

Προσδιορισμό των χειρουργικών ορίων εκτομής σε διουρηθρικές εκτομές νεοπλασμάτων ουροδόχου κύστης (TURBT – trans urethral resection of bladder tumour) με τη βοήθεια της Διεγχειρητικής Κυτταρομετρίας Ροής (Intraoperative flow cytometry - iFC).

Παλιούρας Αθανάσιος¹, Μαρκόπουλος Γεώργιος², Δούβλη Ερρίκη¹, Χριστοδούλου Παύλος¹, Καλόςακα Εμμανουέλα¹, Χαμπηλομάτης Ιωάννης¹, Γιαννάκης Ιωάννης¹, Ζαχαρίου Αθανάσιος¹, Τσαμπαλάς Σταύρος¹, Μπαλτογιάννης Δημήτριος¹, Λάμπρη Ευαγγελία³, Βαρβολομάτος Γεώργιος², Σοφικίτης Νικόλαος¹

¹ Ουρολογική Κλινική ΠΓΝ Ιωαννίνων, ² Αιματολογικό Εργαστήριο-Μονάδα Μοριακής Βιολογίας και Μεταφραστικής Κυτταρομετρίας Ροής ΠΓΝ Ιωαννίνων, ³ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής-Κυτταρολογίας ΠΓΝ Ιωαννίνων

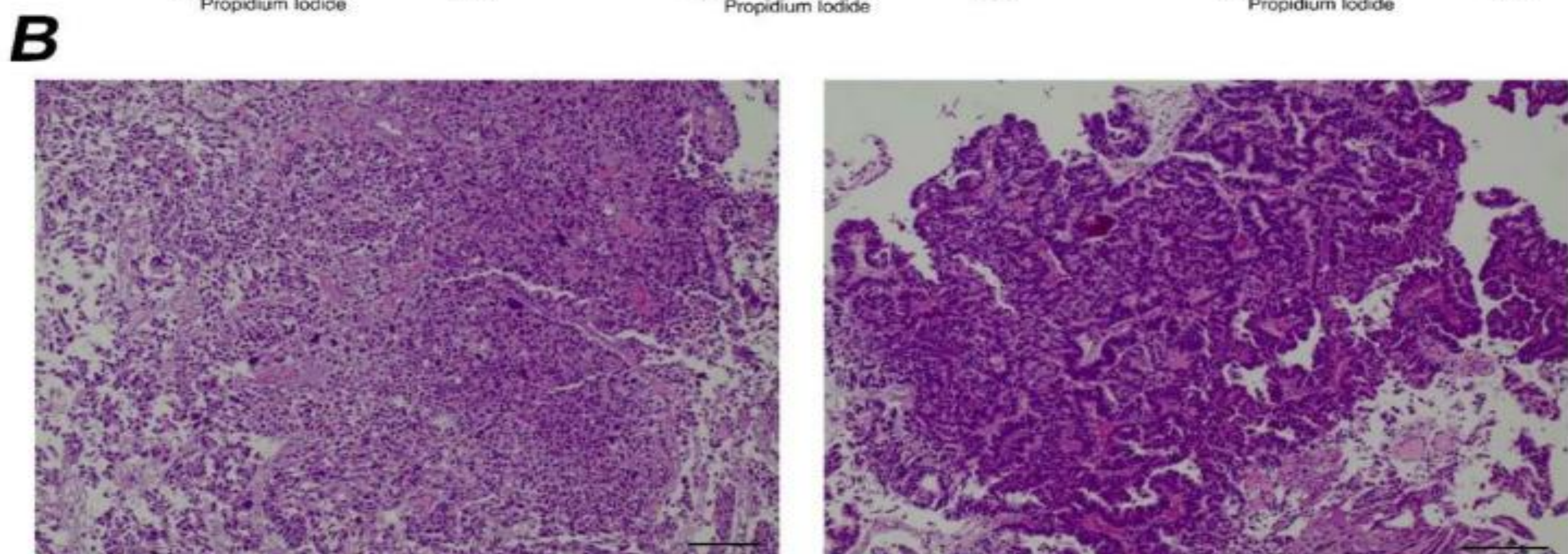
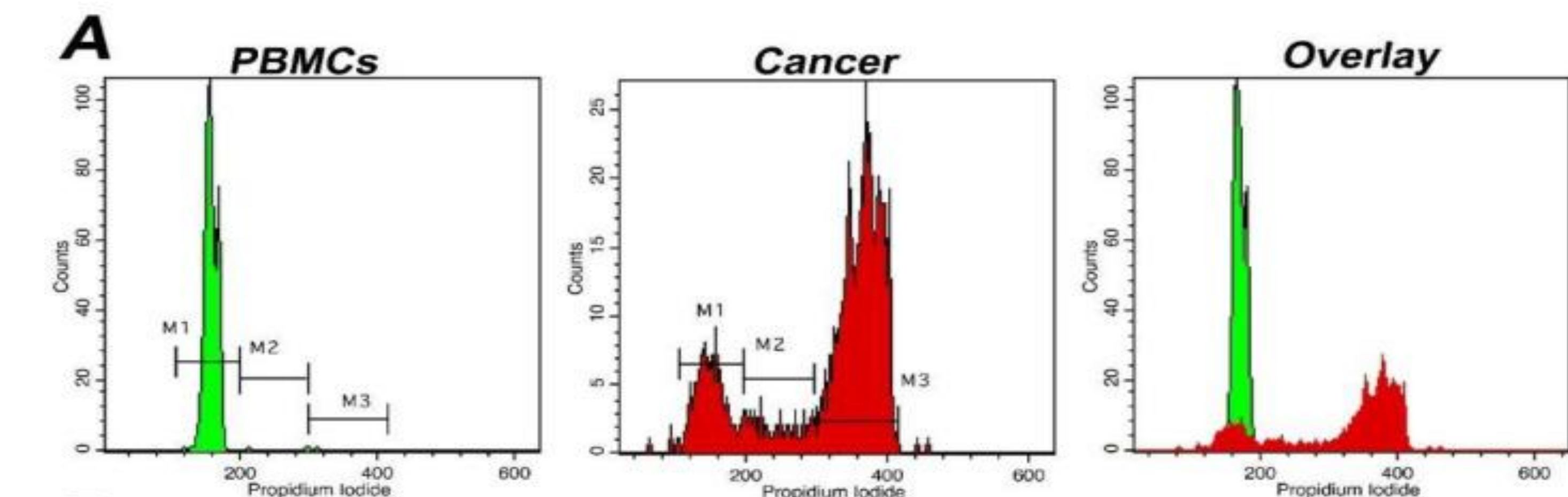
Εισαγωγή / Σκοπός: Η επιλεγμένη θεραπεία των νεοπλασμάτων της ουροδόχου κύστης είναι η πλήρης χειρουργική αφαίρεση του όγκου για τον τοπικοπεριοχικό έλεγχο της νόσου. Σε αυτό το πλαίσιο η εκτίμηση της κατάστασης των ορίων εκτομής παρουσιάζει καθοριστική σημασία. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η σύγκριση της διεγχειρητικής μελέτης του κυτταρικού κύκλου με κυτταρομετρία ροής (iFC) έναντι της κλασικής (gold standard) παθολογοανατομικής εκτίμησης.

Υλικά και Μέθοδοι: Κατά τη διάρκεια 102 TURBT ελήφθησαν τεμάχια ιστού από τα μακροσκοπικά όρια της βλάβης και εστάλησαν για κυτταρομετρική και παθολογοανατομική εκτίμηση. Η iFC οδηγεί σε ποσοτικοποίηση των φάσεων του κυτταρικού κύκλου G0/G1, S και G2/M. Με αυτό τον τρόπο υπολογίζονται:

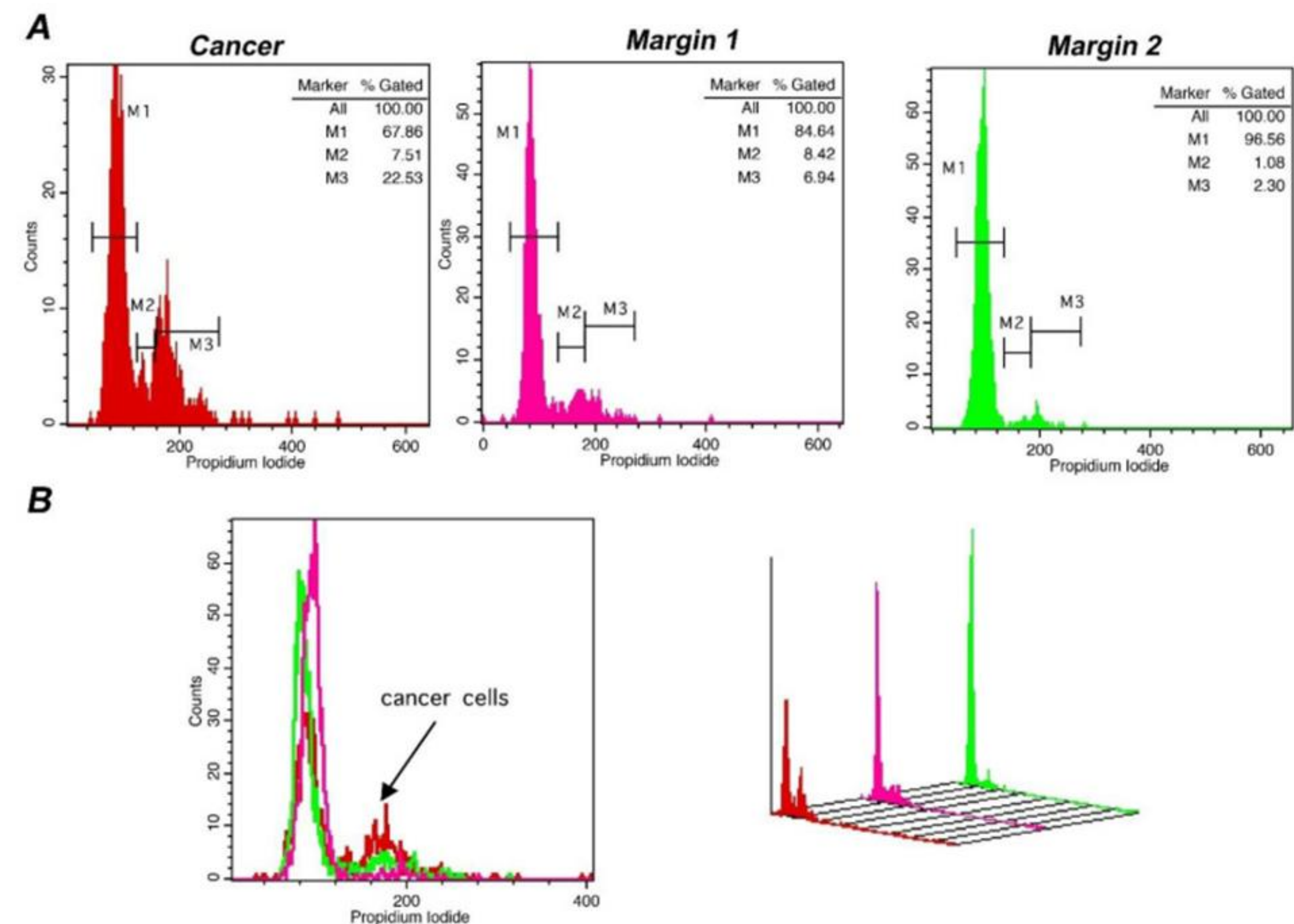
- ✓ Ο δείκτης κακοήθειας (Tumor Index, TI=S-phase + G2/M) ο οποίος αποτελεί έναν διεγχειρητικό δείκτη για τη διάκριση καρκινικού και φυσιολογικού ιστού.
- ✓ Ο δείκτης DNA (DNA Index, DI=DNA tumor cells (Geo Mean G0/G1) / DNA control cells (Geo Mean G0/G1). Τα διπλοειδικά φυσιολογικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης έχουν DNA Index=1. DI ≠1 είναι το μοναδικό κοινό χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα της διεγχειρητικής κυτταρομετρίας συσχετίστηκαν με τις ιστολογικές εκθέσεις επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματά της με απόλυτη συμφωνία σε όλα τα δείγματα.

Συμπεράσματα: Η ακρίβεια της iFC στην ανίχνευση των καρκινικών κυττάρων έχει επαληθευτεί με την απόλυτη συμφωνία με την παθολογοανατομική εκτίμηση. Παράλληλα, η iFC, πέρα της αντικειμενικότητας καθώς δεν εξαρτάται άμεσα από την εμπειρία εξειδικευμένων παθολογοανατόμων, πλεονεκτεί και στο χρόνο απάντησης διεγχειρητικά καθώς απαιτείται μικρός χρόνος για να ελεγχθούν όλα τα όρια στις ταχείες βιοψίες μειώνοντας το χειρουργικό χρόνο.



Εικόνα 1. Ανάλυση όγκου με υψηλό δείκτη κακοήθειας. **(Α)** Ιστογραμματική ανάλυση με τη χρήση της iFC όπου φαίνεται η κατανομή των φάσεων του κυτταρικού κύκλου. Μονοπύρνα κύτταρα περιφερικού αίματος/PBMCs (αριστερό πλαίσιο) και τα κύτταρα όγκου που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης (μεσαίο πλαίσιο) χρωματίστηκαν με ιωδιούχο προπύδιο σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Ιωαννίνων. Αλληλοεπικάλυψη των ιστογραμμάτων (δεξιό πλαίσιο). Οι δείκτες M1, M2, M3 χρησιμοποιούνται για τη οριοθέτηση των κυττάρων στις φάσεις G0/G1, S και G2/M, αντίστοιχα. **(Β)** Παθολογοανατομική μικροσκοπική εικόνα. Θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης, υψηλού βαθμού κακοήθειας, μετά από χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Αρχική μεγέθυνση ×40 (αριστερή φωτογραφία) και ×100 δεξιά φωτογραφία). Οι γραμμές κλίμακας αντιπροσωπεύουν 50 μ m (αριστερή φωτογραφία) και 100 μ m (δεξιά φωτογραφία), αντίστοιχα.



Εικόνα 2: Αξιολόγηση ορίου καρκίνου της ουροδόχου κύστης με της iFC. Η ποσοτικοποίηση των φάσεων του κυτταρικού κύκλου G0/G1, S και G2/M δίνεται από τους αντίστοιχους δείκτες M1, M2 και M3. Το κυτταρικό κλάσμα σε κάθε φάση (παρουσιάζεται στην επάνω δεξιά γωνία κάθε ιστογράμματος) χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό του δείκτη κακοήθειας, έναν δείκτη που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της παρουσίας κακοήθων κυττάρων σε ένα δεδομένο δείγμα. **(Α)** Ανάλυση DNA ενός δείγματος από το κέντρο του όγκου (κόκκινο), ενός θετικού ορίου (ροζ) και ενός αρνητικού ορίου (πράσινο). Τα πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα (αθροιστικό ποσοστό σε M2 και M3 ο Tumor-Index) επιτρέπει την αξιολόγηση της κατάστασης του ορίου, όπου ένα ποσοστό μεγαλύτερο από την τιμή αποκοπής του 6,5% (cut-off value) είναι ενδεικτικό της παρουσίας καρκινικών κυττάρων σε ένα δεδομένο όριο. Στην παρούσα περίπτωση, το όριο 1 είναι θετικό, με δείκτη κακοήθειας (Tumor-index) ~15%, ενώ το όριο 2 είναι αρνητικό, με δείκτη κακοήθειας ~3,4%, κάτω από την τιμή αποκοπής. **(Β)** Ιστογράμματα επικαλύψεων (overlays) σε 2 διαστάσεις (αριστερά) και 3 διαστάσεων (δεξιά). Η παρουσία πολλαπλασιαζόμενων καρκινικών κυττάρων ορίζεται από το μαύρο βέλος στη γραφική παράσταση 2-D plot.