortical tumorigenesis ;lessons from genetics. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2020;34(3):101428
247. Libe R et al. Adrenocortical cancer :pathophysiology and clinical management. *Endocr Relat Cancer* 2007;14(1):13-28



## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ

Όνομα ασθενή.....

Ημερομηνία χειρουργικής επέμβασης .....

Σας γνωρίζω ότι έχω ενημερωθεί για τα οφέλη της ανάλυσης του γονιδιώματος και των ιστοπαθολογικών και ορμονολογικών παραγόντων σε επινεφριδιακά νεοπλάσματα ,όπως και για τα δεδομένα που θα συλλέγονται. Μου έχει γνωστοποιηθεί ότι δύναμαι να αποσυρθώ από τη μελέτη. Συμφωνώ με την έρευνα στον ιστό μου και τα δεδομένα που θα συλλεχθούν από αυτή, υπό τις ακόλουθες προϋποθέσεις:

Έλαβα γνώση ότι μπορώ να πληροφορηθώ για ιατρικά σημαντικά ευρήματα που σχετίζονται με τον τύπο του όγκου του επινεφριδίου μου και για τα οποία , σύμφωνα με τις ισχύουσες κατά την ημερομηνία υπογραφής της παρούσας γνώσεις, υπάρχουν επιλογές θεραπείας και προληπτικά μέτρα που επιτρέπουν την πρόληψη της εμφάνισης ή της εξέλιξης της νόσου

## Expression of estrogen-related receptors and epidermal growth factor receptor in normal adrenal cortex and adrenocortical tumors: A possible role of GPR30 and EGFR in adrenocortical malignancy

[Christos Parianos](#)<sup>1</sup>, [Georgios Kyriakopoulos](#)<sup>2</sup>, [Narjes Nasiri-Ansari](#)<sup>3</sup>, [Angeliki Karapanagioti](#)<sup>3</sup>, [Anna Angelousi](#)<sup>4</sup>, [Chrysanthi Aggeli](#)<sup>1</sup>, [Giorgos Zografos](#)<sup>1</sup>, [Theodosia Choreftakis](#)<sup>5</sup>, [Theodora Kounadi](#)<sup>6</sup>, [Harpal Rande](#)<sup>7</sup>, [Gregory Kaltsas](#)<sup>8</sup>, [Athanasios G Papavassiliou](#)<sup>3</sup> & [Evanthia Kassi](#)<sup>3,8</sup>

13 views

---

### Author affiliations

---

**Introduction:** The majority of adrenal neoplasms are benign while adrenocortical carcinomas (ACC) are rare with poor prognosis. Previous studies indicated that estrogens play an important role in the etiology and progression of adrenocortical tumors. Estrogens exert genomic activities through the estrogen-receptor (ER) subtypes  $\alpha$  and  $\beta$ , while the non-genomic effects are mediated by membrane-bound-G-protein-coupled-ER-30 (GPR30). Although estrogens induce cancer cell proliferation through ER $\alpha$ , ER $\beta$  appears to exert a protective effect. In vitro experiments showed that treatment with ER $\alpha$  antagonist as well as GPR30 agonist reduces proliferation in H295R cells. However, data on the expression profile of ERs in normal and human adrenocortical neoplasms are limited. Epidermal growth factor receptor (EGFR) found to be highly expressed in ACC. The expression of EGFR has been negatively correlated with expression of ER in other cancers, while data regarding the correlation between ERs and EGFR expression in adrenocortical neoplasms are missing.

**Aim:** We aimed to investigate the expression profile of ERs and EGFR in adrenocortical neoplasms and correlate it with their biological behavior.

**Material and Methods:** Total RNA was extracted from fresh frozen tissue of: eight non functional adenomas (NFA), eight cortisol producing adenomas (CPA), their adjacent normal adrenal tissues (NAC) AND eight adrenocortical carcinoma (ACC). The expression of ER $\alpha$ , ER $\beta$ , GPR30 and EGFR genes was evaluated by qPCR. The Immunohistochemistry (IHC) was performed to evaluate the EGFR and GPR30 protein levels.

**Results:** The expression of both ER $\alpha$  and GPR30 were higher in the CPA as compared to their adjacent normal tissue ( $P < 0.05$ ) while there was no significant difference in ER $\beta$  and EGFR mRNA levels between CPA, NFA and their adjacent normal tissues. The expression of GPR30 was significantly higher in ACC compared to either NFA or NAC groups ( $P < 0.05$ ), and marginally higher in ACC compared to CPA. The expression of ER $\alpha$  and EGFR was higher in ACC compared to either CPA or NFA ( $P < 0.1$ ). IHC confirmed the higher expression EGFR in ACC compared to the adrenal benign tumors. A marginal positive correlation between EGFR and GPR30 expression was observed in ACC.

**Conclusion:** To our knowledge this the first study to evaluate the expression of membrane-bound GPR30 in human adrenocortical neoplasms. Our preliminary data suggest a possible role of GPR30 and EGFR in adrenocortical malignancy, while ER $\alpha$  may play a role in functional adenomas. Further studies with larger numbers of samples are required to elucidate the role of ERs and EGFR on the adrenal tumorigenesis.

**Η έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) σε φυσιολογικό ιστό φλοιού επινεφριδίου καθώς και σε όγκους του φλοιού των επινεφριδίων: διερεύνηση του πιθανού ρόλου των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.**

Χρήστος Παρινός, Γεώργιος Κυριακόπουλος, Narzes Nasiri Ansari, Αγγελική Καραπαναγιώτη, Άννα Αγγελόση, Χρυσάνθη Αγγέλη, Γεώργιος Ν. Ζαργάρος, Θεοδοσία Χορεντάκη, Θεοδώρα Κουνιάδη, Harpal S. Randeva, Γρηγόριος Καλτσάς, Αθανάσιος Γ. Παπαβασιλείου, Εύα Κασσιά, Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. 'Τ.Γ.Λεωνιδιάς', Εργαστήριο Βιοχημείας ΕΚΠΑ

**Εισαγωγή :** Η συντριπτική πλειοψηφία των όγκων των επινεφριδίων είναι κυλιόβλες (αδενώματα) , με το φλοιοεπινεφριδιακό καρκίνωμα (ACC) να είναι σπάνιο και με ιδιαίτερα ποιή πρόγνωση. Προηγούμενες μελέτες έχουν αναδείξει πως τα οιστρογόνα παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθολογία και την εξέλιξη αρκετών νεοπλασματικών ενδοκρινών προέλευσης όπως οι όγκοι του φλοιού των επινεφριδίων. Τα οιστρογόνα ασκούν γονιδιαμαρτυρικές δραστηριότητες μέσω των πυρηνικών οιστρογονικών υποδοχέων (ER) τύπου α και β, ενώ η μη γονιδιαμαρτυρική τους δράση εκτελείται από την συνδέσμησή με τους οιστρογονικούς υποδοχείς G πρωτεΐνης της κυτταρικής μεμβράνης (GPR30). Παρόλο που τα οιστρογόνα προάγουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων διαμέσου των οιστρογονικών υποδοχέων τύπου α (ERα), οι οιστρογονικοί υποδοχείς τύπου β φαίνεται να ασκούν προστατευτική δράση. Πρόσφατα , πειράματα in vitro ανέδειξαν ότι η χρήση ανταγωνιστών των ERα όπως και αγωνιστών των GPR30 κατατάξτελλα τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στις H295R κυτταρικές σειρές. Τα δεδομένα που υπάρχουν μέχρι στιγμής για την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων σε φυσιολογικούς ιστούς φλοιού επινεφριδίων όσο και σε νεοπλασματικά φλοιού είναι περιορισμένα. Επιπρόσθετα η έκφραση του EGFR έχει βρεθεί να είναι ιδιαίτερα αυξημένη στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο στα αδενώματα του φλοιού. Η έκφραση του EGFR παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων σε καρκίνο του μαστού ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα που να αφορούν την συσχέτιση του EGFR με τους ER σε φλοιοεπινεφριδιακά νεοπλασμάτα.

**Σκοπός :** Η αξιολόγηση της έκφρασης των ERs και EGFRs σε νεοπλασμάτα του φλοιού των επινεφριδίων και η συσχέτιση τους με την βιολογική συμπεριφορά των όγκων αυτών.

**Υλικά-μέθοδοι :** Πραγματοποιήθηκε απομόνωση ολικού RNA από φρέσκο κτεγνόμενο ιστό : 8 μη λειτουργικά αδενώματα (NFA) , 8 αδενώματα που παρήγαγον κορτιζόλη (CPA), γαλακτώδες σε αυτά τα αδενώματα επινεφριδιακού ιστός (NAT) και 8 φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα (ACC). Η έκφραση των γονίων των υποδοχέων ERα, ERβ, GPR30 and EGFR εκτιμήθηκε με την μέθοδο της ποσοτικής αλυσωδιστής αντίδρασης πολυμερίσης (qPCR) . Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημία για την εκτίμηση των επιπέδων του EGFR και GPR30

**Αποτελέσματα :** Η έκφραση τόσο των ERα όσο και της GPR30 ήταν υψηλότερη στα αδενώματα που παρήγαγαν κορτιζόλη σε σχέση με τους αντίστοιχους φυσιολογικούς ιστούς (p<0.05) ενώ δεν σημειώθηκε σημαντική διαφορά στην έκφραση των ERβ και EGFR mRNA επιπέδων μεταξύ των αδενωμάτων , λειτουργικών ή μη , και των αντίστοιχων φυσιολογικών επινεφριδιακών ιστών. Η έκφραση της GPR30 ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα μη λειτουργικά αδενώματα και τους φυσιολογικούς ιστούς (p<0.05) και οριακά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα λειτουργικά αδενώματα. Επιπρόσθετα η έκφραση των ERα και EGFR ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ACC σε σχέση με τα αδενώματα (p<0.1). Ο ανοσοϊστοχημικός έλεγχος ανέδειξε σημαντικά υψηλότερη έκφραση του EGFR στα καρκινώματα σε σχέση με τους καλοήθεις όγκους του φλοιού. Οριακά θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε στην έκφραση των EGFR και GPR-30 στα φλοιοεπινεφριδιακά καρκινώματα .

**Συμπέρασμα :** Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η πρώτη που αξιολογεί την έκφραση της μεμβρανικής πρωτεΐνης GPR30 σε φλοιοεπινεφριδιακά νεοπλασμάτα σε ανθρώπους. Τα αρχικά μας αποτελέσματα απομαρτυρούν τον πιθανό ρόλο των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος. Μελλοντικές μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό δείγματων είναι απαραίτητες ώστε να καθορισθεί ο ακριβής ρόλος των ERs και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος.

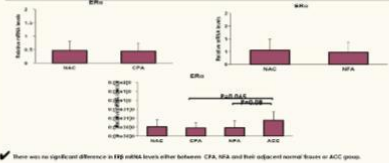


ERα, GPR30 και EGFR υπερεκφράζονται στα ACC σε σχέση με τα αδενώματα

**Βιβλιογραφία :**

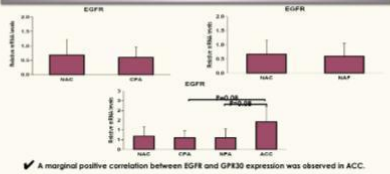
- 1.Angelidou A, Nasiri-Ansari N et al. Ann Transl Med. 2018;4(12):253.
- 2.Marcus Quinkler, et al. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2008;6(93).
- 3.Kassi E, Spilioti E, Nasiri-Ansari N, et al. Vascular Inflammation and Atherosclerosis: The Role of Estrogen Receptors. Curr Med Chem. 2015;22(22):2651-2665.

**ERα ήταν οριακά αυξημένο στα ACC σε σχέση με τα μη λειτουργικά αδενώματα και τα αδενώματα που εκκρίνουν κορτιζόλη**



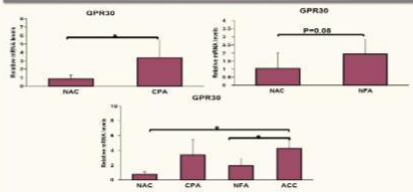
There was no significant difference in ERα mRNA levels either between CPA, NFA and both normal tissues or ACC group.

**Ο EGFR ήταν οριακά αυξημένος στα ACC σε σχέση με τα μη λειτουργικά αδενώματα και τα αδενώματα που εκκρίνουν κορτιζόλη**



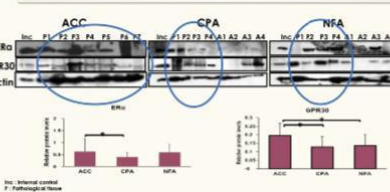
A marginal positive correlation between EGFR and GPR30 expression was observed in ACC.

**GPR30 υπερεκφράζεται στα νεοπλασμάτα του φλοιού σε σχέση με τον φυσιολογικό επινεφριδιακό ιστό**



Χρήστος Παρινός, Γεώργιος Κυριακόπουλος, Narzes Nasiri Ansari , Αγγελική Καραπαναγιώτη, Άννα Αγγελόση, Χρυσάνθη Αγγέλη, Γεώργιος Ν. Ζαργάρος, Θεοδοσία Χορεντάκη, Θεοδώρα Κουνιάδη, Harpal S. Randeva, Γρηγόριος Καλτσάς, Αθανάσιος Γ. Παπαβασιλείου, Εύα Κασσιά, Γ' Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. 'Τ.Γ.Λεωνιδιάς', Εργαστήριο Βιοχημείας ΕΚΠΑ

**ERα και GPR30 υπερεκφράζονται στα ACC σε σχέση με τα αδενώματα**



47<sup>η</sup> ΔΙΗΜΕΡΑ

ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ  
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ,  
ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ &  
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ

18/20  
Οκτωβρίου 2020

Οργάνωση:

ΕΛΛΗΝΙΚΗ  
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΗ  
ΕΤΑΙΡΕΙΑ  
ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ  
ΕΝΩΣΗ  
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΩΝ

**ΒΡΑΒΕΙΟ Ν. ΘΑΛΑΣΣΙΝΟΥ**

**Απονέμεται στους συγγραφείς**

Χρήστος Παριανός<sup>1,2</sup>, Γεώργιος Κυριακόπουλος<sup>1,3</sup>, Narjes Nasiri-Ansari<sup>1</sup>, Αγγελική Καραπαναγιώτη<sup>1</sup>, Άννα Αγγελούση<sup>4</sup>, Χρυσάνθη Αγγέλη<sup>2</sup>, Γεώργιος Ν. Ζωγράφος<sup>2</sup>, Θεοδοσία Χορευτάκη<sup>5</sup>, Θεοδώρα Κουνάδη<sup>6</sup>, Harpal S. Randeva<sup>7</sup>, Γρηγόριος Καλτσάς<sup>8</sup>, Αθανάσιος Γ. Παπαβασιλείου<sup>1</sup>, Εύα Κασσιή<sup>1,8</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, <sup>2</sup> Γχειρουργική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών "Τ. Γεννηματάς"  
<sup>3</sup> Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Γ.Ν.Α "Ο Ευαγγελισμός", <sup>4</sup> Α' Παθολογική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ  
<sup>5</sup> Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών "Τ. Γεννηματάς", <sup>6</sup> Ενδοκρινολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών "Τ. Γεννηματάς"  
<sup>7</sup> WISDEM Centre, Human Metabolism Research Unit, University Hospitals, Coventry and Warwickshire NHS Trust, Coventry CV2 2DX, UK  
<sup>8</sup> Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

**Για την εκπόνηση της εργασίας με τίτλο**

***Η έκφραση των Οιστρογονικών Υποδοχέων (ER) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) σε φυσιολογικό ιστό καθώς και σε όγκους του φλοιού των Επινεφριδίων: Διερεύνηση του πιθανού ρόλου των GPR30 και EGFR στην ανάπτυξη του φλοιοεπινεφριδιακού καρκινώματος***

Για την Ελληνική Ενδοκρινολογική Εταιρεία – Πανελλήνια Ένωση Ενδοκρινολόγων

Η Πρόεδρος  
  
Α. Βρυωνίδου-Μπομποτά

Η Γεν. Γραμματέας  
  
Μ. Τζανέτα

Δημοσίευση:

Adrenocortical cancer: a 20-year experience of a single , large referral center in prognosis and outcome.

C.Parianos,

G.Kyriakopoulos, I.Kostakis, N. Nasiri-Ansari,C.Aggeli, A.Angelousi, T. Choreutaki, A.Papavasileiou,G.Kaltsas, G.Zografos.E.Kassi.

Hormone and Metabolic Research 2021

## Adrenocortical Cancer: A 20-Year Experience of a Single Referral Center in Prognosis and Outcomes

### Authors

Christos Parianos<sup>1,2</sup>, Georgios Kyriakopoulos<sup>1,3</sup>, Ioannis D. Kostakis<sup>4</sup>, Narjes Nasiri-Ansari<sup>1</sup> , Chrysanthi Aggeli<sup>2</sup>, Anastasia Dimitriadi<sup>5</sup>, Anna Angelousi<sup>6</sup>, Athanasios G. Papavassiliou<sup>1</sup>, Gregory A. Kaltsas<sup>7</sup>, George Zografos<sup>2</sup>, Eva Kassi<sup>1,7\*</sup>

### Affiliations

- 1 Department of Biological Chemistry, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece
- 2 Department of Surgery, General Hospital of Athens "G. Gennimatas", Athens, Greece
- 3 Department of Pathology, Evangelismos Hospital, Athens, Greece
- 4 Department of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery and Liver Transplantation, Royal Free Hospital, London, UK
- 5 Department of Pathology, General Hospital of Athens "G. Gennimatas", Athens, Greece
- 6 Unit of Endocrinology, First Department of Internal Medicine, Laiko Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece
- 7 Unit of Endocrinology, First Department of Propaedeutic Internal Medicine, Laiko Hospital, National & Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

### Key words

ACC, melan A, p53, Weiss score, Helsinki score

received 19.04.2021

accepted after revision 01.10.2021

### Bibliography

Horm Metab Res 2021; 53: 709–716

DOI 10.1055/a-1666-9026

ISSN 0018-5043

© 2021, Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag, Rüdigerstraße 14,  
70469 Stuttgart, Germany

### Correspondence

Eva Kassi

Department of Biological Chemistry

Unit of Endocrinology

School of Medicine

National and Kapodistrian University of Athens

75 MikrasAsias Straße

Goudi TK

11527 Athens

Greece

Tel.: +30 2107462699; +30 6974856280,

evakassis@gmail.com

 Supplementary material is available under  
<https://doi.org/10.1055/a-1666-9026>

### ABSTRACT

Adrenocortical carcinoma (ACC) is a rare but very aggressive endocrine malignancy with poor survival. Histopathology is important for diagnosis, while in some cases immunohistochemical markers and gene profiling of the resected tumor may be superior to current staging systems to determine prognosis. We aimed to present the 20-year experience at a tertiary hospital in patients with ACCs and correlate the immunohistochemical characteristics of ACCs with the clinical and morphological characteristics of the tumors and the survival of the patients. Forty-five patients with ACC were included in the study. All the resections were R0. The tumor size and weight, the disease stage (ENSAT classification), Weiss score and Helsinki score were examined along with immunohistochemical expression of inhibin-A, melan A, calretinin, Ki67, synaptophysin, p53, vimentin, CKAE1/AE3. The male to female ratio was 1:1.37. The median age at diagnosis was 55.5 years (IQR 19–77). The median size of ACCs was 9 cm (IQR 3.5–22 cm) and the median weight 127 g (IQR 18–1400 g). The median follow up period was 18 months (IQR 1–96). Ki67 varied from < 1 % to 75 % (median: 16.4 %). The expression of melan-A and lower expression of Ki-67 ( $\leq 4$ ) were independently associated with longer OS time ( $p = 0.01$  and  $p = 0.04$ , respectively). In multivariable analysis, tumor volume  $> 400 \text{ cm}^3$  ( $p = 0.046$ ), Weiss score  $> 5$  ( $p = 0.007$ ) and overexpression of p53 ( $p = 0.036$ ) were independent risk factors for shorter survival. Adrenocortical carcinoma is a rare and very aggressive endocrine malignancy. The most important factors that determine long-term prognosis of ACC are the disease stage at diagnosis, the Weiss score, and the Ki67 index. Immunohistochemical markers such as melan A could also serve as prognostic factors.

\* Joint last authors