

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ: ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ

Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ.

Διευθυντής: Καθηγητής Πατσούρης Ευστράτιος

ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΡΕΤΑΙΕΙΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ

Διευθύντρια: Επικ. Καθηγήτρια Πολίτη Αικατερίνη

ΘΕΜΑ

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ
ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ
ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΕΚ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ
ΚΥΣΤΕΩΣ

ΤΣΟΚΑΝΟΥ-ΚΟΥΛΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2013

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΕΩΣ ΓΙΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ
ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 26/5/2004

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ
ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 24/6/2004

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:
Ε. ΚΑΝΕΛΛΗ-ΚΟΥΤΣΕΛΙΝΗ, Ε. ΠΑΤΣΟΥΡΗΣ, ΑΙΚ. ΠΟΛΙΤΗ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 5/7/2004

ΘΕΜΑ: ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ
ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ
ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΕΚ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ
ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ 1^{ης} ΠΡΟΟΔΟΥ: 28/3/2005
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ 2^{ης} ΠΡΟΟΔΟΥ: 20/12/2006
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ 3^{ης} ΠΡΟΟΔΟΥ: 31/1/2013

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΕΩΣ: 1/2/2013

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 25/2/2013

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Ε. ΠΑΤΣΟΥΡΗΣ, Ε. ΚΟΥΤΣΕΛΙΝΗ, Ν. ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ, Σ. ΘΕΟΧΑΡΗΣ,
ΑΙΚ. ΠΟΛΙΤΗ, Χ. ΓΑΚΙΟΠΟΥΛΟΥ, Γ. ΘΩΜΟΠΟΥΛΟΥ.

ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΑΣΘ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΛΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΛΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ
ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ. **¶** ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. **¶** ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. **¶** ΟΥ ΤΕΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΛΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. **¶** ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. **¶** Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΗΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΙΔΥΤΑ. **¶** ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

	ΣΕΛ.
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	7
ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	9
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ	13
2. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΟΥΡΗΤΗΡΩΝ, ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΚΑΙ ΟΥΡΗΘΡΑΣ	14
3. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΗΤΗΡΩΝ, ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΚΑΙ ΟΥΡΗΘΡΑΣ	18
4. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ	22
4.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	22
4.2 ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	23
4.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	25
4.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	27
4.5 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ	29
4.6 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΟΓΚΩΝ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ	32
5. ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	42
5.1 ΚΑΛΟΗΘΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ	50
5.2 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΑ	57
6. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	70
7. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ	76
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΥΛΙΚΟ	79
ΜΕΘΟΔΟΣ	86
1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΑΝΤΙΣΣΩΜΑΤΩΝ	86

2.	ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	86
3.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	88
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	91
	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	149
1.	C-MYC	149
2.	P53	151
3.	P21WAF1/CIP	154
4.	P27Kip1	157
5.	Ki-67	159
6.	P63	161
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	166
	SUMMARY	168
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	169

*Στη μνήμη
των γονέων μου*

Στο σύζυγό μου

Στα παιδιά μου

Στα αδέρφια μου

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	:Βασιλική Τσόκανου
ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ	:Ελευθέριος
ΟΝΟΜΑΤ/ΝΥΜΟ ΣΥΖΥΓΟΥ	:Στέφανος Κούλης
ΗΜΕΡ. ΓΕΝΝΗΣΗΣ	:7/9/1954
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ	:Τέμπη Λαρίσης
ΤΟΠΟΣ ΔΙΑΜΟΝΗΣ	:Πάτρα
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	:Έγγαμος (πέντε τέκνα)
ΣΠΟΥΔΕΣ	:Πτυχιούχος Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ	:Αγγλικά
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	:Κυτταρολόγος

Ειδικεύτηκα στην Κυτταρολογία στο Κυτταρολογικό Εργαστήριο του Π.Γ.Ν. " Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ " υπό την επίβλεψη της Διευθύντριας και καθηγήτριας κ. Ελένης Κουτσελίνη. Πραγματοποίησα το χρόνο της Παθολογικής Ανατομικής στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Ν.Ν.Θ. " ΣΩΤΗΡΙΑ " υπό την επίβλεψη της Διευθύντριας κ. Έρας Παπασταμίου.

Από το 1990 - 1999 εργάστηκα στην Πάτρα στον Ιδιωτικό τομέα (ιδιωτικό ιατρείο) ως ειδικευμένη κυτταρολόγος.

Το 1999 διορίστηκα στο Κυτταρολογικό Εργαστήριο του Γ.Π.Ν. Πατρών " Ο ΑΓΙΟΣ ΑΝΔΡΕΑΣ " με το βαθμό της επιμελήτριας Α', έχοντας και την επιστημονική ευθύνη του τμήματος, το οποίο και διοργάνωσα, μέχρι 22/6/06.

Από 23/6/06 εως σήμερα υπηρετώ στο ανωτέρω τμήμα με το βαθμό Διευθύντριας.

Είμαι μέλος της Ελληνικής Κυτταρολογικής εταιρείας και της Γηριατρικής Εταιρείας Δυτικής Ελλάδας .

Έχω συμμετάσχει σε αρκετά συνέδρια και σεμινάρια στην Ελλάδα και στο εξωτερικό με ανακοινώσεις ή διαλέξεις και ως μέλος οργανωτικής ή επιστημονικής επιτροπής.

Εργασίες μου έχουν δημοσιευθεί σε Ελληνικά και ξένα περιοδικά.

Έχω συμμετάσχει ως εκπαιδεύτρια σε προγράμματα συνεχούς εκπαίδευσης ιατρικού και παραϊατρικού προσωπικού.

Έχω τοποθετηθεί το 2011 ως υπεύθυνη Κυτταρολόγος στην υλοποίηση και παρακολούθηση του προγράμματος Πληθυσμιακού ελέγχου για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας της 6ης Υγειονομικής Περιφέρειας, καθώς και σε πρόγραμμα πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας του Κοινωνικού Τομέα του Δήμου Πατρών.

Έχω τοποθετηθεί το 2011 ως αναπληρωματικό μέλος στην εξεταστική επιτροπή για Ειδικότητα Κυτταρολογίας στην Περιφέρεια Ηπείρου.

Έχω συμμετάσχει σε πολλές επιτροπές αξιολόγησης διαγωνισμών για προμήθειες υλικοτεχνικού εξοπλισμού στο Νοσοκομείο.

Συμμετέχω στην εκπαίδευση των ειδικευομένων της Μαιευτικής και Γυναικολογικής κλινικής του Νοσοκομείου για το δίδμηνο της Κυτταρολογίας.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ- ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Κατά τα τελευταία έτη με τις εξελίξεις της ανοσολογίας της γενετικής και της μοριακής βιολογίας και την εφαρμογή αυτών στην βιολογία των όγκων ανακαλύφθηκαν πολλά γονίδια και προϊόντα αυτών τα οποία εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης.

Παρομοίως, όπως και σε άλλα κακοήθη νεοπλάσματα, ο καρκίνος του μεταβατικού επιθηλίου της ουροδόχου κύστεως έχει σχέση με μία σειρά γενετικών αλλαγών που καθορίζουν την έκφραση του κακοήθους φαινοτύπου. Στα ουροθηλιακά καρκινώματα παρατηρήθηκαν πλήθος γενετικών και επιγενετικών ανωμαλιών, συμπεριλαμβανομένων και των χρωμοσωμιακών ανωμαλιών και της ενεργοποίησης ογκογονιδίων, της απενεργοποίησης ογκοκατασταλτικών γονιδίων, της απώλειας ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και, τέλος, των μεταβολών στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Τα ουροθηλιακά καρκινώματα διακρίνονται σε δύο φαινοτυπικές ποικιλίες με διαφορετική βιολογική συμπεριφορά και πρόγνωση αλλά και διαφορετικούς μηχανισμούς ανάπτυξης και διακρίνονται παραδοσιακά στο επιπολής και το διηθητικό με βάση την ιστοπαθολογική εξέταση και την κλινική συμπεριφορά.

Παρά την «ήπια» εμφάνιση των επιπολής καρκινωμάτων, το ποσοστό υποτροπής φτάνει το 70%, καθιστώντας απαραίτητη τη μακροχρόνια παρακολούθηση του ασθενούς. Επιπλέον, το 1/3 των καρκινωμάτων που υποτροπιάζουν τελικά θα μεταπέσουν σε νεόπλασμα μεγαλύτερου βαθμού κακοηθείας και σταδίου.

Σήμερα, η θεραπευτική προσέγγιση των ουροθηλιακών καρκινωμάτων βασίζεται στην ιστοπαθολογική εκτίμηση του βαθμού κακοηθείας και του σταδίου ως των κύριων προγνωστικών παραμέτρων. Παρά το γεγονός ότι οι δυο κλασικοί αυτοί παράγοντες σαφώς παρέχουν πολύτιμα στοιχεία για την πρόβλεψη της βιολογικής συμπεριφοράς, ωστόσο τα ουροθηλιακά

νεοπλάσματα παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Η ικανότητα να προβλέψει κανείς με ακρίβεια το πραγματικό δυναμικό καθενός νεοπλάσματος θα οδηγούσε σε μια περισσότερο εξατομικευμένη και, σίγουρα, πιο αποτελεσματική θεραπευτική αντιμετώπιση.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται μελέτες γύρω από την έκφραση ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων στα νεοπλασματικά κύτταρα και τη συσχέτισή τους με το βαθμό κακοήθειας, το στάδιο και την πιθανότητα υποτροπής του καρκινώματος της ουροδόχου κύστεως. Ωστόσο τα αποτελέσματα δεν είναι σαφή και συχνά είναι αντικρουόμενα. Επιπλέον, όλες οι μελέτες έχουν γίνει σε βιοπτικό υλικό.

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύτηκε ανοσοϊστοχημικά η έκφραση του ογκογονιδίου **c-myc**, του ογκοκατασταλτικού γονιδίου **p53**, των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο **p21**^{WAF/Cip1} και **p27**^{kip1} και του δείκτη πολλαπλασιασμού **Ki-67** σε κυτταρολογικό υλικό και ιστολογικές τομές κύβων παραφίνης από ασθενείς με ουροθηλιακό καρκίνωμα ουροδόχου κύστεως. Επιπρόσθετα, έγινε διερεύνηση της έκφρασης της πυρηνικής πρωτεΐνης **p63**, που είναι μέλος της οικογένειας γονιδίων p53 και για την οποία τα δεδομένα στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως είναι ελάχιστα. Τα ευρήματα συσχετίστηκαν με το βαθμό κακοήθειας, το στάδιο του νεοπλάσματος και τις υποτροπές.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Κυτταρολογικό εργαστήριο του Αρεταίειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου σε συνεργασία με το Κυτταρολογικό και το Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Γενικού Νοσοκομείου "Άγιος Ανδρέας" Πατρών κατά το χρονικό διάστημα 2004-2012.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους με βοήθησαν στην πραγματοποίηση αυτής της διατριβής και, κυρίως, τα μέλη της τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Τον Καθηγητή κ. Ε. Πατσούρη, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Ε. Κουτσελίνη και την Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Α. Πολίτη για την έγκριση της έναρξης της παρούσας ερευνητικής μελέτης και τις πολύτιμες συμβουλές και σωστές κατευθύνσεις που μου έδωσαν. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Διευθύντρια του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Γενικού Νοσοκομείου "Άγιος Ανδρέας" Πατρών κ. Μ. Ρεπαντή για την εξασφάλιση των ιστολογικών υλικών αυτής της διατριβής, την παρασκευάστρια κ. Πλούμη Καλλιόπη για τη βοήθειά της στην εκτέλεση των ανοσοϊστοχημικών χρώσεων, τον Ιατρό-Κυτταρολόγο κ. Σκάγια Λάζαρο για τη σημαντική του βοήθεια στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και την κ. Κων/να Κανδρή εκπαιδεύτρια στο εργαστήριο Εργασιών Γραφείου του Ε.Κε.Ψ.Υ.Ε. Πατρών, για την πολύτιμη βοήθειά της στη δακτυλογράφηση και εκτύπωση της διατριβής.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ

Η ουροδόχος κύστη προέρχεται από την αμάρα και τους μεσонеφρικούς πόρους. Η πρωτογενής αμάρα χωρίζεται από το ουρο - ορθικό διάφραγμα στον ουρογεννητικό σωλήνα και στο ορθό. Ο ουρογεννητικός σωλήνας βρίσκεται στο οπίσθιο τοίχωμα του εμβρυϊκού κοιλώματος και διαιρείται σε τρεις περιοχές [1] :

1. την κρανιακή ή κυστική
2. τη μέση ή πυελική &
3. την ουριαία ή φαλλική

Η πρώτη, η κρανιακή ή κυστική περιοχή του ουρογεννητικού σωλήνα έρχεται σε επαφή με τους μεσонеφρικούς πόρους και τον αλλαντοειδή υμένα. Από τον αλλαντοειδή υμένα θα σχηματιστεί η ουροδόχος κύστη.

Από τη δεύτερη περιοχή τη μέση ή πυελική σχηματίζονται στον άνδρα, η προστατική μοίρα της ουρήθρας, το επιθήλιο, η υμενώδης μοίρα της ουρήθρας και οι βουμβουρηθραίοι αδένες και στη γυναίκα η υμενώδης μοίρα της ουρήθρας και ένα τμήμα του κόλπου.

Τέλος, από την τρίτη περιοχή, την ουραία ή φαλλική σχηματίζεται η σπραγγώδης μοίρα της ουρήθρας στον άνδρα και ο πρόδρομος του κολεού στη γυναίκα.

Ο αλλαντοειδής υμένας μετά τη γέννηση εκφυλίζεται και σχηματίζει τον ουραχό και στη συνέχεια το μέσο ομφαλοκυστικό σύνδεσμο, ο οποίος εκτείνεται από το θόλο της ουροδόχου κύστεως μέχρι τον ομφαλό. Από το σημείο επαφής του κρανιακού άκρου με τους μεσонеφρικούς πόρους σχηματίζεται το τρίγωνο της κύστεως. Με την ανάπτυξη και διόγκωση της

κύστεως, οι μεσонеφρικοί πόροι ενσωματώνονται στο τοίχωμα της κύστεως και παρασύρουν μαζί και τους ουρητήρες.

Με την περαιτέρω ανάπτυξη σχηματίζονται τα ουρητηρικά στόμια και, τελικά, οι ουρητήρες καταλήγουν στη βάση της κύστεως αμφοτερόπλευρα, ενώ οι μεσонеφρικοί πόροι ενώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν την προστατική μοίρα της ουρήθρας και τους σπερματικούς πόρους στον άνδρα, ενώ στη γυναίκα εκφυλίζονται.

Το μεταβατικό επιθήλιο της ουροδόχου κύστεως προέρχεται από το ενδόδερμα του ουρογεννητικού σωλήνα, το χόριο και ο μυϊκός ιστός προέρχονται από το γειτονικό σπλαχνικό μεσέγχυμα [2]. Το επιθήλιο του κυστικού τριγώνου στην αρχή έχει μεσοδερμική προέλευση και στη συνέχεια αντικαθίσταται από ενδοδερμική προέλευση.

2. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΩΝ ΟΥΡΗΤΗΡΩΝ, ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΟΥΡΗΘΡΑΣ.

Οι ουρητήρες βρίσκονται πάνω στο μείζονα ψοΐτη μυ πίσω από το τοιχωματικό περιτόναιο, στο οποίο είναι προσκολλημένοι. Και στις δυο πλευρές οι ουρητήρες διασχίζουν τα μηρογεννητικά νεύρα και διασταυρώνονται με τα αγγεία των γεννητικών αδένων. Ο δεξιός ουρητήρας βρίσκεται πίσω από το τρίτο τμήμα του δωδεκαδακτύλου και, καθώς αυτός κατέρχεται, διασταυρώνεται με τα ειλεοκολικά αγγεία και την πρόσφυση του μεσεντερίου.

Ο αριστερός ουρητήρας διασταυρώνεται με τα αριστερά κολικά αγγεία και στην είσοδο της πυέλου με το ακραίο σημείο του μεσοσιγμοειδούς. Ο μείζων ψοΐτης διαχωρίζει τον ουρητήρα από τις εγκάρσιες αποφύσεις των

οσφυϊκών σπονδύλων. Στην ακτινογραφία ο ουρητήρας φαίνεται να βρίσκεται κατά μήκος των κορυφών των εγκάρσιων αποφύσεων και μπροστά από την ιερολαγόνιο άρθρωση.

Στην εγχείρηση μπορεί να διαχωριστεί από τα νεύρα και τα αγγεία σαν μη παλλόμενη λευκωπή χορδή, η οποία είναι προσκολλημένη στο περιτόναιο και δείχνει περισταλτική δραστηριότητα, όταν τσιμπηθεί από μια λαβίδα.

Ο ουρητήρας μπαίνοντας στην ελάσσονα πύελο διασταυρώνεται με το πρόσθιο έως το τελικό τμήμα της κοινής λαγονίου αρτηρίας.

Το πυελικό τμήμα του ουρητήρα βρίσκεται στο πλαϊνό τοίχωμα της πυέλου όπου έρχεται σε επαφή με κλάδους της έσω λαγονίου αρτηρίας.

Στους άνδρες ο σπερματικός πόρος διασταυρώνεται με τον ουρητήρα, πριν φτάσει στην οπίσθια επιφάνεια της ουροδόχου κύστεως, ενώ στις γυναίκες η μητρίαία αρτηρία περνάει πάνω από τον ουρητήρα πολύ κοντά στον πλάγιο θόλο του κόλπου.

Ο αυλός του ουρητήρα δεν είναι ομοιόμορφος σε όλη την έκτασή του. Είναι στενότερος στην πυελοουρητηρική συμβολή όπου διέρχεται από τον διχασμό της κοινής λαγονίου αρτηρίας και εισέρχεται στην ουροδόχο κύστη. Μια νεφρική πέτρα που διέρχεται τον ουρητήρα μπορεί να κρατηθεί σε οποιαδήποτε θέση. Η αίσθηση του πόνου από τον ουρητήρα μεταφέρεται μέσω του συμπαθητικού νεύρου και αντανακλάται από την οσφύ στη βουβωνική χώρα και στο έσω τμήμα του μηρού.

Η παροχή του αίματος στον ουρητήρα γίνεται από κλάδους της νεφρικής αρτηρίας, της αρτηρίας των γεννητικών αδένων, της κυστικής και της μητρίαίας αρτηρίας, οι οποίες αναστομώνονται στον έσω χιτώνα του τοιχώματος. Η παροχή του αίματος, ως εκ τούτου, διακόπτεται όταν απογυμνωθεί από τον εσωτερικό του χιτώνα.

Η κενή ουροδόχος κύστη έχει μια άνω επιφάνεια, δύο κάτω πλάγιες και μια βάση. Η βάση βλέπει πίσω. Το κατώτερο τμήμα της κύστεως το οποίο

βρίσκεται σε συνέχεια με την ουρήθρα είναι γνωστό σαν αυχένας της κύστεως. Μόνο το ανώτερο τμήμα της κύστεως καλύπτεται από περιτόναιο. Το σιγμοειδές ακουμπάει στην άνω επιφάνεια της ουροδόχου κύστεως. Το σώμα της μήτρας βρίσκεται πάνω από την ουροδόχο κύστη στις γυναίκες και ο ενδοκολπικός τράχηλος και ο κόλπος ξεχωρίζουν την οπίσθια επιφάνεια από τον οπίσθιο δουλγάσσειο θόλο και το ορθό.

Η οπίσθια επιφάνεια της κύστεως στον άνδρα έρχεται σε επαφή με τις σπερματοδόχους κύστεις και τους σπερματικούς πόρους, που βρίσκονται κάτω από τον πρόσθιο δουλγάσσειο θόλο, πίσω από τον οποίο βρίσκεται το ορθό.

Ο βλεννογόνος της κενής κύστεως σχηματίζει πτυχές. Αυτές εξαφανίζονται όταν η κύστη διαστέλλεται. Η εσωτερική επιφάνεια του οπισθίου τοιχώματος είναι λεία. Αυτό είναι γνωστό σαν «το τρίγωνο της κύστεως» και ενώνεται πλευρικά με τα στόμια των ουρητήρων και κάτω με την ουρήθρα. Στον άνδρα το τρίγωνο βρίσκεται πάνω από το μέσο τμήμα της κεντρικής ζώνης του προστάτη, ο οποίος μετά τη μέση ηλικία, προβάλλει πάνω από το εσωτερικό στόμιο της ουρήθρας σαν η σταφυλή της κύστεως. Στο άνω όριο του τριγώνου είναι η μεσοουρητική ακρολοφία (ενδοουρητηρική κορυφογραμμή ή πλάκα), η οποία εκτείνεται ανάμεσα στα δύο ουρητηρικά στόμια. Οι ουρητήρες πορεύονται στο πλάγιο τοίχωμα της κύστεως που πριν την κατάληξή τους έχουν ένα σα βαλβίδα μηχανισμό, ο οποίος προλαμβάνει την παλινδρόμηση των ούρων μέσα σ' αυτούς, κατά τη διάρκεια της σύσπασης της κύστεως.

Ο βλεννογόνος της κύστεως καλύπτεται από μεταβατικό επιθήλιο, το οποίο δεν απορροφά τα ούρα. Ο υποκείμενος μυς είναι ο εξωστήρ μυς, οι ίνες του οποίου βρίσκονται σε διαφορετικές κατευθύνσεις και συμπλέκονται μεταξύ τους. Σε απόφραξη του ουροποιητικού, ο εξωστήρ μυς υπερτρέφεται και το διάστημα ανάμεσα στις ίνες χαλαρώνει και δημιουργεί στην κύστη

εκκολπώματα. Τα ούρα μαζεύονται στα εκκολπώματα χωρίς να αδειάζουν και δημιουργούν φλεγμονές στην κύστη. Ο μυς του τριγώνου είναι διαφορετικός από τον εξωστήρα μυ. Αυτός εκτείνεται στο κάτω τμήμα των ουρητήρων καθώς και μέσα στην ουρήθρα. Στον αυχένα της κύστεως ο τριγωνικός μυς είναι κυκλικός στους άνδρες και σχηματίζει τον εσωτερικό σφιγκτήρα της ουροδόχου κύστεως. Αυτός προλαμβάνει την παλινδρόμηση του σπέρματος στην κύστη κατά την εκσπερμάτιση.

Στη γυναικεία ουροδόχο κύστη, οι ίνες είναι επιμήκεις και δεν σχηματίζουν σφιγκτήρα στον αυχένα. Η κύστη νευρώνεται από τα συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά νεύρα. Το κινητικό κέντρο που νευρώνει την κύστη είναι από τα παρασυμπαθητικά νεύρα, τα S_{2,3,4}, (πυελικά σπλαχνικά νεύρα), εκτός από τον μυ του τριγώνου και τον εσωτερικό σφιγκτήρα, τα οποία νευρώνονται από τα συμπαθητικά. Η αίσθηση της κυστικής διάτασης της κύστεως γίνεται μέσω των παρασυμπαθητικών νεύρων, ενώ ο πόνος μεταφέρεται και από τα δύο, παρασυμπαθητικά και συμπαθητικά νεύρα.

Η ανδρική ουρήθρα είναι περίπου 20cm σε μήκος και έχει τρία τμήματα: 1. Την προστατική ουρήθρα (περνάει δια μέσου του προστάτη)
2. Τη μεμβρανώδη ουρήθρα (δια μέσου του εν τω βάθει περινεϊκού εκκολπώματος) και 3. Την πείκη ουρήθρα (δια μέσου των σφραγγωδών σωμάτων του πέους)

3. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΗΤΗΡΩΝ, ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ ΚΑΙ ΟΥΡΗΘΡΑΣ

Ουρητήρες

Κάθε ουρητήρας (3-4 mm σε διάμετρο και 25-30cm μήκος) διατρύπεται τη βάση της ουροδόχου κύστεως. Οι ουρητήρες είναι κενοί κυλινδρικοί σωλήνες, αποτελούνται από βλεννογόνο που επενδύει τον αυλό, και καλύπτεται από μυϊκό χιτώνα και ινώδη συνδετικό ιστό. Ο βλεννογόνος συνίσταται από μεταβατικό επιθήλιο, το οποίο επικαλύπτει μία στιβάδα από πυκνό, ανώμαλο ινοβλαστικό συνδετικό ιστό ο οποίος αποτελεί το χόριο. Το επιθήλιο χωρίζεται από το υποκείμενο χόριο με τη βασική μεμβράνη. Ο μυϊκός χιτώνας του ουρητήρα αποτελείται από δύο αδιαχώριστες στιβάδες λείων μυϊκών κυττάρων. Η εξωτερική στιβάδα είναι τοποθετημένη κυκλωτερώς και η εσωτερική στιβάδα επιμήκως. Όμως, στο κατώτερο τριτημόριο, κοντά στην ουροδόχο κύστη, μία τρίτη μυϊκή στιβάδα, προστίθεται στις υπάρχουσες δύο στιβάδες, οι ίνες της οποίας προσανατολίζονται επιμήκως. Ο ινώδης εξωτερικός χιτώνας του ουρητήρα δεν είναι σημαντικός. Μυϊκή σύσπαση του ουρητηρικού τοιχώματος προκαλεί περισταλτικά κύματα, τα οποία μεταφέρουν τα ούρα στην ουροδόχο κύστη. Στην περιοχή όπου οι ουρητήρες διατρύπουν την οπίσθια θέση της βάσης της ουροδόχου κύστεως, ένα τμήμα βλεννογόνου σαν βαλβίδα κρέμεται πάνω από κάθε ουρητηρικό στόμιο, προλαμβάνοντας την παλινδρόμηση των ούρων από την κύστη πίσω στους ουρητήρες.

Ουροδόχος κύστη

Η ουροδόχος κύστη αποθηκεύει ούρα έως ότου η πίεση γίνει επαρκής για να προκαλέσει την ώθηση για ούρηση. Ο βλεννογόνος της ουροδόχου κύστεως δρα επίσης ως ωσμωτικός φραγμός ανάμεσα στα ούρα και στο χόριο. Ο βλεννογόνος της κύστεως αποτελείται από μεταβατικό επιθήλιο. Τα μεγάλα στρογγυλά σε σχήμα θόλου κύτταρα εκ του μεταβατικού επιθηλίου γίνονται επίπεδα κατά τη διάρκεια της διάτασης. Η προσαρμογή του κυτταρικού σχήματος γίνεται επειδή το plasmalemma των κυττάρων του μεταβατικού επιθηλίου, αποτελεί ένα μωσαϊκό από εξειδικευμένες, άκαμπτες, πεπαχυσμένες πλάκες διασπαρμένες από φυσιολογικές κυτταρικές μεμβράνες (interplaque regions). Οι πλάκες εμφανίζονται να είναι αδιαπέραστες στο νερό και το αλάτι. Έτσι αυτά τα κύτταρα δρουν σαν ωσμωτικοί φραγμοί ανάμεσα στα ούρα και στο υποκείμενο χόριο. Τα επιφανειακά κύτταρα συνδέονται με δεσμοσώματα, τα οποία βοηθούν στο σχηματισμό του ωσμωτικού φραγμού. Όταν η κύστη είναι κενή, οι πλάκες σχηματίζουν πτυχές με ανώμαλα γωνιώδη περιγράμματα, τα οποία εξαφανίζονται όταν τα κύτταρα απλώνονται. Η τριγωνική περιοχή της κύστεως, της οποίας οι κορυφές είναι τα στόμια των δύο ουρητήρων και της ουρήθρας καλείται τρίγωνο της κύστεως. Το χόριο της κύστεως υποδιαιρείται σε δύο στιβάδες: μία επιφανειακή από πυκνό, ανώμαλο κολλαγόνο συνδετικό ιστό και μία βαθύτερη, χαλαρότερη στιβάδα συνδετικού ιστού που περιέχει κολλαγόνες και ελαστικές ίνες. Το χόριο δεν περιέχει αδένες, αλλά στην περιοχή που περιβάλλει το στόμιο της ουρήθρας, βλεννώδεις αδένες μπορεί να βρεθούν. Αυτοί οι αδένες εκκρίνουν ένα καθαρό ιξώδες υγρό, το οποίο προφανώς επαλείφει το ουρηθρικό στόμιο.

Ο μυϊκός χιτώνας της ουροδόχου κύστεως αποτελείται από τρεις διαπλεκόμενες στιβάδες λείων μυϊκών ινών. Στην περιοχή του αυχένα της

κύστεως αυτές οι στιβάδες διατάσσονται σαν μία λεπτή, εσωτερική επιμήκης στιβάδα, μια παχιά μεσαία κυκλωτερή στιβάδα και μία λεπτή εξωτερική επιμήκη στιβάδα. Γύρω από το εσωτερικό στόμιο της ουρήθρας, η μεσαία κυκλωτερής στιβάδα σχηματίζει τον εσωτερικό σφιγκτήρα. Ο έξω χιτώνας της κύστεως αποτελείται από ένα πυκνό, ανώμαλο τύπο κολλαγόνου συνδετικού ιστού, που περιέχει πολλές ελαστικές ίνες. Μερικές περιοχές του εξωτερικού χιτώνα καλύπτονται από ένα ορογόνο χιτώνα, ενώ άλλες περιοχές μπορεί να περιβάλλονται από λιπώδη ιστό.

Ουρήθρα

Η ουρήθρα αδειάζει την κύστη και επικοινωνεί με το εξωτερικό περιβάλλον, επιτρέποντας την αποβολή των ούρων από το σώμα. Στην περιοχή όπου η ουρήθρα διαπερνά το περίνεο, σκελετικές μυϊκές ίνες σχηματίζουν τον εξωτερικό μυϊκό σφιγκτήρα που περιβάλλει την ουρήθρα. Ο μυς επιτρέπει τον εκούσιο έλεγχο της ούρησης. Η ουρήθρα του άνδρα είναι πιο μακριά από της γυναίκας και έχει διπλή λειτουργία, επειδή επιτρέπει τη διέλευση τόσο των ούρων όσο και του σπέρματος.

Ανδρική ουρήθρα

Η ανδρική ουρήθρα έχει μήκος 15-20 cm και οι τρεις περιοχές της είναι: η προστατική, η μεμβρανώδης και η πεϊκή.

Η προστατική ουρήθρα: (3-4 cm σε μήκος) βρίσκεται εξ' ολοκλήρου στον προστατικό αδένα. Καλύπτεται από μεταβατικό επιθήλιο και δέχεται τα ανοίγματα πολλών μικροσκοπικών πόρων του προστάτη, του προστατικού κόλπου (ένας υποτυπώδης κόλπος, ομόλογος προς τον κόλπο της μήτρας) και ενός ζευγαριού γεννητικών αδένων.

Η μεμβρανώδης ουρήθρα: (μήκους 1-2 cm) περνάει μέσα από την περινεϊκή μεμβράνη (ουρογεννητικό διάφραγμα). Καλύπτεται από πολύστιβο κυλινδρικό επιθήλιο με διάσπαρτα κομμάτια από ψευδοπολύστιβο κυλινδρικό επιθήλιο.

Η σπογγώδης ουρήθρα: (πεική ουρήθρα) (μήκους 15 cm) βρίσκεται στο σφραγγώδες σώμα. Περνάει κατά μήκος του πέους και καταλήγει στην άκρη της βαλάνου του πέους ως το εξωτερικό ουρηθρικό στόμιο. Η σπογγώδης ουρήθρα καλύπτεται από πολύστιβο κυλινδρικό επιθήλιο με διάσπαρτα κομμάτια από ψευδοπολύστιβο κυλινδρικό και πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο. Το αποπλατυσμένο τελικό τμήμα της ουρήθρας στην βάλανο του πέους καλείται σκαφοειδής βόθρος και το οποίο καλύπτεται από πολύστιβο πλακώδες, μη κερατινοποιημένο επιθήλιο.

Το χόριο και των τριών περιοχών της ανδρικής ουρήθρας αποτελείται από έναν χαλαρό ινοελαστικό συνδετικό ιστό με πλούσια αγγειακή παροχή. Περιέχει πολυάριθμους κυψελοειδείς αδένες (Λίτρειοι αδένες), των οποίων η έκκριση της βλέννας επαλείφει το επιθήλιο της ουρήθρας.

Γυναικεία ουρήθρα

Η γυναικεία ουρήθρα (μήκους 4 έως 5cm) εκτείνεται από την ουροδόχο κύστη στο εξωτερικό στόμιο της ουρήθρας ακριβώς πάνω και στο πρόσθιο άνοιγμα του κόλπου. Καλύπτεται από μεταβατικό επιθήλιο κοντά στην κύστη και από πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο στο υπόλοιπο τμήμα. Ο βλεννογόνος σχηματίζεται από επιμήκεις πτυχές εξαιτίας της ινοελαστικής σύστασης του χορίου. Πολυάριθμοι βλεννοεκκριτικοί αδένες του Littre μπορούν να βρεθούν κατά μήκος της ουρήθρας. Ένα λεπτό αγγειώδες κάλυμμα στυτικού ιστού περιβάλλει τον βλεννογόνο, παρόμοιο με το σφραγγώδες σωματίο του άνδρα. Η μυϊκή στιβάδα της ουρήθρας είναι συνέχεια με τη μυϊκή στιβάδα της κύστεως και αποτελείται από δύο μόνο

στιβάδες, μία επιμήκη εσωτερική και μία κυκλοτερή εξωτερική στιβάδα λείων μυϊκών ινών. Στην περιοχή όπου η ουρήθρα διαπερνά το περίνεο (ουρογεννητικό διάφραγμα) ένας σφιγκτήρας από σκελετικούς μυς περιβάλλει αυτήν και επιτρέπει τον εκούσιο έλεγχο της ούρησης [3, 4, 5, 6, 7, 8].

4. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

4.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Οι τρεις κύριοι τύποι καρκίνου που προσβάλλουν την κύστη είναι: το ουροθηλιακό καρκίνωμα (γνωστό ως καρκίνωμα μεταβατικού τύπου), το πλακώδες καρκίνωμα και το αδενοκαρκίνωμα.

Αυτοί οι τρεις τύποι καρκίνου μπορούν επίσης να αναπτυχθούν στο καλυπτικό επιθήλιο των νεφρών (γνωστό σαν καρκίνωμα νεφρικής πυέλου), των ουρητήρων και της ουρήθρας.

Το ουροθηλιακό καρκίνωμα (εκ του μεταβατικού επιθηλίου) είναι από παλιά ο πιο συχνός τύπος καρκίνου της κύστεως και το ποσοστό του ανέρχεται πάνω από το 90%.

Το πλακώδες καρκίνωμα αποτελεί το 3% έως 8% των περιπτώσεων του καρκίνου της κύστεως. Σχεδόν όλα τα πλακώδη καρκινώματα είναι διηθητικά.

Τα αδενοκαρκινώματα αποτελούν μόνο το 1% έως 2% των καρκινωμάτων της κύστεως. Σχεδόν όλα τα αδενοκαρκινώματα της κύστεως είναι διηθητικά επίσης.

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως είναι ο έβδομος σε συχνότητα καρκίνος στις Η.Π.Α. [9, 10]. Η Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία είχε εκτιμήσει ότι το 2003 αναμένονταν 57.000 περίπου νέες περιπτώσεις καρκίνου ουροδόχου κύστεως (42.000 άνδρες και 15.000 γυναίκες). Κατά το

ίδιο έτος αναμένονταν επίσης 12.500 θάνατοι από καρκίνο της ουροδόχου κύστεως (8.500 άνδρες και 4.000 γυναίκες). Η ετήσια επίπτωση της νόσου είναι περίπου 23 νέες περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους για τους άνδρες και 5.5 νέες περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους για τις γυναίκες. Η ετήσια θνησιμότητα είναι περίπου 4 θάνατοι ανά 100.000 κατοίκους ανάμεσα στους άνδρες και 2 θάνατοι στους 100.000 κατοίκους ανάμεσα στις γυναίκες.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση η επίπτωση της νόσου είναι μικρότερη. Η ετήσια επίπτωση της νόσου είναι 18 νέες περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους στους άνδρες και 3.5 περιπτώσεις στις γυναίκες. Η θνησιμότητα ανέρχεται στους 3.5 θανάτους ανά 100.000 κατοίκους στους άνδρες και 1.5 θανάτους ανά 100.000 κατοίκους στις γυναίκες.

4.2 ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Σαν παράγοντες κινδύνου για τη νόσο μπορούν να θεωρηθούν:

Το κάπνισμα: είναι ο μεγαλύτερος παράγων κινδύνου για τον καρκίνο της κύστεως. Οι καπνιστές έχουν περισσότερες από δύο φορές την πιθανότητα να προσβληθούν από καρκίνο από ότι οι μη καπνιστές. Το κάπνισμα προκαλεί περίπου τους μισούς θανάτους από τον καρκίνο της κύστεως στους άνδρες και το 1/3 από τους θανάτους των καρκίνων της κύστεως στις γυναίκες [11].

Επαγγελματική έκθεση: διάφορες χημικές ουσίες έχουν ενοχοποιηθεί για τον καρκίνο της κύστεως, όπως αρωματικές αμίνες, βενζιδίνη και Β-ναφθυλαμίνη, οι οποίες μερικές φορές χρησιμοποιούνται στα εργοστάσια κατασκευής ή επεξεργασίας χρωμάτων, δέρματος, υφαντουργίας, τυπογραφία [12, 13, 14].

Η επαγγελματική έκθεση όταν συνδυάζεται και με το κάπνισμα αποτελεί τον σημαντικότερο προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη καρκίνου της κύστεως.

Φυλή: οι λευκοί της Αμερικής έχουν δύο φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο της κύστεως απ' ό τι οι μαύροι. Η αιτία γι' αυτή τη διαφορά δεν είναι γνωστή.

Ηλικία: ο κίνδυνος να αναπτύξει κανείς καρκίνο της κύστεως αυξάνεται με την ηλικία. Η μέση ηλικία κατά τη διάγνωση είναι 65 έως 70 χρονών. Ποσοστό λιγότερο από 1% των καρκίνων της κύστεως προσβάλλει ηλικίες κάτω των 40 ετών.

Φύλο: ο καρκίνος της κύστεως είναι τέσσερις φορές συχνότερος στους άνδρες απ' ό τι στις γυναίκες. Η διαφορά μπορεί να οφείλεται στο ό τι οι άνδρες σε μεγαλύτερο ποσοστό είναι καπνιστές ή εκτίθενται σε επαγγελματικό κίνδυνο.

Χρόνιες φλεγμονές της κύστεως: οι διάφορες φλεγμονές του ουροποιητικού συστήματος, η λιθίαση και άλλης αιτιολογίας ερεθισμοί έχουν ενοχοποιηθεί για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως και ειδικά για το καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων, (αν και αυτή η συσχέτιση παραμένει ακόμη αβέβαιη). Ένας άλλος παράγοντας που ενοχοποιείται συνήθως για πλακώδες καρκίνωμα είναι ένα παράσιτο το *Shistosoma hematobium* [15] και το οποίο απαντάται στη Βόριο Αφρική.

Ιστορικό καρκινώματος της κύστεως: το ουροθηλιακό καρκίνωμα μπορεί να αναπτυχθεί σε πολλές περιοχές, όπως στην κύστη, στο επιθήλιο των νεφρών, στους ουρητήρες και την ουρήθρα. Ακόμη και όταν ένας όγκος της κύστεως αφαιρεθεί εντελώς, ο ασθενής έχει αυξημένο τον κίνδυνο να αναπτύξει έναν άλλο όγκο στο ίδιο ή σε άλλο τμήμα του ουροθηλίου.

Συγγενείς ανωμαλίες της περιοχής: ενοχοποιούνται τα υπολείμματα του ουραχού για λιγότερο του 0,5% των νεοπλασμάτων της κύστεως και

συγκεκριμένα για το αδενοκαρκίνωμα. Αυτά όμως αποτελούν το 1/3 των αδενοκαρκινωμάτων της κύστεως. Η εκτροπή της κύστεως είναι μία άλλη σπάνια συγγενής ανωμαλία που αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου.

Διαιτητικοί παράγοντες: έχει βρεθεί συσχέτιση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως με ένα κινεζικό βότανο (A.Fangchi) που περιλαμβάνεται σε μερικά διαιτητικά συμπληρώματα και σε θεραπείες με βότανα. Αυτό παρατηρήθηκε σε άτομα που είχαν λάβει το συγκεκριμένο βότανο, σαν τμήμα του προγράμματος απώλειας βάρους. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι οι χημικές ουσίες που βρέθηκαν στο βότανο μπορούν να καταστρέψουν το DNA και να προκαλέσουν στους αρουραίους καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Επίσης τροφές πλούσιες σε λιπαρά, έλλειψη βιταμίνης Α και το χλωριωμένο νερό.

Γενετικοί παράγοντες: αν και ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως δεν είναι γνωστό να απορρέει από κληρονομικές μεταλλάξεις όπως ογκογονίδια ή κατασταλτικά γονίδια του όγκου, μερικοί άνθρωποι φαίνεται να κληρονομούν μία μειωμένη ικανότητα να αποβάλλουν ειδικούς τύπους χημικών ουσιών που προκαλούν καρκίνο. Αυτοί οι άνθρωποι μπορεί να είναι περισσότερο ευαίσθητοι στους προδιαθεσιακούς παράγοντες, όπως κάπνισμα και ειδικές χημικές ουσίες της βιομηχανίας και παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκινώματος της ουροδόχου κύστεως.

Φάρμακα: αναφέρονται η κυκλοφωσφαμίδη και η φαινακετίνη.

Διάφορα: ορμόνες, μεταβολίτες της ουρίας, αλκοόλ, καυσαέρια κ.λ.π.

4.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Η κλινική συμπτωματολογία διαφέρει από περιοχή σε περιοχή [16]. Σε περιοχές όπου ενδημεί το Sch. hematobium, συχνότερος ιστολογικός τύπος είναι το καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων, το οποίο είναι επιθετικό

νεόπλασμα που αναπτύσσεται διηθητικά και ο ασθενής παρουσιάζει συμπτώματα χρόνιας κυστίτιδας και αιματουρία. Σ' αυτές τις περιοχές το καρκίνωμα της ουροδόχου κύστεως μάλλον αποτελεί τη συχνότερη αιτία θανάτου από όλες τις κακοήθειες. Στην Αμερική αποτελεί μόνο το 4% έως 10% των κακοηθειών [17]. Στις ηλικίες κάτω των 40 ετών είναι σπάνιο, κάτω του 1%, και συνήθως είναι χαμηλού βαθμού κακοήθειας, μη διηθητικό, εκ μεταβατικού επιθηλίου καρκίνωμα [18].

Η συμπτωματολογία είναι πιο έντονη στα χαμηλής διαφοροποίησης νεοπλάσματα και στα διηθητικά, όπως ανώδυνη μακροσκοπική αιματουρία ή και βαριά αιματουρία από διήθηση κάποιου αγγείου με ή χωρίς άλλα υποκειμενικά ενοχλήματα. Δυσουρία ή καυσαλγία κατά την ούρηση, συχνουρία, νυκτουρία και επιτακτική ούρηση μπορεί να παρατηρηθεί λόγω της μείωσης της χωρητικότητας της ουροδόχου κύστεως, είτε γιατί το νεόπλασμα είναι εξωφυτικό και καταλαμβάνει κάποιο χώρο είτε γιατί έχει διηθητική ανάπτυξη οπότε το τοίχωμα της κύστεως χάνει την ελαστικότητα και διατασιμότητά του, αλλά και λόγω της συνοδού κυστίτιδας που μπορεί να συνυπάρχει με το νεόπλασμα. Ακόμη πόνος στην οσφυϊκή χώρα, λόγω υδρονέφρωσης, μπορεί να παρατηρηθεί σε προχωρημένα διηθητικά νεοπλάσματα από απόφραξη των ουρητηρικών στομίων, αλλά και λόγω διήθησης γειτονικών οργάνων αγγείων, νεύρων και λεμφαγγείων.

Σε προχωρημένα στάδια της νόσου παρατηρούνται γενικά συμπτώματα όπως αδυναμία, ανορεξία, αναιμία και απώλεια βάρους.

Διαλείπουσα μακροσκοπική αιματουρία, δυσουρία ή και υπερηβικός πόνος συχνά παρατηρείται στα θηλώδη μη διηθητικά καρκινώματα [18].

Τα σαρκώματα συχνά ανιχνεύονται σαν ψηλαφητή υπερηβική μάζα [18].

Οι ασθενείς είναι δυνατόν να παρουσιάζουν συμπτώματα για λίγους μήνες ή κάποια χρόνια μέχρι να επισκεφθούν κάποιο γιατρό [20], δεδομένου

ότι οι ασθενείς με χαμηλού βαθμού κακοήθειας ουροθηλιακό νεόπλασμα μπορούν να ζήσουν μία σχεδόν φυσιολογική ζωή.

Τα πρώτα συμπτώματα λοιπόν των νεοπλασμάτων της ουροδόχου κύστεως είναι δυσουρία ή και εικόνα κυστίτιδας, σε εμμονή δε αυτών των συμπτωμάτων και σε άτομα άνω των 40 ετών, πρέπει να γίνεται διερεύνηση για αποκλεισμό νεοπλασματος του κατωτέρου ουροποιητικού συστήματος.

4.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια οι γνώσεις μας περί των αλλοιώσεων της ουροδόχου κύστεως (νεοπλασματικές - μη νεοπλασματικές) έχουν μεταβληθεί σημαντικά. Αυτό οδήγησε στη δημιουργία νέων ταξινομήσεων σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα. Επιγραμματικά αναφέρουμε την Ash/Brodens , τη WHO ' 73 (World Health Organization) [19], του Bergkvist, του Murphy '94, τη WHO/ISUP '98 (World Health Organization / International Society of Urologic Pathologist) [17] τη WHO '99 [18], τη WHO 2004, αλλά και αρκετές άλλες που προτάθηκαν κατά καιρούς. Ως σημαντικότερες μπορούν να θεωρηθούν: η ταξινόμηση του Murphy το 1994 [15] και της WHO/ISUP '98.

Η ιστολογική ταξινόμηση των αλλοιώσεων της ουροδόχου κύστεως της WHO '99 έχει ως εξής [17, 18]:

		(Κωδικός)
1.	Επιθηλιακοί όγκοι της ουροδόχου κύστεως	
1.1.	Καλοήθεις όγκοι της ουροδόχου κύστεως	
1.1.α.	Ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) θήλωμα	8121/0
1.1.β.	Ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) θήλωμα, ανάστροφου τύπου	8121/0
1.1.γ.	Θήλωμα εκ πλακωδών επιθηλίων	8052/0

1.1.δ.	Λαχνωτό αδένωμα	8261/0
1.2.	Θηλώδες ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) νεόπλασμα χαμηλού κακοήθους δυναμικού	8130/1
1.3.	Κακοήθειες	
1.3.1.	Ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) καρκίνωμα	8120/3
1.3.1.α.	Θηλώδες ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) καρκίνωμα (Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας I-II-III)	8130/3
1.3.1.β.	Διηθητικό ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) καρκίνωμα (Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας I-II-III)	8120/3
1.3.1.γ.	Ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) καρκίνωμα in situ (ενδοεπιθηλιακό)	8120/2
1.3.1.δ.	Ατυπία/Δυσπλασία	4000
1.3.1.ε.	Άλλοι τύποι ουροθηλιακών καρκινωμάτων	
1.3.2.	Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων	8070/3
1.3.2.1.	Ακροχορδόν καρκίνωμα	8051/3
1.3.3.	Αδενοκαρκίνωμα	8140/3
1.3.4.	Καρκίνωμα ουραχού	8010/3
1.3.5.	Διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα	8310/3
1.3.6.	Μικροκυτταρικού τύπου καρκίνωμα	8041/3
1.3.7.	Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα	8020/3
2.	Μη επιθηλιακής προέλευσης όγκοι	
3.	Μεσεγχυματικής προέλευσης όγκοι	
3.1.	Παραγαγγλίωμα	8680/1
3.2.	Νεοπλάσματα αιμοποιητικού και λεμφικού ιστού	
3.3.	Καρκινοσάρκωμα	8980/3
3.4.	Κακόηθες μελάνωμα	8720/3
4.	Μεταστατικοί όγκοι και διήθηση από νεοπλάσματα γειτονικών ιστών	
5.	Μη ταξινομούμενοι όγκοι	
6.	Ανωμαλίες επιθηλίου	
6.1.	Υπερπλασία	72000
6.1.1.	Επίπεδη ουροθηλιακή (εκ μεταβατικού επιθηλίου) υπερπλασία	72000
6.1.2.	Θηλώδης ουροθηλιακή (εκ μεταβατικού επιθηλίου) υπερπλασία	72050

6.2.	Αντιδραστική ατυπία	
6.3.	Ατυπία ακαθόριστης σημαντικότητας	
6.4.	Αδένια von Brunn	76060
6.5.	Κυστική κυστίτιδα	73370
6.6.	Αδενικού τύπου μετάπλαση	73300
6.7.	Νεφρογενές αδένωμα	73380
6.8.	Πλακώδους τύπου μετάπλαση	73220
6.9.	Αλλοιώσεις επίδρασης θεραπείας	

4.5 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

Καρκίνωμα *in situ* (υψηλού βαθμού ενδοουροθηλιακή νεοπλασία)

Το καρκίνωμα *in situ* αφορά επίπεδη αλλοίωση με κυτταρολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια των θηλωδών καρκινωμάτων υψηλού βαθμού κακοήθειας. Χαρακτηρίζεται από κύτταρα με μεγάλους, βαθυχρωματικούς και ανώμαλους πυρήνες καθώς και αυξημένο αριθμό πυρηνοκινήσιών που εντοπίζονται σε όλο το πάχος της ενδοεπιθηλιακής ανάπτυξης. Το *in situ* Ca αφορά όλο το πάχος του ουροθηλίου, αλλά μπορεί να εμφανιστεί με άλλες παραλλαγές όπως: 1) παζετοειδή ανάπτυξη με παρουσία διάσπαρτων μεμονωμένων άτυπων κυττάρων ή ομάδα κυττάρων σε φυσιολογικό ουροθήλιο, 2)εκτεταμένη απόπτωση του δυσπλαστικού ουροθηλίου με παραμονή λίγων άτυπων κυττάρων που υποδηλώνουν την παρουσία του καρκινώματος, 3)παρουσία άτυπων κυττάρων μόνο στη βάση ή μόνο στις επιφανειακές στοιβάδες του ουροθηλίου.

Θηλώδη νεοπλάσματα χαμηλού κακοήθους δυναμικού

Αφορούν Θηλώδεις αλλοιώσεις του ουροθηλίου, οι οποίες έχουν φυσιολογική διάταξη των νεοπλασματικών κυττάρων, μικρή ατυπία των πυρήνων και ποικίλο πάχος ουροθηλίου. Ο αριθμός των μιτώσεων είναι μικρός και αυτές, σε αντίθεση, με το Θηλώδες καρκίνωμα ιστολογικού βαθμού κακοήθειας I (grade 1), εντοπίζονται μόνο στα κατώτερα στρώματα της αλλοίωσης.

Τα νεοπλάσματα αυτά αποτελούν το 25% περίπου των Θηλωδών νεοπλασμάτων του ουροθηλίου, υποτροπιάζουν συχνά ή εξελίσσονται σε καρκινώματα (10-20%), τα οποία σε ένα ποσοστό 5% θα οδηγήσουν στο θάνατο [20].

Θηλώδες καρκίνωμα grade I

Τα Θηλώδη νεοπλάσματα grade I αποτελούν μια καλά δομημένη Θηλώδη αλλοίωση του ουροθηλίου, η οποία ιστολογικά αναγνωρίζεται εύκολα ακόμη και στη μικρή μεγέθυνση. Τα κύτταρα τα βρίσκουμε μεμονωμένα με πολυμορφία και βαθυχρωμασία των πυρήνων καθώς και παρουσία λίγων μιτώσεων στα επιπολής τμήματα του ουροθηλίου, σε αντίθεση με τα Θηλώδη νεοπλάσματα χαμηλού κακοήθους δυναμικού. Τα καρκινώματα grade I υποτροπιάζουν συχνά, διηθούν το τοίχωμα και σε ένα μικρό σχετικά ποσοστό (5%) προκαλούν το θάνατο του ασθενή [20].

Θηλώδες καρκίνωμα grade II

Τα Θηλώδη νεοπλάσματα του ουροθηλίου, grade II, παρουσιάζουν ενδιάμεση πυρηνική αναπλασία και δομική αναρχία κύτταρων. Από τα grade I

καρκινώματα ξεχωρίζουν, λόγω της εκτεταμένης απώλειας της αρχιτεκτονικής δομής με διατήρηση ωστόσο μερικών στοιχείων οργάνωσης, όπως την πολικότητα και την ομοιομορφία των πυρήνων. Αυτά τα στοιχεία όμως δεν αναγνωρίζονται στα grade III καρκινώματα. [17].

Θηλώδες καρκίνωμα grade III

Τα grade III θηλώδη νεοπλάσματα του ουροθηλίου χαρακτηρίζονται από έντονη δομική αναρχία, η οποία είναι εμφανής και στη μικρή μεγέθυνση. Αυτή προκύπτει τόσο από ανωμαλίες της αρχιτεκτονικής δομής όσο και της μορφολογίας των κυττάρων [17]. Υπάρχει τάση των νεοπλασματικών κυττάρων να συρρέουν μεταξύ τους, χάνοντας τη διάχυτη και ομοιόμορφη κατανομή και την πολικότητα που παρουσιάζουν τα grade II καρκινώματα [17].

Κυτταρολογικά παρατηρείται ένα ευρύ φάσμα κυτταρικού πολυμορφισμού με παρουσία στις ακραίες θέσεις του φάσματος έντονα αναπλαστικών κυττάρων.

Τα καρκινώματα αυτά έχουν μεγάλη πιθανότητα να υποτροπιάσουν και να εξελιχθούν (στο 15-40%) ή να συνδυάζονται από την πρώτη τους εμφάνιση με διήθηση του τοιχώματος της ουροδόχου κύστεως. Συχνά συνδυάζονται με *in situ* καρκίνωμα σε γειτονικές θέσεις του βλεννογόνου.

Διηθητικό ουροθηλιακό (εκ μεταβατικού επιθηλίου) καρκίνωμα (Grade I-II-III)

Τα διηθητικά καρκινώματα όπως και τα θηλώδη καρκινώματα διαβαθμίζονται σε τρεις βαθμούς κακοήθειας (Grade I, II, III) ανάλογα με τον βαθμό της πυρηνικής αναπλασίας.

4.6 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΟΓΚΩΝ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ

Η σταδιοποίηση των νεοπλασμάτων της ουροδόχου κύστεως γίνεται με βάση το TNM σύστημα από την AJCC/UICC (American Joint Commission on Cancer/International Union Against Cancer) όπως αυτό προσδιορίστηκε το 1997 [21].

Παθολογοανατομική σταδιοποίηση με βάση το TNM σύστημα

Tx:	Πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί
TO:	Δεν υπάρχει κανένα στοιχείο για πρωτοπαθή όγκο
Ta:	Μη διηθητικό θηλώδες καρκίνωμα (in situ - θηλώδες)
Tis:	Ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα (in situ -επίπεδος όγκος)
T1:	Ο όγκος διηθεί το χόριο*
T2:	Ο όγκος διηθεί το μυϊκό χιτώνα
T2a:	Ο όγκος διηθεί το μυϊκό χιτώνα, περιορίζεται στο έσω ήμισυ
T2b:	Ο όγκος διηθεί το μυϊκό χιτώνα, διηθεί και το έξω ήμισυ
T3:	Ο όγκος διηθεί τον περικυστικό ινολιπώδη ιστό
T3a:	Ο όγκος διηθεί τον περικυστικό ινολιπώδη ιστό, μικροσκοπικά
T3b:	Ο όγκος διηθεί τον περικυστικό ινολιπώδη ιστό, μακροσκοπικά
T4:	Ο όγκος διηθεί κάποιο από τα ακόλουθα όργανα: προστάτη αδένια, μήτρα, κόλπο, πυελικό ή κοιλιακό τοίχωμα
T4a:	Ο όγκος διηθεί τον προστάτη αδένια ή την μήτρα ή τον κόλπο
T4 b:	Ο όγκος διηθεί το πυελικό ή κοιλιακό τοίχωμα

Αρκετοί ερευνητές βρήκαν ότι ο διαχωρισμός του σταδίου pT1 σε pT1a, pT1b και pT1c έχοντας ως σημείο αναφοράς τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (pT1a: πάνω από τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα, pT1b επί της βλεννογόνιας μυϊκής και pT1c κάτω από την βλεννογόνια μυϊκή) έχει ιδιαίτερη προγνωστική αξία [22,23]. Όχι σπάνια η δυνατότητα εκτίμησης της διήθησης ή όχι της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας είναι δύσκολη ή και αδύνατη.

Έτσι, η επιτροπή ταξινόμησης της WHO /IS UP '98 θεώρησε την υποταξινόμηση σε αυτή ως προαιρετική [22].

Επιχώριοι λεμφαδένες

Nx:	Επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν
NO:	Δεν υπάρχουν μεταστάσεις επιχώριων λεμφαδένων
N1:	Μετάσταση σε ένα λεμφαδένα, μικρότερο των 2 εκ.
N2:	Μετάσταση σε ένα λεμφαδένα, μεγαλύτερη των 2 εκ. και μικρότερη των 5 εκ. ή πολλαπλές λεμφαδενικές μεταστάσεις μικρότερες των 5 εκ.
N3:	Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους λεμφαδένες μεγαλύτερους των 5 εκ.

Απομακρυσμένες μεταστάσεις

Mx:	Απομακρυσμένες μεταστάσεις δεν μπορούν να εκτιμηθούν
MO:	Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις
M1:	Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

Έτσι η σταδιοποίηση των νεοπλασμάτων της ουροδόχου κύστεως διαμορφώνεται ως εξής:

ΠΙΝΑΚΑΣ Α1

Στάδιο 0a	Ta	NO	MO
Στάδιο 0is	Tis	NO	MO
Στάδιο I	T1	NO	MO
Στάδιο II	T2a	NO	MO
	T2b	NO	MO
Στάδιο III	T3a	NO	MO
	T3b	NO	MO
Στάδιο IV	T4a	NO	MO
	T4b	NO	MO
	Κάθε T	N1, 2, 3	MO
	Κάθε T	Κάθε N	M1

Η πρόσφατη ταξινόμηση της WHO 2004 έχει κάποιες λεπτές διαφοροποιήσεις στην ονοματολογία του ουροθηλιακού καρκινώματος. Ουροθηλιακό καρκίνωμα με κακόηθες πλακώδες ή αδενικό επιθήλιο ονομάζεται πλέον ουροθηλιακό καρκίνωμα με πλακώδη ή αδενική διαφοροποίηση και όχι μετάπλαση (WHO 1999). Το καρκινοσάρκωμα και το καρκίνωμα εξ ατρακτοειδών κυττάρων (WHO 1999) περιγράφεται τώρα ως σαρκωματοειδές καρκίνωμα με ή χωρίς ετερόλογα στοιχεία. Το ουροθηλιακό καρκίνωμα με έκτοπη παραγωγή πλακουντιακής γλυκοπρωτεΐνης (WHO 1999) περιγράφεται πλέον ως ουροθηλιακό καρκίνωμα με τροφοβλαστική διαφοροποίηση. Νεοαναγνωριζόμενες ποικιλίες στην ταξινόμηση 2004 αποτελούν το ουροθηλιακό καρκίνωμα από γιγαντοκύτταρα και το δίκην λεμφώματος. Το οστεοκλαστικού τύπου ουροθηλιακό καρκίνωμα (WHO 1999) δεν περιλαμβάνεται στη νέα ταξινόμηση, καθώς η τελευταία δε διαχωρίζει τις στρωματικές αντιδράσεις ως ποικιλίες. Επίσης, η νέα ταξινόμηση δεν περιέχει τον ανάστροφο τύπο και τον μικροσωληνώδη τύπο ως ποικιλίες του ουροθηλιακού καρκινώματος, αλλά κατατάσσει σε αυτές τον μικροκυστικό τύπο και τον νησιοειδή τύπο (nested variant). Το κακόηθες δυναμικό (grade) διαβαθμίζεται σε δυο κλίμακες (υψηλό, χαμηλό) αντί της τριβάθμιας κλίμακας (1,2,3) (WHO 1999).

Ταξινόμηση ουροθηλιακών νεοπλασμάτων. (WHO 2004)

A) Μη διηθητικά νεοπλάσματα

- Υπερπλασία (επίπεδη και θηλώδης)
- Αντιδραστική ατυπία
- Ατυπία αγνώστου κλινικής σημασίας
- Δυσπλασία (χαμηλού βαθμού ενδοουροθηλιακή νεοπλασία)

- Καρκίνωμα in situ (υψηλού βαθμού ενδοουροθηλιακή νεοπλασία)
- Ουροθηλιακό θήλωμα
- Ουροθηλιακό θήλωμα ανάστροφου τύπου
- Θηλώδες νεόπλασμα του ουροθηλίου χαμηλού κακοήθους δυναμικού
- Μη διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα χαμηλής πυρηνικής αναπλασίας
- Μη διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα υψηλής πυρηνικής αναπλασίας

B) Διηθητικά νεοπλάσματα

- Διήθηση υποβλεννογόνιου μυϊκής στιβάδας
- Διήθηση μυϊκού χιτώνα

Μη διηθητικά νεοπλάσματα

Επίπεδη υπερπλασία του ουροθηλίου: Το ουροθήλιο που παρουσιάζει σημαντική πάχυνση χωρίς ατυπία κυττάρων θα πρέπει να θεωρείται υπερπλαστικό. Η αξιολόγηση του πάχους του ουροθηλίου θα πρέπει να γίνεται με την απλή παρατήρηση. Η κλασική μέθοδος της μέτρησης των στίχων του ουροθηλίου αποδείχθηκε μη αναπαραγώγιμη και θα πρέπει να εγκαταλειφθεί. Η επίπεδη υπερπλασία του ουροθηλίου από μόνη της δεν αποτελεί προνεοπλασματική αλλοίωση. Σε ορισμένες περιπτώσεις συνοδεύει χαμηλού βαθμού θηλώδη νεοπλάσματα του ουροθηλίου, χωρίς να μεταβάλλει τη βιολογική τους συμπεριφορά [24].

Θηλώδης υπερπλασία του ουροθηλίου: Η θηλώδης υπερπλασία του ουροθηλίου χαρακτηρίζεται από τάση κυματοειδούς ή θηλώδους διαμόρφωσης του ουροθηλίου, με συχνή παρουσία στη βάση της αλλοίωσης ενός ή περισσότερων διευρυσμένων τριχοειδών αγγείων, χωρίς ωστόσο το σχηματισμό σαφούς αγγειοσυνδετικού μίσχου. Η αλλοίωση συχνά συνυπάρχει

ή ακολουθεί ένα θηλώδες νεόπλασμα του ουροθηλίου, γεγονός που υποδηλώνει μια κάποια σχέση μεταξύ τους [25]. Η de novo εμφάνιση της βλάβης, μολονότι δεν εντάσσει τον ασθενή στα άτομα υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη θηλώδους νεοπλασματος, απαιτεί ωστόσο συχνή παρακολούθηση του ασθενούς.

Αντιδραστική ατυπία: Η αντιδραστική (φλεγμονώδης) ατυπία χαρακτηρίζεται από φυσαλιδώδεις, ομοιόμορφα διευρυσμένους πυρήνες, με εμφανές πυρήνιο και συχνή παρουσία πυρηνοκινήσιων στο κατώτερο τμήμα του ουροθηλίου. Συνήθως συνδυάζεται με χρόνιες ή οξείες φλεγμονές, λιθιασικές κυστίτιδες και μακροχρόνιους καθετηριασμούς. Η άρση του βλαπτικού παράγοντα συνοδεύεται από αποκατάσταση της ατυπίας.

Ατυπία άγνωστης κλινικής σημασίας: Σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δύσκολος ο διαχωρισμός της αντιδραστικής από τη νεοπλασματική ατυπία. Η πολυμορφία και η βαθυχρωμασία των πυρήνων, που συνυπάρχει με μια χρόνια φλεγμονή, δεν μπορεί με βεβαιότητα να αποδοθεί μόνο στη φλεγμονή. Σε αυτές τις περιπτώσεις ο ασθενής θα πρέπει να παρακολουθείται συστηματικότερα του συνήθους και να επανελέγχεται μετά το πέρας της φλεγμονής.

Δυσπλασία (χαμηλού βαθμού ενδοουροθηλιακή νεοπλασία): Αποτελεί την κατηγορία με τον ασαφέστερο ιστολογικό προσδιορισμό και τη δυσκολότερη επίτευξη συναίνεσης μεταξύ των ερευνητών. Χαρακτηρίστηκε ως αλλοίωση με κυτταρικές και δομικές αλλοιώσεις, ελάχιστα υπολειπόμενες του καρκινώματος *in situ*. Δεν περιλαμβάνει την έντονη δυσπλασία των προηγούμενων ταξινομήσεων, η οποία εντάσσεται πλέον στο καρκίνωμα *in situ*. Παρουσιάζει διευρυσμένους πυρήνες με ποικιλία στο σχήμα, το μέγεθος

και τη χρωστική ένταση, τραχιά χρωματίνη, μικρό πυρήνιο και απώλεια της αρχιτεκτονικής δομής. Οι πυρηνοκινησίες είναι συνήθως λίγες και εντοπίζονται στα κατώτερα τμήματα του ουροθηλίου. Ανευρίσκεται συνήθως σε ουροδόχους που πάσχουν από θηλώδες νεόπλασμα του ουροθηλίου, προδικάζοντας σε αυτές τις περιπτώσεις ταχύτερη εξέλιξη του νεοπλασματος και συχνότερες υποτροπές [26]. Σε αυτές τις περιπτώσεις αντιμετωπίζεται από τους περισσότερους ουρολόγους ως καρκίνωμα *in situ*.

Καρκίνωμα *in situ* (υψηλού βαθμού ενδοουροθηλιακή νεοπλασία): Το καρκίνωμα *in situ* είναι μια επίπεδη αλλοίωση με κυτταρολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια των θηλωδών καρκινωμάτων υψηλού βαθμού κακοήθειας. Χαρακτηρίζεται από μεγάλους βαθυχρωματικούς και ανώμαλους πυρήνες και αυξημένο αριθμό πυρηνοκινησιών που συχνά εντοπίζονται και στα ανώτερα στρώματα του ουροθηλίου. Στην κλασική της μορφή, όταν αφορά σε όλο το πάχος του ουροθηλίου και η ατυπία των πυρήνων είναι σαφής, είναι εύκολα αναγνωρίσιμη.

Παρουσιάζει, ωστόσο, σημαντικές παραλλαγές, η άγνοια των οποίων οδηγεί σε υποδιάγνωση. Αυτές είναι: α) Η παζετοειδής ανάπτυξη με παρουσία διάσπαρτων μεμονωμένων άτυπων κυττάρων ή ομάδων κυττάρων σε φυσιολογικό ουροθήλιο, β) η εκτεταμένη απόπτωση του δυσπλαστικού ουροθηλίου με παραμονή λίγων άτυπων κυττάρων που υποδηλώνουν την παρουσία του καρκινώματος, γ) η παρουσία άτυπων κυττάρων μόνο στη βάση ή μόνο στις επιφανειακές στιβάδες του ουροθηλίου.

Θήλωμα: Ο όρος θήλωμα χωρίς άλλη διευκρίνιση αναφέρεται στην εξωφυτική αλλοίωση η οποία αποτελείται από λίγους διακλαδιζόμενους, αλλά μη συγχωνευόμενους, ινοαγγειακούς μίσχους που καλύπτονται από φυσιολογικό ουροθήλιο. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι και σε αυτές τις

περιπτώσεις δεν είναι απαραίτητη η καταμέτρηση των στίχων του ουροθηλίου για το διαχωρισμό του φυσιολογικού ουροθηλίου από το παθολογικό. Είναι ένα πολύ σπάνιο νεόπλασμα, που προσβάλλει νεαρά συνήθως άτομα, σπάνια υποτροπιάζει και ποτέ δεν μεταπίπτει σε επιθετικότερο νεόπλασμα [27].

Ανάστροφο Θήλωμα: Πρόκειται για καλοήγη ουροθηλιακό όγκο με ανάστροφο μοντέλο ανάπτυξης και ελάχιστη κυτταρική ατυπία [28]. Αν και δεν αποτελεί θηλώδη αλλοίωση με την αυστηρή έννοια του όρου, εντούτοις, κατατάσσεται σε αυτή την κατηγορία λόγω των παρόμοιων χαρακτηριστικών που εμφανίζει με το εξωφυτικό θήλωμα. Οι περισσότερες περιπτώσεις αντιστοιχούν σε μονήρεις, πολυποειδείς αλλοιώσεις, μικρότερες από 3 εκ. σε μέγεθος, που εντοπίζονται κυρίως στην περιοχή του κυστικού τριγώνου. Ιστολογικά, το ανάστροφο θήλωμα εμφανίζει μια ομαλή επιφάνεια καλυπτόμενη από φυσιολογικό επιθήλιο και παρουσιάζει ένα ενδοφυτικό δίκτυο διακλαδιζόμενων και αναστομούμενων θηλών που εκτείνεται ως την υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα, χωρίς να φτάνει το μυϊκό χιτώνα. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις με εστίες πλακώδους και νευροενδοκρινούς διαφοροποίησης.

Θηλώδη νεοπλάσματα χαμηλού κακοήθους δυναμικού: τα θηλώδη νεοπλάσματα με χαμηλό κακοήθες δυναμικό (ΘΝΧΚΔ) αποτελούν θηλώδεις αλλοιώσεις του ουροθηλίου με φυσιολογική διάταξη των νεοπλασματικών κυττάρων, μικρή ατυπία πυρήνων και ποικίλο πάχος ουροθηλίου. Η ουσιαστική τους διαφορά από τα θηλώματα είναι η μεγάλη πάχυνση του ουροθηλίου και η διόγκωση των πυρήνων. Παρουσιάζουν μικρό αριθμό πυρηνοκινησιών, οι οποίες, σε αντίθεση με τα θηλώδη καρκινώματα χαμηλού grade, εντοπίζονται μόνο στα κατώτερα στρώματα του ουροθηλίου. Αποτελούν το 25% περίπου των θηλωδών νεοπλασμάτων του ουροθηλίου,

συχνά υποτροπιάζουν (<30%) με εξέλιξη του 10-20% των υποτροπών σε καρκίνωμα, το οποίο σε ένα μικρό ποσοστό (5%) μετά από πολλά έτη μπορεί να προκαλέσει τον θάνατο του ασθενούς [29]. Θα πρέπει να τονιστεί ότι τόσο η εξέλιξη όσο και ο θάνατος από τα θηλώδη νεοπλάσματα χαμηλού κακότητους δυναμικού συμβαίνει μόνο εάν ο ασθενής αναπτύξει θηλώδες καρκίνωμα του ουροθηλίου.

Θηλώδες Καρκίνωμα Χαμηλής Πυρηνικής Διαφοροποίησης (low grade): Τα χαμηλού (low) grade θηλώδη καρκινώματα του ουροθηλίου αποτελούν μια καλά δομημένη θηλώδη αλλοίωση του ουροθηλίου, στην οποία, ωστόσο, εύκολα αναγνωρίζεται, ακόμα και στις μικρές μεγεθύνσεις, η απώλεια της αρχιτεκτονικής δομής του ουροθηλίου των θηλωμάτων και η ατυπία των κυττάρων. Η αξιολόγηση της αρχιτεκτονικής δομής του ουροθηλίου θα πρέπει να γίνεται σε εγκάρσια κομμένες θηλές και μακριά από περιοχές συγχώνευσής τους για την αποφυγή υπερεκτίμησης του grade. Ο διαχωρισμός από τα θηλώδη νεοπλάσματα με χαμηλό κακότηδες δυναμικό έχει αποφασιστική σημασία, λόγω της σημαντικά διαφορετικής βιολογικής συμπεριφοράς των δύο αλλοιώσεων. Σε περιπτώσεις με μικρές ιστολογικές διαφορές, η ανεύρεση μεμονωμένων κυττάρων με πολυμορφία και βαθυχρωμασία πυρήνων, καθώς επίσης η παρουσία έστω και λίγων πυρηνοκινησιών στα επιπολής τμήματα του ουροθηλίου εντάσσει το νεόπλασμα στα καρκινώματα [30]. Τα χαμηλού grade καρκινώματα υποτροπιάζουν συχνά, διηθούν το τοίχωμα της ουροδόχου και σε ένα σχετικά μικρό αριθμό (5%) προκαλούν τον θάνατο του ασθενούς.

Θηλώδες Καρκίνωμα Υψηλής Πυρηνικής Διαφοροποίησης (high grade): τα υψηλού (high) grade θηλώδη καρκινώματα χαρακτηρίζονται από έντονη αταξία, η οποία είναι εμφανής και στις μικρές ακόμα μεγεθύνσεις και αφορά στο μεγαλύτερο τμήμα ή στο σύνολο του νεοπλάσματος. Η αταξία

προκύπτει τόσο από ανωμαλίες της αρχιτεκτονικής δομής όσο και της μορφολογίας των κυττάρων. Οι πυρήνες εμφανίζουν ποικιλομορφία, με προεξάρχον πυρήνιο και μεταβολές στην πολικότητα. Τα high grade θηλώδη καρκινώματα έχουν μεγάλη πιθανότητα να υποτροπιάσουν και να εξελιχθούν (15% - 40%) ή να συνδυάζονται από την πρώτη τους εμφάνιση με διήθηση του τοιχώματος της ουροδόχου. Συχνά παρουσιάζουν ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα στο γειτονικό ουροθήλιο.

Διηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα

Τα σημαντικότερα προβλήματα που αναδεικνύονται όσον αφορά τα διηθητικά καρκινώματα του ουροθηλίου είναι: α) ο διαχωρισμός της διήθησης από τον ανάστροφο, μη διηθητικό τρόπο ανάπτυξης των νεοπλασμάτων, β) η υπερδιάγνωση σε ορισμένες περιπτώσεις της απλής διήθησης του χορίου ως διήθησης αγγείων, γ) η υποταξινόμηση του σταδίου pT1 σε τρεις υποκατηγορίες με σημείο αναφοράς τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα και δ) ο διαχωρισμός της διήθησης της βλεννογονίου μυϊκής στιβάδας από τη διήθηση του μυϊκού χιτώνα.

Σημαντικός είναι ο διαχωρισμός, σύμφωνα με νεώτερα βιβλιογραφικά δεδομένα, του μη διηθητικού θηλώδους καρκινώματος από το διηθητικό. Βρέθηκε ότι το 46% των ασθενών με διηθητικό καρκίνωμα στο χόριο (pT1) στην πορεία θα παρουσιάσει διήθηση και του μυϊκού (pT2). Η ταξινόμηση ενός νεοπλάσματος ως διηθητικού προϋποθέτει τη σαφή παρουσία φωλεών, αθροίσεων ή μεμονωμένων νεοπλασματικών κυττάρων στο χόριο του βλεννογόνου. Η παρουσία ανάστροφης ανάπτυξης στα χαμηλής κακοήθειας νεοπλάσματα, με σχηματισμό στο χόριο μεγάλων φωλεών με ομαλά όρια και πασσαλοειδή διάταξη των νεοπλασματικών κυττάρων στην περιφέρεια των φωλεών, δεν θα πρέπει εσφαλμένα να εκλαμβάνεται ως διήθηση. Στοιχεία

διήθησης αποτελούν τα ανώμαλα όρια των φωλεών, η ηωσινοφιλία του κυτταροπλάσματος των νεοπλασματικών κυττάρων στο σημείο προώθησης της διήθησης του νεοπλάσματος και η συχνή παρουσία ίνωσης και φλεγμονής στο στρώμα. Συχνό artifact αποτελεί η παρουσία διαυγούς ζώνης γύρω από τις φωλεές διήθησης του χορίου, στοιχείο που συχνά εκλαμβάνεται ως διήθηση αγγείων. Η διήθηση αγγείου, όταν υπάρχει διήθηση μόνο του χορίου και όχι του μυϊκού, είναι πολύ σπάνιο φαινόμενο, γι' αυτό και θα πρέπει είτε να είναι σαφής, είτε να επιβεβαιώνεται με τις κατάλληλες ανασοϊστοχημικές χρώσεις. Στο μισό περίπου των διουρηθρικών εκτομών μπορεί εύκολα να αναγνωρισθεί το μέσον του χορίου από την παρουσία της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας ή των παχυτοιχωματικών αγγείων της περιοχής. Αρκετοί ερευνητές βρήκαν ότι ο διαχωρισμός του σταδίου pT1 σε pT1a, pT1b, pT1c, έχοντας ως σημείο αναφοράς τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα (pT1a: πάνω από τη βλεννογόνια, pT1b: επί της βλεννογονίου, pT1c: κάτω από τη βλεννογόνια) έχει ιδιαίτερη προγνωστική αξία. Σε αρκετές περιπτώσεις, η δυσκολία της αξιολόγησης του επιπέδου διήθησης λόγω κακού προσανατολισμού του δείγματος ή της απουσίας της βλεννογονίου μυϊκής στιβάδας οδήγησε την επιτροπή ταξινόμησης της WHO/ISUP 98' να θεωρήσει αυτή την υποταξινόμηση ως προαιρετική. Πρότεινε, ωστόσο, ως υποχρεωτικό το διαχωρισμό της διήθησης του χορίου ως εστιακό ή εκτεταμένο. Το σημαντικότερο στοιχείο στην αξιολόγηση του διηθητικού καρκινώματος είναι ο καθορισμός της διήθησης του μυϊκού χιτώνα. Η διήθηση του μυϊκού (pT2) αλλάζει σημαντικά τόσο τη βιολογική συμπεριφορά όσο και τον τρόπο της θεραπευτικής αντιμετώπισης [31]. Η διήθηση λεπτοφυών μυϊκών ινών που αποτελούν τμήματα της βλεννογονίου μυϊκής στιβάδας δεν θα πρέπει εσφαλμένα να εκλαμβάνεται ως διήθηση του μυϊκού.

5. ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Οι όγκοι του ουροποιητικού συστήματος είναι σχετικά δυσπρόσιτοι σε άμεση βιοψία και συχνά είναι πολυεστιακοί. Μιας και τα ούρα λαμβάνονται εύκολα και ξεπλένουν ολόκληρη την επιφάνεια του βλεννογόνου, η κυτταρολογική εξέταση των ούρων είναι θεωρητικά το τέλειο υλικό για την ανίχνευση ενός όγκου. Δυστυχώς, η ερμηνεία των κυτταρολογικών επιχρισμάτων των ούρων είναι δύσκολη και έχουν παρατηρηθεί και ψευδώς αρνητικά και ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Επιπλέον, μόνο με την κυτταρολογική εξέταση των ούρων δεν μπορεί να προσδιορισθεί η θέση της αλλοίωσης.

Η διαγνωστική ακρίβεια αυξάνει ανάλογα με το βαθμό του όγκου. Η κυτταρολογική εξέταση των ούρων συνήθως μπορεί να ανιχνεύσει το καρκίνωμα *in situ* και τα υψηλού βαθμού νεοπλάσματα. Οι χαμηλού βαθμού μη διηθητικοί θηλώδεις όγκοι είναι συνήθως η πηγή των περισσότερων ψευδώς αρνητικών απαντήσεων. Οι αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις που οφείλονται σε διάφορες καταστάσεις, όπως φλεγμονές, λίθους, υπερπλασία προστάτη και θεραπεία, ευθύνονται για τις περισσότερες ψευδώς θετικές απαντήσεις. Ωστόσο, αλλοιώσεις μπορεί να ανιχνευθούν κυτταρολογικά πολύ πριν γίνουν εμφανείς κυστεοσκοπικά, με αποτέλεσμα φαινομενικά ψευδώς θετικές διαγνώσεις (ψευδώς ψευδώς-θετικές).

Το κλινικό ιστορικό είναι, όπως πάντα, σημαντικό για τη σωστή αξιολόγηση του υλικού και θα πρέπει να περιλαμβάνει τα εξής: προηγούμενες διαγνώσεις, θεραπεία ή χειρουργική επέμβαση· ιστορικό πρόσφατων χειρισμών (συμπεριλαμβανομένου και του καθετηριασμού), ιστορικό λιθίασης, μέθοδος συλλογής του υλικού, κυστεοσκοπικά ευρήματα και οποιαδήποτε άλλη σχετική κλινική πληροφορία. Τα πιο συχνά συμπτώματα των ασθενών με καρκίνωμα ουροδόχου κύστεως είναι η αιματουρία (μακροσκοπική ή

μικροσκοπική) και συμπτώματα που μοιάζουν με κυστίτιδα (συχνουρία, πόνος), αλλά τα συμπτώματα αυτά είναι μη ειδικά.

Ουροθηλιακά Κύτταρα

Τα ουροθηλιακά κύτταρα συγκαταλέγονται μεταξύ των πιο πολύμορφων καλοήθων επιθηλιακών κυττάρων του σώματος. Το μέγεθός τους ποικίλλει από βασικά κύτταρα, λίγο μεγαλύτερα από το λεμφοκύτταρο (~ 10 μm), έως γιγάντια πολυπύρρηνα επιφανειακά (σαν ομπρέλα) κύτταρα (\geq 100 μm), ίσως τα μεγαλύτερα καλοήθη επιθηλιακά κύτταρα του ανθρώπου. Λόγω της διαστολής και συστολής το σχήμα των κυττάρων μπορεί να είναι τριγωνικό, πολυεδρικό, στρογγυλό, κυλινδρικό ή κερκοφόρο (με ουρά). Στα υλικά από αυτόματη ούρηση κυριαρχούν συνήθως τα μεμονωμένα μονοπύρρηνα κύτταρα με το μέγεθος των παραβασικών κυττάρων. Πολυπύρρηνα κύτταρα σαν ομπρέλα, ομάδες κυττάρων και ψευδοθηλώδεις αθροίσεις παρατηρούνται συχνότερα στα δείγματα μετά από καθετηριασμό, συμπεριλαμβανομένων των εκπλυμάτων και των υλικών βούρτσας, λόγω της μηχανικής αποκοπής τους. Όλα τα ουροθηλιακά κύτταρα μπορεί να περιέχουν γλυκογόνο και τα επιφανειακά κύτταρα μπορεί να περιέχουν και βλέννη. Το γλυκογόνο μπορεί να ξεπλυθεί κατά τη διάρκεια της παρασκευής των δειγμάτων, με αποτέλεσμα η όψη του κυτταροπλάσματος να είναι διαυγής.

Εν τω Βάθει Ουροθηλιακά Κύτταρα (Βασικά και Διάμεσα)

Τα βασικά και τα διάμεσα ουροθηλιακά κύτταρα είναι κυτταρολογικά όμοια, και θεωρούνται μαζί ως εν τω βάθει ουροθηλιακά κύτταρα. Το κυτταρόπλασμα έχει μέτρια πυκνότητα, με καλά καθοριζόμενα κυτταρικά όρια που συχνά μοιάζουν με φεστόνι. Χαρακτηριστική είναι η διάχυτη λεπτή

κενοτοπίωσή του, αν και συχνά παρατηρούνται και μεγάλα εκφυλιστικά κενोटόπια. Η χρωστική αντίδραση του κυτταροπλάσματος των ουροθλιακών κυττάρων με τη χρώση Παπανικολάου ποικίλλει·συνήθως χρωματίζονται μπλε έως γκρι, αλλά μερικές φορές κόκκινα έως πορτοκαλί.

Οι πυρήνες είναι συνήθως τοποθετημένοι στο κέντρο. Είναι μεγαλύτεροι από τους πυρήνες των διάμεσων πλακωδών κυττάρων. Το σχήμα τους ποικίλλει από ωειδές έως ελαφρώς τριγωνικό ή πολυεδρικό. Η διπυρήνωση είναι συχνή. Η χρωματίνη είναι ομοιόμορφα κατανεμημένη και μπορεί να είναι λεπτοκοκκώδης ή να μοιάζει με αλατοπίπερο. Στα καλά διατηρημένα κύτταρα συνήθως εμφανίζεται ήπια. Ωστόσο, παρατηρείται συχνά πολυπλοειδία και υπερχρωμασία, που έχει σαν αποτέλεσμα οι πυρήνες να εμφανίζονται «μεγάλοι και βαθυχρωματικοί», γεγονός όμως που δεν υποδεικνύει απαραίτητα δυσπλασία ή νεοπλασία. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία ενός ή δύο εμφανών πυρηνίων, ιδιαίτερα στα εκπλύματα.

Επιφανειακά Ουροθλιακά Κύτταρα (Κύτταρα σαν Ομπρέλα)

Τα επιφανειακά ουροθλιακά κύτταρα, ή κύτταρα σαν ομπρέλα, μοιάζουν με τα υπόλοιπα ουροθλιακά κύτταρα, αλλά είναι μεγαλύτερα·έχουν συνήθως το μέγεθος του ώριμου πλακώδους κυττάρου. Έχουν μια κυρτή επιφάνεια που βλέπει προς τον αυλό και μία κοίλη επιφάνεια με την οποία καλύπτουν τα υποκείμενα κύτταρα σαν ομπρέλα. Το κυτταρόπλασμα είναι άφθονο, και συνήθως υπάρχουν δύο με τρεις ή και περισσότεροι πυρήνες που ποικίλλουν σε μέγεθος. Επιπλέον, μερικές φορές παρατηρούνται γιγάντιες μορφές με δεκάδες πυρήνες. Τα γιγάντια επιφανειακά κύτταρα είναι πιο συχνά στα υλικά από τους ουρητήρες και την πύελο, αλλά μπορούν επίσης να παρατηρηθούν και στην κύστη. Συνδέονται συχνά με προηγούμενους χειρισμούς και είναι καλοήθη.

Κυλινδρικά Κύτταρα

Αν και παρατηρούνται σπάνια στα ούρα, τα κυλινδρικά ουροθηλιακά κύτταρα είναι φυσιολογικό και συχνό εύρημα στα υλικά από εκπλύματα της κύστεως. Κυλινδρικά ουροθηλιακά κύτταρα μπορεί επίσης να προέρχονται από την ουρήθρα, ιδιαίτερα στους άνδρες, όπως επίσης και από κυστική κυστίτιδα. Τα κυλινδρικά ουροθηλιακά κύτταρα έχουν συχνά μια λεπτή κυτταροπλασματική ουρά. Μπορεί να είναι μεμονωμένα ή να σχηματίζουν μικρές ομάδες. Κυλινδρικά ουροθηλιακά κύτταρα μπορεί επίσης να παρατηρηθούν σε καλά διαφοροποιημένα θηλώδη νεοπλασμάτα. Άλλες πιθανές πηγές κυλινδρικών κυττάρων είναι η επιμόλυνση από το γεννητικό σύστημα, τα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα και η αδενική κυστίτιδα.

Αντιδραστικά και Εκφυλισμένα Ουροθηλιακά Κύτταρα

Οι αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις των ουροθηλιακών κυττάρων είναι συχνές και μπορεί να οφείλονται σε φλεγμονή και λοίμωξη, λιθίαση, υπερπλασία προστάτη, ακτινοβολία και χημειοθεραπεία, φάρμακα, καθετηριασμό ή χειρισμούς. Τα επιφανειακά κύτταρα, ιδιαιτέρως, μπορεί να αποκτήσουν πραγματικά αλλόκοτη εμφάνιση. Οι πυρήνες αυξάνουν σε μέγεθος και αριθμό, γίνονται πιο πολύμορφοι και η πυρηνοπλασματική αναλογία μπορεί να αυξηθεί ελαφρώς. Μπορεί να παρατηρηθούν φυσιολογικές μιτώσεις. Η αδρή κοκκίωση της χρωματίνης και τα εμφανή πυρήνια μπορεί να μιμούνται υψηλού βαθμού ουροθηλιακό καρκίνωμα. Η απώθηση της χρωματίνης στην περιφέρεια, η καρύλυση και η καρύορρηξη είναι συχνές εκφυλιστικές αλλοιώσεις. Ωστόσο, στις καλοήθεις αλλοιώσεις, οι πυρηνικές μεμβράνες παραμένουν σχετικά ομαλές, η χρωματίνη είναι συχνά μουντζουρωμένη και η

πυρηνοπλάσματική αναλογία διατηρείται σχετικά καλή. Εμφανή πυρήνια και κενοτοπίωση του κυτταροπλάσματος παρατηρούνται συχνά στα αντιδραστικά ουροθηλιακά κύτταρα και στα υψηλού βαθμού ουροθηλιακά καρκινώματα, αλλά συνήθως δεν παρατηρούνται στα χαμηλού βαθμού ουροθηλιακά καρκινώματα.

Η Σημασία των Θηλωδών Ομάδων

Το μεταβατικό επιθήλιο αποφολιδώνεται εύκολα. Έτσι, το παραμικρό τραύμα του βλεννογόνου, όπως ο καθετηριασμός, το έκπλυμα της κύστεως, η λιθίαση και η υπερπλασία του προστάτη, έχει ως αποτέλεσμα την αποκόλληση θηλωδών ιστικών μικροτεμαχιδίων (ψευδοθηλές). Στα κύτταρα αυτά μπορούν να συμβούν αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις. Τα ευρήματα αυτά μπορεί να μιμούνται θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα. Συνεπώς, οι «θηλώδεις ομάδες» θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή σε αυτές τις περιπτώσεις, εκτός και αν υπάρχουν αδιαμφισβήτητα στοιχεία κακοήθειας. Ωστόσο, όταν σε ένα δείγμα ούρων υπάρχουν θηλές, χωρίς να υπάρχει ιστορικό πρόσφατων χειρισμών, λιθίασης, κ.λ.π, θα πρέπει να γίνει περαιτέρω διερεύνηση του ασθενούς, ώστε να αποκλεισθεί το θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα, ακόμη και αν τα κύτταρα φαίνονται φυσιολογικά.

Πλακώδη Κύτταρα και Πλακώδης Μετάπλαση

Τα ούρα, ιδιαίτερα των γυναικών, περιέχουν συχνά πλακώδη κύτταρα, ως επιμόλυνση από το γεννητικό σύστημα. Ωστόσο, πλακώδες επιθήλιο υπάρχει φυσιολογικά στην ουρήθρα των ανδρών (στην περιφερική μοίρα) και των γυναικών (σχεδόν σε ολόκληρη). Επιπλέον, η πλακώδης μετάπλαση (ώριμο, μη κερατινοποιημένο πλακώδες επιθήλιο) του τριγώνου της κύστεως είναι φυσιολογική στις γυναίκες. Συμβαίνει επίσης στα νεογέννητα αγόρια και σε

μερικούς υγιείς άνδρες, όπως επίσης και σε άνδρες που λαμβάνουν θεραπεία με οιστρογόνα. Εκτός από τις ορμόνες, η χρόνια φλεγμονή ή ο ερεθισμός (π.χ λίθοι, σχιστοσωμίαση, καθετήρες) μπορεί να προκαλέσουν πλακώδη μετάπλαση.

Στα κυτταρολογικά υλικά των ούρων, τα πλακώδη κύτταρα είναι συνήθως ώριμα διάμεσα ή επιπολής πλακώδη κύτταρα, όμοια με αυτά που παρατηρούνται στο τεστ Παπανικολάου. Τα πλακώδη κύτταρα είναι μεγαλύτερα από τα εν τω βάθει ουροθηλιακά κύτταρα και έχουν μικρότερους πυρήνες και μικρότερη πυρηνοπλασματική αναλογία. Το κυτταρόπλασμά τους είναι λεπτό και συνήθως χρωματίζεται ροζ ή μπλε συγκριτικά με το γκρι-μπλε κενοδοτιώδες κυτταρόπλασμα των τυπικών ουροθηλιακών κυττάρων.

Διάφορα Ευρήματα

Φλεγμονώδη Κύτταρα και Ερυθρά Αιμοσφαίρια

Τα ούρα φυσιολογικά δεν έχουν φλεγμονώδη κύτταρα και ερυθρά αιμοσφαίρια. Η παρουσία τους μπορεί να υποδηλώνει νόσο του ουροποιητικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένης φλεγμονής, κακοήθειας, ή τραυματισμού.

Νεφρικά Σωληναριακά Κύτταρα

Τα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα παρατηρούνται σε νοσήματα των νεφρών, που μπορεί να είναι νεφρίτιδες, απόρριψη μοσχεύματος ή καρκίνωμα νεφρού. Τα καλοήγη σωληναριακά κύτταρα είναι μικρά κυλινδρικά κύτταρα που αναγνωρίζονται συνήθως σε μικρές ομάδες ή κυλίνδρους. Αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις είναι συχνές.

Κύτταρα του Προστάτη και των Σπερματοδόχων Κύστεων

Τα κύτταρα του προστάτη σχηματίζουν μικρές ομάδες ή σωρούς από κυβοειδή κύτταρα με ομοιόμορφους μικρούς στρογγυλούς πυρήνες, αλλά κάπως υπερχρωματική χρωματίνη. Μικρά πυρήνια μπορούν να παρατηρηθούν σε προστατίτιδα, αλλά η παρουσία μακροπυρηνίων υποδηλώνει αδenoκαρκίνωμα προστάτη.

Τα κύτταρα των σπερματοδόχων κύστεων, αν και βρίσκονται σπάνια στα ούρα, μπορεί να έχουν πολύ άτυπη εμφάνιση, ιδιαίτερα σε άνδρες μεγάλης ηλικίας. Τα διαγνωστικά στοιχεία είναι η χρυσοκαφέ κυτταροπλασματική χρωστική, η πυκνή μουντζουρωμένη χρωματίνη και η παρουσία σπέρματος ή αμυλοειδών σωματίων.

Αμυλοειδή Σωματία και Ψαμμώδη Σωματία

Τα αμυλοειδή σωματία είναι συγκεντρικά πολυστρωματικά (συνήθως μη ασβεστοποιημένα) σωματία από τον προστάτη. Η διαφορική τους διάγνωση γίνεται με τα ψαμμώδη σωματία, τα οποία είναι πάντα ασβεστοποιημένα και περικλείονται συχνά από επιθηλιακά κύτταρα.

Σφαιροειδή ή Υαλοειδή Έγκλειστα Σωματία

Μικρά κόκκινα ή μπλε σταγονίδια παρατηρούνται συχνά στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων στα ούρα. Αυτά τα έγκλειστα σωματία είναι ένα μη ειδικό εύρημα, που σχετίζεται με εκφύλιση, και μπορεί να αντιπροσωπεύουν γιγάντια λυσοσώματα, δεν είναι όμως ιογενούς αιτιολογίας. Είναι πιο συχνά στα ούρα από αυτόματη ούρηση, παρά στα υλικά που λαμβάνονται με καθετηριασμό και

είναι άφθονα στα ούρα από ειλεοκύστη. Παρόμοια έγκλειστα μπορεί να παρατηρηθούν κάποιες φορές και σε άλλα υλικά (π.χ πτύελα, υγρά από κύστεις μαστού).

Άλλα Ευρήματα

Σπέρμα, κρύσταλλοι, κύλινδροι, και διάφοροι μικροοργανισμοί, όπως επίσης και εξωτερικά υλικά όπως πούδρα από τα γάντια και λιπαντικό (άμορφη πορφυροειδής μάζα), μπορεί να παρατηρηθούν από καιρού εις καιρόν στα κυτταρολογικά υλικά των ούρων.

Βασικοί Τύποι Υλικών

Τα ούρα από αυτόματη ούρηση συνιστώνται για τον έλεγχο του πληθυσμού. Για τη βέλτιστη ευαισθησία συνιστάται η εξέταση τριών δειγμάτων. Τα πρώτα πρωινά ούρα, αν και θεωρητικά είναι πιο κυτταροβριθή, δεν αποτελούν καλό υλικό λόγω των εκφυλιστικών αλλοιώσεων. Παρομοίως, τα ούρα από τη σακούλα συλλογής του καθετήρα δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για κυτταρολογική εξέταση. Τα ούρα μετά από καθετηριασμό είναι πιο κυτταροβριθή σε σχέση με τα ούρα από αυτόματη ούρηση και το υλικό είναι κάπως καλύτερα διατηρημένο. Ωστόσο, κάνουν τη διάγνωση των χαμηλού βαθμού αλλοιώσεων δυσκολότερη, λόγω των διαγνωστικών προβλημάτων που σχετίζονται με τις ψευδοθηλώδεις ομάδες και μπορεί να χάσουν αλλοιώσεις της ουρήθρας. Τα εκπλύματα της κύστεως χρησιμοποιούνται όταν υπάρχει σοβαρή κλινική υποψία κακοήθειας. Προτιμώνται τα φρέσκα υλικά και η χρώση Παπανικολάου.

5.1 Καλοήθη Νοσήματα του Ουροποιητικού Συστήματος

Λιθίαση

Η λιθίαση του ουροποιητικού συστήματος μπορεί να προκαλέσει εκσεσημασμένη κυτταρολογική ατυπία και μεγάλη κυτταροβρίθεια που να μιμείται το ουροθηλιακό καρκίνωμα. Η μηχανική αποκοπή ψευδοθηλωδών ομάδων του μεταβατικού επιθηλίου μπορεί να μιμείται τις νεοπλασματικές θηλές. Κυτταρολογικά στη λιθίαση μπορεί να παρατηρηθούν: μεγέθυνση και πολυμορφία των πυρήνων, αυξημένη πυρηνοπλασματική αναλογία, αδροκοκκώδης υπερχρωματική χρωματίνη, μιτώσεις, φλεγμονή, αίμα και νέκρωση. Χρειάζεται προσοχή στη διάγνωση καρκίνου όταν υπάρχει λιθίαση. Οι ενσωματωμένοι καθετήρες μπορεί να προκαλέσουν παρόμοιες αλλοιώσεις.

Κυστίτιδα

Η κυστίτιδα προκαλείται συνήθως από τη χλωρίδα των κοπράνων, ιδιαίτερα το κολοβακτηρίδιο *Escherichia coli*. Τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά είναι ουδετερόφιλα, ιστιοκύτταρα, ερυθρά αιμοσφαίρια και νεκρωτικά συντρίμματα. Μπορεί να παρατηρηθεί αυξημένος αριθμός ουροθηλιακών κυττάρων με αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις που να μιμούνται καρκίνωμα. Γι αυτό πρέπει να είμαστε προσεκτικοί στη διάγνωση. Από την άλλη πλευρά, η παρουσία φλεγμονής δεν αποκλείει το καρκίνωμα. Μια χρόνια φλεγμονή που παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα είναι πιθανό να οδηγήσει προοδευτικά σε κυστική κυστίτιδα (μικρές κύστες που επενδύονται από ουροθηλιακά κύτταρα) και αδενική κυστίτιδα (κύστες που επενδύονται από μεταπλαστικά αδενικά κύτταρα), που ξεκινούν από τις κρύπτες του Brunh (συμπαγείς εκβλαστήσεις ουρηθηλιακών κυττάρων).

Φυματίωση

Η φυματίωση του ουροποιητικού συστήματος συμβαίνει συνήθως δευτερογενώς μετά από φυματίωση των νεφρών. Σωροί επιθηλιοειδών κυττάρων, με σχήμα καρότου ή ατρακτοειδές, είναι διαγνωστικοί του κοκκιώματος. Οι πυρήνες είναι στρογγυλοί ή ωειδείς, με λεπτοκοκκώδη χρωματίνη και το κυτταρόπλασμα είναι λεπτοκενοτοπιώδες ή ινιδοειδές με ασαφή όρια. Μπορεί να παρατηρηθούν πολυπύρρηνα γιγάντια ιστιοκύτταρα. Τα οξεάντοχα μυκοβακτηρίδια ή οι θετικές καλλιέργειες ούρων επιβεβαιώνουν τη διάγνωση. Μπορεί επίσης να παρατηρηθεί από ελαφρά έως εκσεσημασμένη αντιδραστική επιθηλιακή ατυπία που να υποδηλώνει κακοήθεια. Παρόμοια ευρήματα μπορεί να παρατηρηθούν και σε ασθενείς που κάνουν θεραπεία με bacillus Calmette-Guérin (BCG) για ουροθηλιακό καρκίνωμα ή μετά από χειρουργική επέμβαση στην κύστη.

Μύκητες

Οι μυκητιασικές λοιμώξεις του ουροποιητικού συμβαίνουν συνήθως σε ανοσοκατασταλμένους ή διαβητικούς ασθενείς, αλλά και σε ορισμένους ασθενείς που λαμβάνουν αντιβιοτικά ευρέως φάσματος. Οι περισσότεροι από τους κοινούς τύπους μυκήτων μπορούν να προκαλέσουν λοίμωξη, όπως ο βλαστομύκητας, ο κρυπτόκοκκος, ο ασπέργιλλος ή η *Candida* (πιο συχνά είναι επιμόλυνση από το γυναικείο γεννητικό σύστημα). Μπορεί να παρατηρηθεί πολυμορφοπυρηνικού τύπου φλεγμονώδης απάντηση. Η καλλιέργεια των ούρων δίνει την οριστική διάγνωση.

Σχιστοσωμίαση

Η σχιστοσωμίαση είναι σπάνια στις ΗΠΑ αλλά πιο συχνή στην Αίγυπτο και μεταξύ των μεταναστών. Μερικές φορές μπορεί να βρεθεί στα ούρα το αυγό του σχιστοσώματος (σχιστόσωμα αιματόβιο). Η χρόνια λοίμωξη μπορεί να οδηγήσει σε πλακώδες καρκίνωμα της κύστεως. Τα αυγά μοιάζουν με μεγάλους κρυστάλλους ουρικού οξέος («σαν σταγόνα λεμονιού») και ταυτοποιούνται από το χαρακτηριστικό τους πλαϊνό ή τελικό αγκάθι.

Κυτταρομεγαλοϊός

Στο παρελθόν, η κυτταρολογική εξέταση των ούρων χρησιμοποιούνταν συχνότερα για την ανίχνευση του κυτταρομεγαλοϊού. Επειδή τα προσβεβλημένα κύτταρα προέρχονται κυρίως από τα νεφρικά σωληνάρια, τα διαγνωστικά κύτταρα στα ούρα είναι αραιά. Ο κυτταρομεγαλοϊός είναι δυνητικά θανατηφόρος σε βρέφη ή ανοσοκατασταλμένους ασθενείς·ωστόσο, κατά τα άλλα υγιείς ενήλικες, μπορεί να είναι απλά φορείς.

Τα κλασσικά διαγνωστικά χαρακτηριστικά είναι τα μεγάλα μεμονωμένα κύτταρα, το μεγάλο βασεόφιλο πυρηνικό έγκλειστο με την άλω, και η παχιά εμφάνιση της πυρηνικής μεμβράνης, με ή χωρίς μικρά στρογγυλά ενδοκυτταροπλασματικά ή ενδοπυρηνικά δορυφόρα έγκλειστα.

Ιός Polyoma

Ο ιός polyoma του ανθρώπου, επίσης γνωστός ως ιός ΒΚ, είναι μέλος της οικογένειας των ιών papovae. Αυτοί είναι DNA-ιοί που συνδέονται επίσης με την προοδευτική πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια, τον JC και τον HPV. Ορισμένοι προσβεβλημένοι ασθενείς είναι ανοσοκατασταλμένοι, άλλοι όμως είναι φαινομενικά υγιείς. Η λοίμωξη μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή να συνδέεται με αιματουρία, η οποία υποχωρεί αυτόματα, χωρίς επακόλουθα, μέσα σε λίγους μήνες.

Ο αριθμός των διαγνωστικών κυττάρων ποικίλλει από αραιά έως άφθονα. Τα προσβεβλημένα κύτταρα έχουν μεγάλους βαθυχρωματικούς πυρήνες και ελάχιστο κυτταρόπλασμα, μιμούμενα το καρκίνωμα, ιδιαίτερα το *in situ* (γνωστά και σαν «κύτταρα δολώματα/ decoy cells») και μερικές φορές έχουν κοντές κυτταροπλασματικές ουρές («κύτταρα κομήτες»). Το πιο χαρακτηριστικό γνώρισμα είναι η παρουσία ενός μεγάλου, στρογγυλού, ομοιογενούς, θαμπού, μπλε-μαύρου εγκλειστού στον πυρήνα. Μπορεί να υπάρχει μια πολύ λεπτή άλωσ μεταξύ του εγκλειστού και της «πεπαχυσμένης» πυρηνικής μεμβράνης. Το μικρό εγκλειστο μπορεί να απομακρυνθεί, αφήνοντας ένα αδρό δίκτυο χρωματίνης, ή δίνοντας στον πυρήνα μια ήπια «ξεπλυμένη» εμφάνιση («viral look»). Σε αντίθεση με τον καρκίνο, οι προσβεβλημένοι πυρήνες εμφανίζονται μουντζουρωμένοι, τα κύτταρα είναι συνήθως αραιά και μεμονωμένα και σπανίως σχηματίζουν αθροίσεις. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει επίσης και τη λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό.

Άλλοι Ιοί

Ο ιός HPV προκαλεί κονδυλώματα, τα οποία μπορεί να εντοπίζονται στην ουροδόχο κύστη, αλλά πιο συχνά αποτελούν επιμόλυνση από το γεννητικό σύστημα.

Ο ερπητοϊός μπορεί να προσβάλλει τα ουροθηλιακά κύτταρα και διαγιγνώσκεται με τα συνήθη κριτήρια (πολυπυρήνωση, καλούπιασμα, απώθηση της χρωματίνης στην περιφέρεια, υαλοειδής εμφάνιση της χρωματίνης και μερικές φορές ενδοπυρηνικά έγκλειστα).

Μαλακοπλακία

Η μαλακοπλακία είναι μια σπάνια, χρόνια κοκκιωματώδης νόσος που εμφανίζεται τυπικά σε γυναίκες μέσης ηλικίας, αλλά μπορεί να προσβάλλει άτομα κάθε ηλικίας και των δύο φύλων. Ανοσοανεπάρκεια, που οφείλεται σε ατελή/πλημμελή φαγοκυττάρωση ή σε ανεπάρκεια των λυσοσωμάτων, έχει σαν αποτέλεσμα την ατελή πέψη των βακτηρίων, τα οποία ασβεστοποιούνται και σχηματίζουν τα χαρακτηριστικά σωματία Michaelis-Gutmann στα ιστοκύτταρα (του von Hansemann). Αυτά τα κυτταροπλασματικά έγκλειστα έχουν διάμετρο περίπου 5-10 μm, είναι στρογγυλά, πολυστρωματικά και συνήθως βασεόφιλα. Είναι PAS-θετικά και περιέχουν σίδηρο και ασβέστιο. Είναι σπάνια στα ούρα, αλλά μπορεί να παρατηρηθούν στα εκπλύματα της κύστεως και μετά από βιοψία. Η τυπική τους εμφάνιση «σαν βολή στο κέντρο στόχου» φαίνεται καλύτερα στα μεγαλύτερα έγκλειστα. Παρατηρούνται επίσης κοκκιώματα που αποτελούνται από επιθηλιοειδή ιστοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και μερικές φορές πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα.

Επίδραση της Ενδοφλέβιας και Ανάστροφης (παλίνδρομης) Πυελογραφίας

Σε διάστημα λίγων ημερών μετά από έκθεση σε ορισμένα ακτινολογικά υλικά («χρωστικές»), τα ουροθηλιακά κύτταρα μπορεί να υποστούν αλλοιώσεις. Μπορεί να αποφολιδώνονται ψευδοθηλής και να παρατηρηθούν αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις που να μιμούνται κακοήθεια. Ωστόσο, η πυρηνοπλασματική αναλογία διατηρείται εντός φυσιολογικών ορίων. Άχρωμη έως αχνοκίτρινη ελεύθερη χρωστική μπορεί να παρατηρηθεί μερικές φορές σαν στρογγυλά σφαιρίδια ή ορθογώνιες πλάκες.

Δηλητηρίαση από Βαρέα Μέταλλα (Βισμούθιο, Μόλυβδος)

Στη δηλητηρίαση από βαρέα μέταλλα, π.χ μολυβδίαση στα παιδιά, τα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα μπορεί να περιέχουν κόκκινα ενδοπυρηνικά έγκλειστα που μοιάζουν με ιικά έγκλειστα ή μακροπυρήνια. Αυτά τα πυρηνικά έγκλειστα είναι ομοιογενή, με ανώμαλο περίγραμμα, έχουν καλά καθοριζόμενη άλω και χρωματίζονται θετικά στην οξεάντοχη χρώση.

Κυτταρική Αντίδραση σε Θεραπευτικούς Παράγοντες

Χημειοθεραπεία

Ορισμένοι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες (π.χ κυκλοφωσφαμίδη, βουσουλφάνη) μπορεί να προκαλέσουν σημαντική κυτταρική ατυπία που να μιμείται κακοήθεια. Άλλα φάρμακα (π.χ thioτερα) προκαλούν μικρότερη ατυπία που θυμίζει περισσότερο αντιδραστικές αλλοιώσεις. Ορισμένα φάρμακα χορηγούνται ενδοκυστικά και δρουν τοπικά (π.χ μιτομυκίνη, thioτερα). Άλλα δίνονται συστηματικά και συγκεντρώνονται στα ούρα (π.χ κυκλοφωσφαμίδη, βουσουλφάνη).

Ακτινοβολία

Οι αντιδραστικές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις των ουροθηλιακών κυττάρων που οφείλονται στην ακτινοβολία είναι συχνές και μπορεί να εκληφθούν σαν καρκίνωμα. Το πιο αξιόπιστο κριτήριο της επίδρασης ακτινοβολίας είναι η κυτταρομεγαλία. Πυρήνες και κυτταρόπλασμα μεγεθύνονται ταυτόχρονα και έτσι διατηρείται η πυρηνοπλασματική αναλογία. Μπορεί να παρατηρηθούν πολυπυρήνωση και μακροπυρήνια. Η χρωματίνη είναι συνήθως λεπτή και ομοιόμορφη, αν και μπορεί να υπάρξει υπερχρωμασία, πύκνωση ή καρυόρρηξη. Χαρακτηριστική επίσης είναι η κυτταροπλασματική κενотоπίωση και πολυχρωμασία ή εωσινοφιλία. Στο υπόστρωμα παρατηρούνται συγκρίμματα, φλεγμονώδη κύτταρα και πρωτεϊνικό υλικό.

Βάκιλος Calmette-Guerin

Το BCG χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου της κύστεως, ιδιαίτερα στο καρκίνωμα in situ. Το BCG (ένα εξασθενημένο μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης) προκαλεί απογύμνωση του επιθηλίου και σχηματισμό κοκκιωμάτων στο στρώμα. Στην αρχή κυριαρχούν τα ουδετερόφιλα και αργότερα εμφανίζονται λεμφοκύτταρα, ιστιοκύτταρα και γιγαντοκύτταρα. Το BCG μπορεί να προκαλέσει και ελαφρά επιθηλιακή ατυπία, αλλά δεν υπάρχει σημαντική πυρηνική πολυμορφία, εμφανή πυρήνια ή κυτταρομεγαλία.

Θεραπεία με Laser/Καυτηρίαση

Ως απάντηση στη θεραπεία με laser ή στην καυτηρίαση τα ουροθηλιακά κύτταρα μπορεί να αποκτήσουν ένα τεχνητό πολύ ατρακτοειδές σχήμα, που οφείλεται προφανώς στη θερμότητα.

5.2 Καρκίνος του Ουροποιητικού Συστήματος και Κυτταρολογία

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως είναι συχνότερος στους άνδρες από τις γυναίκες, στους λευκούς από τους μαύρους και είναι σπάνιος σε ηλικία μικρότερη των 40 ετών. Το πιο συχνό σύμπτωμα είναι η ανώδυνη αιματουρία. Μη ειδικά συμπτώματα που μοιάζουν με κυστίτιδα (π.χ συχνουρία, έπειξη, πόνος), εμφανίζονται αργότερα και μπορεί να υποδηλώνουν διηθητική νόσο.

Η κυτταρολογία μπορεί να ανιχνεύσει τα περισσότερα υψηλού βαθμού ουροθηλιακά καρκινώματα, συμπεριλαμβανομένου του καρκινώματος *in situ*, αλλά συχνά αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τα καλά διαφοροποιημένα θηλώδη νεοπλάσματα. Ωστόσο, η διαγνωστική ακρίβεια βελτιώνεται αν όλες οι θηλώδεις αλλοιώσεις που καλύπτονται από σχεδόν φυσιολογικά κύτταρα θεωρηθούν σαν καλοήγη θηλώματα και όλοι οι ουροθηλιακοί όγκοι που αποτελούνται από κακοήγη κύτταρα, θηλώδεις ή μη, θεωρηθούν σαν ουροθηλιακά καρκινώματα.

Τα χαμηλού βαθμού ουροθηλιακά νεοπλάσματα υποτροπιάζουν συχνά, αλλά σπάνια είναι επιθετικά. Ωστόσο, οι ασθενείς αυτοί έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης επιθετικών καρκινωμάτων και θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά. Αντιθέτως, τα υψηλού βαθμού καρκινώματα είναι επιθετικά είτε είναι θηλώδη είτε όχι. Οι ασθενείς που πεθαίνουν από ουροθηλιακό καρκίνωμα συνήθως εμφανίζουν εξ αρχής υψηλού βαθμού αλλοιώσεις.

Περιληπτικά, αν και τα χαμηλού βαθμού ουροθηλιακά νεοπλάσματα είναι δύσκολο, ή αδύνατο να διαγνωσθούν κυτταρολογικά, οι αλλοιώσεις αυτές σπανίως είναι μοιραίες/θανάσιμες. Τα καρκινώματα *in situ* και τα υψηλού βαθμού διηθητικά καρκινώματα είναι επικίνδυνες αλλοιώσεις και συνήθως διαγιγνώσκονται εύκολα κυτταρολογικά.

Γενικές Αρχές της Κυτταρολογικής Διάγνωσης των ούρων

Όσο μεγαλύτερος ο βαθμός της κακοήθειας και όσο πιο εκτεταμένος ο όγκος, τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα να τεθεί κυτταρολογικά η διάγνωση. Σημαντικά κυτταρολογικά χαρακτηριστικά είναι η ύπαρξη συνωστισμένων αποδιοργανωμένων ιστικών μικροτεμαχιδίων, η μεγέθυνση των πυρήνων, η αύξηση της πυρηνοπλασματικής αναλογίας, η αδροκοκκώδης χρωματίνη και τα μακροπυρήνια. Τα ατρακτόμορφα κύτταρα μπορεί να αποτελούν διαγνωστικό στοιχείο των χαμηλού βαθμού νεοπλασμάτων. Η υπερχρωμασία από μόνη της και το μέγεθος του πυρήνα δεν αποτελούν καλά διαγνωστικά κριτήρια· εκφυλισμένοι και πολυπλοειδικοί πυρήνες μπορεί να χρωματίζονται σκούροι, και περισσότερο σημαντική στη διάγνωση είναι η πυρηνοπλασματική αναλογία παρά το μέγεθος του πυρήνα αυτό καθαυτό. Η παρουσία μιτώσεων και νέκρωσης είναι παράγοντες που σχετίζονται με κακή πρόγνωση. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει την ατυπία που οφείλεται σε τραύμα (λιθίαση, καθετηριασμός), τη φλεγμονή και την ακτινοβολία ή χημειοθεραπεία.

Θηλώμα (Καλά Διαφοροποιημένο Θηλώδες Ουροθηλιακό Νεόπλασμα)

Τα καλά διαφοροποιημένα θηλώδη ουροθηλιακά νεοπλάσματα, ή θηλώματα (που συγχωνεύουν τα παραδοσιακά θηλώματα και θηλώδη ουροθηλιακά καρκινώματα grade I), αποτελούνται από φυσιολογικά ή σχεδόν φυσιολογικά στην εμφάνιση κύτταρα, κάνοντας την κυτταρολογική διάγνωση δύσκολη ή αδύνατη.

Χαλαρές ομάδες και αθροίσεις που μοιάζουν με θηλές παρατηρούνται συχνά σε αυτά τα θηλώματα, πρέπει όμως να διαφοροδιαγνωσθούν από τις αλλοιώσεις που προκαλούνται μετά από χειρισμούς ή στη λιθίαση. Οι πραγματικές θηλές (με αγγειοσυνδετικούς άξονες) είναι διαγνωστικές της

θηλώδους νεοπλασίας, αλλά παρατηρούνται σπάνια και δεν είναι ουσιαστικές για τη διάγνωση.

Μπορεί να παρατηρηθούν κυλινδρικά, επιμήκη ή ατρακτόμορφα κύτταρα. Τα κύτταρα και οι πυρήνες τους είναι μεγαλύτερα από τα φυσιολογικά εν τω βάθει (όχι επιφανειακά) ουροθηλιακά κύτταρα. Τα κυτταρικά όρια είναι συχνά ασαφή. Το κυτταρόπλασμα είναι πυκνό και ομοιογενές παρά κενοδοτιώδες. Οι πυρήνες είναι έκκεντροι και μπορεί να έχουν ανώμαλες μεμβράνες με εγκοπές ή πτυχές. Η χρωματίνη είναι λεπτή και ομοιόμορφα κατανεμημένη. Τα πυρήνια, αν υπάρχουν, είναι μικρά. Στο υπόστρωμα παρατηρούνται συχνά ερυθρά αιμοσφαίρια.

Τα αντιδραστικά ουροθηλιακά κύτταρα έχουν συχνά εμφανή πυρήνια και κενοδοτιώδες κυτταρόπλασμα, χαρακτηριστικά που δεν συνδέονται συνήθως με τα χαμηλού βαθμού ουροθηλιακά νεοπλάσματα, αλλά παρατηρούνται στα υψηλού βαθμού (τα οποία έχουν κλασσικά κακοήθη χαρακτηριστικά).

Ουροθηλιακό Καρκίνωμα, Χαμηλού Βαθμού

Η αυξημένη κυτταροβρίθεια είναι συχνό και ύποπτο εύρημα για χαμηλού βαθμού ουροθηλιακό καρκίνωμα στα ούρα από αυτόματη ούρηση, τα οποία είναι συνήθως αραιοκυτταρικά. Τα κακοήθη κύτταρα σχηματίζουν συχνά χαλαρές αθροίσεις, ή σωρούς με συνωστισμό των κυττάρων ή θηλές. Αν και τα κύτταρα μπορεί να είναι μικρότερα από αυτά των θηλωμάτων, έχουν μεγαλύτερη πυρηνοπλασματική αναλογία. Οι πυρήνες είναι έκκεντρα τοποθετημένοι. Συνήθως παρατηρούνται ανωμαλίες της πυρηνικής μεμβράνης, που αποτελούν και σημαντικό διαγνωστικό στοιχείο. Η χρωματίνη έχει εντονότερη κοκκίωση από τη φυσιολογική, παραμένει όμως ομοιόμορφα κατανεμημένη. Τα πυρήνια συνήθως δεν φαίνονται ή είναι μικρά, αν και

κάποιοι πυρήνες μπορεί να έχουν εμφανή πυρήνια. Το κυτταρόπλασμα είναι τυπικά πυκνό και ομοιογενές, παρά κενοδοπιώδες.

Μολονότι τα κύτταρα εμφανίζονται πιο άτυπα από αυτά του θηλώματος, δεν παρατηρείται σημαντική πολυμορφία, ανώμαλη κατανομή της χρωματίνης και μεγάλα πυρήνια. Μιτώσεις μπορεί να παρατηρηθούν. Εστιακά στοιχεία αδενικής ή πλακώδους μετάπλασης, όπως επίσης κυλινδρικά, επιμήκη, ή ατρακτόμορφα κύτταρα μπορεί να υπάρχουν. Η ύπαρξη μικρών πυκνωτικών κυττάρων προειδοποιεί για την παρουσία ουροθηλιακού καρκινώματος.

Τα τρία χαρακτηριστικά-κλειδιά για τη διάγνωση του χαμηλού βαθμού ουροθηλιακού καρκινώματος είναι η μεγάλη πυρηνοπλασματική αναλογία, οι ανώμαλες πυρηνικές μεμβράνες και το πυκνό ομοιογενές κυτταρόπλασμα. Στις θηλώδεις αθροίσεις, τα καλοήθη κύτταρα μπορεί να είναι *πιο* πολύμορφα από αυτά των χαμηλού βαθμού ουροθηλιακών καρκινωμάτων.

Ουροθηλιακό Καρκίνωμα, Υψηλού Βαθμού

Τα κύτταρα του υψηλού βαθμού ουροθηλιακού καρκινώματος είναι εμφανώς κακοήθη, με πολύμορφα και αλλόκοτα κύτταρα με μεγάλη πυρηνοπλασματική αναλογία. Οι πυρήνες εμφανίζουν τα κλασσικά κακοήθη χαρακτηριστικά: ανώμαλες πυρηνικές μεμβράνες, ανώμαλη αδροκοκκώδη, υπερχρωματική χρωματίνη και εμφανή πυρήνια. Οι μιτώσεις είναι συχνές και μπορεί να είναι άτυπες. Σε αντίθεση με τα καλά διαφοροποιημένα νεοπλάσματα, το κυτταρόπλασμα είναι συχνά κενοδοπιώδες. Αδενική ή πλακώδης μετάπλαση είναι συχνότερη στα υψηλού βαθμού καρκινώματα. Μπορεί να παρατηρηθούν επίσης ατρακτόμορφα και γιγάντια κύτταρα.

Τα αντιδραστικά ουροθηλιακά κύτταρα μπορεί να έχουν εμφανή πυρήνια και κενοδοπίωση του κυτταροπλάσματος, όπως και τα υψηλού

βαθμού ουροθηλιακά καρκινώματα, αλλά στα αντιδραστικά κύτταρα απουσιάζουν τα κακοήθη χαρακτηριστικά. Συγκριτικά με τα χαμηλού βαθμού ουροθηλιακά καρκινώματα, τα υψηλού βαθμού έχουν πιο εμφανή κακοήθη χαρακτηριστικά. Τα καλύτερα διαγνωστικά κριτήρια για τα υψηλού βαθμού ουροθηλιακά καρκινώματα είναι οι ευμεγέθεις πυρήνες με αυξημένη πυρηνοπλασματική αναλογία, οι ανώμαλες πυρηνικές μεμβράνες, η αδροκοκκώδης βαθυχρωματική χρωματίνη και τα μακροπυρήνια.

Οι διαγνωστικές παγίδες των ουροθηλιακών νεοπλασμάτων περιλαμβάνουν τα αντιδραστικά επιφανειακά (σαν ομπρέλα) κύτταρα, τα ψευδοθηλώδη τεμαχίδια, την ατυπία της λιθίασης, τα κύτταρα των ουρητήρων και της πυέλου, τα κύτταρα από ειλεοκύστη, την επίδραση ακτινοβολίας ή χημειοθεραπείας, τις αλλοιώσεις από ιούς (ιδιαίτερα του ιού polyoma), την υπερπλασία ή το θήλωμα και τις αλλοιώσεις από φάρμακα.

Ουροθηλιακό Καρκίνωμα In Situ

Το καρκίνωμα in situ είναι, εξ ορισμού, μία μη θηλώδη, επίπεδη αλλοίωση που αποτελείται από υψηλού βαθμού κακοήθη κύτταρα, που μοιάζουν πολύ με αυτά του διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος. Από το καρκίνωμα in situ προέρχονται συνήθως τα πολύ διηθητικά καρκινώματα που μπορεί να είναι θανατηφόρα. Σε πλήρη αντίθεση με το καρκίνωμα in situ του τραχήλου της μήτρας, στο ουροθηλιακό καρκίνωμα in situ δεν απαιτείται κατάληψη όλου του πάχους του επιθηλίου από αναπλαστικά κύτταρα, αλλά αντιθέτως διαγιγνώσκεται από τα «χειρότερα» κύτταρα που υπάρχουν.

Κυστεοσκοπικά, το καρκίνωμα in situ μπορεί να μην είναι ορατό, ή να φαίνεται σαν μια ερυθρότητα του βλεννογόνου που να θυμίζει κυστίτιδα. Η κυτταρολογία των ούρων έχει σημαντική θέση στη διάγνωση αυτής της νόσου. Το καρκίνωμα in situ μπορεί εύκολα να διαγνωσθεί κυτταρολογικά, αν και η

κυτταρολογία δεν μπορεί να προσδιορίσει με αξιοπιστία αν το καρκίνωμα είναι *in situ* ή διηθητικό, ούτε μπορεί να εντοπίσει τη θέση της αλλοίωσης. Επίσης, μια θετική κυτταρολογική διάγνωση μπορεί να προηγείται μήνες ή ακόμα και χρόνια μιας θετικής ιστολογικής διάγνωσης, με αποτέλεσμα μια φαινομενικά ψευδώς θετική διάγνωση («ψευδώς ψευδώς-θετική»).

Ουσιαστικά, η διάγνωση βασίζεται στην ανεύρεση πολλών κυτάρων με εκσεσημασμένη ατυπία (όμοια με αυτή των υψηλού βαθμού ουροθηλιακών καρκινωμάτων). Τα κύτταρα αποφολιδώνονται εύκολα και εμφανίζονται μεμονωμένα ή σε μικρούς σωρούς.

Οι πυρήνες είναι υπερχρωματικοί με αδροκοκκώδη χρωματίνη και το κυτταρόπλασμα είναι μέτριο και εύθραυστο. Το υπόστρωμα είναι καθαρό. Τα μεγαλύτερα πιο πολύμορφα κύτταρα, τα πιο εμφανή πυρήνια και το καρκινικό υπόστρωμα είναι υπέρ διηθητικού καρκινώματος· τα μικρότερα πιο ομοιόμορφα κύτταρα, με λιγότερα πυρήνια και το καθαρό υπόστρωμα είναι υπέρ καρκινώματος *in situ*. Με την κυτταρολογία μπορεί να τεθεί υποψία διήθησης, αλλά όχι να αποκλεισθεί.

Κυστεοσκόπηση

Η κυστεοσκόπηση και η κυτταρολογική εξέταση των ούρων είναι συμπληρωματικές διαδικασίες. Οι χαμηλού βαθμού θηλώδεις αλλοιώσεις, που μπορεί να είναι δύσκολο να διαγνωσθούν κυτταρολογικά, ανιχνεύονται συνήθως εύκολα στην κυστεοσκόπηση, οι θηλές κυριολεκτικά «χαιρετούν» τον κυστεοσκόπο. Αντιθέτως, τα υψηλού βαθμού επίπεδα καρκινώματα *in situ*, τα οποία έχουν πολύ χειρότερη πρόγνωση, είναι εύκολο να ανιχνευθούν κυτταρολογικά, αλλά να χαθούν στην κυστεοσκόπηση, επειδή μπορεί να εκληφθούν ως υπεραιμία, κυστίτιδα ή ακόμη και σαν φυσιολογικός βλεννογόνο.

Ούρα από Ειλεοκύστη

Τα ούρα από ειλεοκύστη ελέγχονται για την ανίχνευση υποτροπών στον ουρητήρα ή την πύελο μετά από κυστεκτομή. Τα ούρα από ειλεοκύστη είναι συνήθως πολύ κυτταροβριθή. Τα κύτταρα είναι χαρακτηριστικά πολύ εκφυλισμένα και μοιάζουν με μακροφάγα. Οι εκφυλισμένοι πυρήνες μπορεί να εμφανίζονται υπερχρωματικοί λόγω της καρυόρρηξης και της πύκνωσης. Πολλά από τα κύτταρα περιέχουν κόκκινα ή μπλε κυτταροπλασματικά έγκλειστα. Στο υπόστρωμα παρατηρούνται συντρίμματα, κυτταροπλασματικά θραύσματα, κοκκιώδεις εναποθέσεις, βακτήρια και κρύσταλλοι. Η παρουσία λίγων ερυθρών ή λευκών αιμοσφαιρίων είναι αναμενόμενη, αλλά αν ο αριθμός τους είναι αυξημένος μπορεί να είναι ένδειξη λοίμωξης. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν την ίδια μορφολογία όπως και στα άλλα υλικά των ούρων, αλλά μπορεί να είναι δύσκολη η ανεύρεσή τους.

Καρκίνωμα του Ανώτερου Ουροποιητικού Συστήματος (Νεφρική Πύελος και Ουρητήρας)

Περίπου 5% έως 10% των ουροθηλιακών νεοπλασμάτων εντοπίζονται στο ανώτερο ουροποιητικό σύστημα (νεφρική πύελος και ουρητήρας). Οι περισσότεροι από τους όγκους αυτούς είναι θηλώδη ουροθηλιακά νεοπλάσματα. Δυστυχώς, τα υλικά που προέρχονται από τους ουρητήρες και τη νεφρική πύελο είναι από τα πιο δύσκολα στην ερμηνεία τους υλικά του ουροποιητικού συστήματος.

Ούρα

Τα υψηλού βαθμού καρκινώματα είναι συνήθως εύκολο να διαγνωσθούν, αλλά οι χαμηλού βαθμού όγκοι του ανώτερου ουροποιητικού είναι δύσκολο να ανιχνευθούν και να εντοπισθούν μόνο με την κυτταρολογία. Οι όγκοι μπορεί να αποφολιδώνουν διαγνωστικά κύτταρα περιοδικά και τα κύτταρα να είναι πολύ εκφυλισμένα. Κατά τα άλλα, τα κυτταρολογικά κριτήρια για τη διάγνωση των όγκων του ανώτερου ουροποιητικού στα ούρα είναι τα ίδια με αυτά των όγκων της κύστεως.

Καθετηριασμός με Βούρτσισμα ή Έκπλυμα

Με τον καθετηριασμό και το βούρτσισμα ή έκπλυμα μπορούμε να έχουμε άμεσα κυτταρολογικά υλικά. Πολλοί όγκοι, ιδίως υψηλού βαθμού, μπορούν να διαγνωσθούν με ακρίβεια, αλλά οι χαμηλού βαθμού όγκοι του ανώτερου ουροποιητικού παρουσιάζουν δυσκολίες στη διάγνωση.

Τα ουροθηλιακά κύτταρα από το ανώτερο ουροποιητικό σύστημα είναι τυπικά μεγαλύτερα και πιο πολύμορφα από αυτά της κύστεως. Μπορεί να είναι πολυπλοειδικά και να έχουν «άτυπους» πυρήνες (πολλαπλούς, ευμεγέθεις, υπερχρωματικούς, μερικές φορές με εμφανή πυρήνια). Τα κύτταρα συχνά εμφανίζονται σε σφιχτούς «θηλώδεις» σωρούς λόγω των χειρισμών. Η λιθίαση επίσης μπορεί να σχετίζεται με θηλώδεις σωρούς άτυπων κυττάρων. Τα χαρακτηριστικά αυτά εύκολα μπορεί να θεωρηθούν εσφαλμένα ως κακοήθη, γι αυτό πρέπει να είμαστε συντηρητικοί στη διάγνωση. Ελέγχουμε για αδιαμφισβήτητες κακοήθεις αλλοιώσεις (π.χ μεγάλη πυρηνοπλασματική αναλογία, πυρηνική υπερχρωμασία με αδροκοκκώδη χρωματίνη, ανωμαλίες της πυρηνικής μεμβράνης, μακροπυρήνια και καρκινικό υπόστρωμα) για να διαγνώσουμε κακοήθεια. Όσο υψηλότερος είναι ο βαθμός κακοηθείας του όγκου, τόσο περισσότερα τα κύτταρα, τόσο μεγαλύτερη η

ατυπία και τόσο περισσότερα τα μεμονωμένα κύτταρα. Από την άλλη πλευρά, αν υπάρχουν *μόνο* μικρά, ήπια, ομοιόμορφα κύτταρα, χωρίς επιφανειακά (σαν ομπρέλα) κύτταρα, τίθεται η υπόνοια χαμηλού βαθμού ουροθηλιακού νεοπλάσματος. Η διαφορική διάγνωση, ως συνήθως, περιλαμβάνει τη λιθίαση, τη φλεγμονώδη, αντιδραστική και εκφυλιστική ατυπία, όπως επίσης και τις επιδράσεις από διάφορες θεραπείες.

Πλακώδεις Αλλοιώσεις του Ουροποιητικού Συστήματος

Λευκοπλακία

Η λευκοπλακία, που είναι κλινικός όρος, συνήθως αντιστοιχεί σε πλακώδη μετάπλαση και υπερκεράτωση και συνδέεται με χρόνια ερεθισμό (π.χ λίθοι, σχιστοσωμίαση, απόφραξη της κύστεως).

Τα διαγνωστικά κύτταρα της υπερκεράτωσης είναι τα απύρρινα λέπια κερατίνης. Η λευκοπλακία θα πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από λέπια κερατίνης που προέρχονται από επιμόλυνση και από το κερατινοποιημένο πλακώδες καρκίνωμα της κύστεως, το οποίο μπορεί να είναι πολύ καλά διαφοροποιημένο.

Κονδυλώμα

Τα κονδυλώματα της ουροδόχου κύστεως συνδέονται συχνά με κονδυλώματα του γεννητικού συστήματος και πριν τεθεί η διάγνωση κονδυλώματος της κύστεως θα πρέπει να αποκλεισθεί η επιμόλυνση του δείγματος από κονδυλώματα του γεννητικού συστήματος. Τα κοιλοκύτταρα είναι διαγνωστικά, αλλά μπορεί να μην διατηρούνται καλά στα ούρα.

Πλακώδες Καρκίνωμα

Το πλακώδες καρκίνωμα είναι σπάνιο ($\leq 5\%$) στις ΗΠΑ, αλλά είναι συχνότερο από το ουροθηλιακό καρκίνωμα στην Αίγυπτο, όπου σχετίζεται με τη σχιστοσωμίαση (συνήθως σχιστόσωμα *hematobium*). Σε αντίθεση με το ουροθηλιακό καρκίνωμα γυναίκες και άνδρες προσβάλλονται με την ίδια συχνότητα. Έχει κακή πρόγνωση ακόμα και αν είναι καλά διαφοροποιημένο, που συνήθως είναι, ιδιαίτερα όταν συνδέεται με σχιστοσωμίαση. Οι πολύ καλά διαφοροποιημένοι όγκοι μπορεί να είναι δύσκολο να διαγνωσθούν.

Απύρνηνα λέπια κερατίνης ή «φαντάσματα» κυττάρων, μπορεί να είναι τα μόνο κυτταρολογικά ευρήματα στα ούρα. Τα εμπύρνηνα κύτταρα έχουν ανώμαλη, υπερχρωματική, αδροκοκκώδη έως πυκνωτική χρωματίνη, η οποία είναι συχνά εκφυλισμένη. Μεμονωμένα κύτταρα παρατηρούνται συχνά, όπως επίσης εκσεσημασμένη πυρηνική πολυμορφία, ανώμαλες πυρηνικές μεμβράνες και συμπυκνώσεις και διαυγασίες της χρωματίνης. Μακροπυρήνια μπορεί να παρατηρηθούν στους καλά διατηρημένους πυρήνες. Το κυτταρόπλασμα είναι σχετικά άφθονο και πυκνό και χρωματίζεται κυανόφιλο έως κόκκινο-πορτοκαλί. Μπορεί να παρατηρηθούν μεσοκυττάριας γέφυρες, πέρλες κερατίνης, ατρακτόμορφα κύτταρα ή κοκκία κερατοϋαλίνης. Το βρώμικο υπόστρωμα (καρκινική διάθεση) είναι συχνό και αποτελεί κακό προγνωστικό σημάδι.

Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει τη λευκοπλακία, το δευτεροπαθές πλακώδες καρκίνωμα (ιδίως από τον τράχηλο) και το ουροθηλιακό καρκίνωμα με πλακώδη διαφοροποίηση. Το μη κερατινοποιημένο πλακώδες καρκίνωμα είναι κυτταρολογικά όμοιο με το υψηλού βαθμού ουροθηλιακό καρκίνωμα.

Πρωτοπαθές Αδενοκαρκίνωμα

Τα αδενοκαρκινώματα αποτελούν λιγότερο από 2% των πρωτοπαθών καρκινωμάτων του ουροποιητικού συστήματος. Υπάρχουν δύο βασικοί μορφολογικοί τύποι αδενοκαρκινωμάτων: τα εντερικού τύπου, που είναι και τα συχνότερα, και τα αδενοκαρκινώματα με κύτταρα σφραγιστήρος δακτυλίου, που είναι σπάνια.

Κυτταρολογικά, παρατηρούνται σωροί καρκινικών κυττάρων που χαρακτηρίζονται από πυρηνικό συνωστισμό και πολυμορφία. Μπορεί να παρατηρηθούν εμφανή πυρήνια και ανώμαλη χρωματίνη. Το κυτταρόπλασμα είναι κενοτοπιώδες και η βλέννη μπορεί να αναδειχθεί με ειδικές χρώσεις. Το αδενοκαρκίνωμα με κύτταρα σφραγιστήρος δακτυλίου χαρακτηρίζεται από την παρουσία κακοηθών κυττάρων με μορφολογία σφραγιστήρος δακτυλίου μέσα σε λίμνες βλέννης. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει το ουροθηλιακό καρκίνωμα με αδενική διαφοροποίηση, το καρκίνωμα του νεφρού και το μεταστατικό αδενοκαρκίνωμα.

Μικροκυτταρικό (Νευροενδοκρινικό) Καρκίνωμα

Το μικροκυτταρικό (νευροενδοκρινικό) καρκίνωμα του ουροποιητικού συστήματος είναι ένας σπάνιος πρωτοπαθής όγκος που στην ουσία είναι όμοιος με το πολύ πιο συχνό μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα. Τα κύτταρα εμφανίζονται μεμονωμένα ή σε ομάδες με πυρηνικό καλούπιασμα. Τα κύτταρα είναι μικρά, με μεγάλη πυρηνοπλασματική αναλογία και αδροκοκκώδη χρωματίνη. Η νευροενδοκρινική διαφοροποίηση μπορεί να αναδειχθεί με ειδικές μελέτες π.χ ανοσοκυτταροχημεία. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει το υψηλού βαθμού ουροθηλιακό καρκίνωμα που αποτελείται από μικρά κύτταρα και το μεταστατικό μικροκυτταρικό καρκίνωμα. Ο όγκος του Wilms

μπορεί και αυτός να αποφολιδώνει «μικρά βλαστικά κύτταρα» στα ούρα, αλλά είναι συνήθως όγκος της παιδικής ηλικίας.

Κακοήθειες του Λεμφικού

Το πρωτοπαθές λέμφωμα του ουροποιητικού συστήματος είναι σπάνιο· πιο συχνή είναι η δευτεροπαθής εντόπιση. Στα ούρα μπορούν επίσης να βρεθούν κύτταρα προερχόμενα από λευχαιμία ή πλασματοκύττωμα.

Τα κύτταρα του λεμφώματος/λευχαιμίας είναι συνήθως μικρότερα από αυτά των επιθηλιακών κακοηθών νεοπλασμάτων. Το πιο χαρακτηριστικό γνώρισμα είναι η απουσία πραγματικών ιστικών αθροίσεων. Η μορφολογία εξαρτάται από τον τύπο του όγκου, αλλά τα κύτταρα έχουν μεγάλη πυρηνοπλασματική αναλογία, αδροκοκκώδη έως φουσαλιδώδη χρωματίνη και μπορεί να έχουν εμφανή πυρήνια. Το πλασματοκύττωμα/μυέλωμα εμφανίζει ώριμα ή άωρα πλασματοκύτταρα. Η νόσος του Hodgkin διαγιγνώσκεται από την παρουσία κυττάρων Reed-Sternberg. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει έντονη χρόνια φλεγμονή και λεμφοζιδιακή κυστίτιδα.

Δευτεροπαθείς Όγκοι του Ουροποιητικού Συστήματος

Νεφροκυτταρικό Καρκίνωμα

Η πρώτη διάγνωση του νεφροκυτταρικού καρκινώματος σπανίως γίνεται στα ούρα και, δυστυχώς, όταν αρχίζουν να εμφανίζονται διαγνωστικά κύτταρα στα ούρα, η νόσος είναι συνήθως πολύ προχωρημένη. Τα διαγνωστικά κύτταρα μπορεί να είναι πολύ εκφυλισμένα, συνήθως εμφανίζονται μεμονωμένα και ποικίλλουν από ελάχιστα έως άφθονα. Τα κύτταρα έχουν τυπικά μεγάλους, έκκεντρους, στρογγυλούς ή ωειδείς, υπερχρωματικούς πυρήνες με εμφανή

πυρήνια. Διαυγή (δηλ. λεπτοκενοτοπιώδη), κοκκώδη, ατρακτόμορφα κύτταρα μπορεί να παρατηρηθούν, αλλά ακόμη και τα διαυγή κύτταρα εμφανίζονται πιο πυκνά και κοκκώδη από το αναμενόμενο λόγω της εκφύλισης. Τα κακοήθη κύτταρα μπορεί να δίνουν θετικότητα στις χρώσεις λίπους (π.χ oil red O), αλλά η παρουσία λίπους δεν είναι ειδική για το καρκίνωμα του νεφρού ούτε για την κακοήθεια. Πολύ αντιδραστικά κύτταρα προερχόμενα από έμφρακτο του νεφρού μπορεί να μιμούνται το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα.

Αδενοκαρκίνωμα Προστάτη

Το πιο χαρακτηριστικό κυτταρολογικό γνώρισμα του καρκινώματος του προστάτη είναι η παρουσία εμφανών πυρηνίων σε σχετικά ομοιόμορφα κακοήθη αδενικά κύτταρα. Όταν τα κύτταρα αυτά εμφανίζονται στα ούρα, η νόσος είναι συνήθως προχωρημένη. Τα χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα του προστάτη μπορεί να είναι δύσκολο να διακριθούν από τα χαμηλής διαφοροποίησης ουροθηλιακά καρκινώματα.

Μελάνωμα

Το πρωτοπαθές μελάνωμα του ουροποιητικού συστήματος είναι σπάνιο· τα δευτεροπαθή είναι συχνότερα. Τα κύτταρα του μελανώματος εμφανίζονται συνήθως μεμονωμένα και έχουν τυπικά έκκεντρους, μεγάλους, φυσαλιδώδεις πυρήνες με μακροπυρήνια και μερικές φορές ενδοπυρηνικά κυτταροπλασματικά έγκλειστα. Μπορεί να παρατηρηθεί μελανίνη, η οποία θα πρέπει να διακριθεί από την αιμοσιδηρίνη ή τη λιποφουσκίνη.

Άλλοι Μεταστατικοί Όγκοι

Όγκοι του γυναικείου γεννητικού συστήματος, του παχέος εντέρου, του ορθού και του προστάτη μπορεί να διηθήσουν την κύστη κατά συνέχεια ιστού. Στα ούρα έχουν επίσης διαγνωσθεί και όγκοι των όρχεων. Οι όγκοι αυτοί είναι συνήθως υψηλής κακοηθείας και η διάκρισή τους από το ουροθηλιακό καρκίνωμα μπορεί να είναι δύσκολη. Απομακρυσμένες μεταστάσεις, ιδιαίτερα από τον πνεύμονα και το μαστό, μπορούν να διαγνωσθούν μερικές φορές στα ούρα.

6. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Τα στατιστικά δεδομένα σήμερα υποδηλώνουν ότι το 80% των επιφανειακών, μη διηθητικά αναπτυσσόμενων καρκινωμάτων θα υποτροπιάσουν, ενώ το 25% αυτών θα είναι πιο επιθετικά (βαθμός διαφοροποίησης - στάδιο) κατά την υποτροπή [32]. Το 10% αυτών των καρκινωμάτων θα υποτροπιάσουν με διήθηση του μυϊκού χιτώνα [33]. Τα περισσότερα από τα T1 καρκινώματα της ουροδόχου κύστεως είναι υψηλού βαθμού κακοήθειας και το 30-50% αυτών κατά την υποτροπή είναι πιο επιθετικά (βαθμός διαφοροποίησης)[34,35]. Τα περισσότερα από τα pTα καρκινώματα είναι χαμηλού βαθμού κακοήθειας, συχνά δε υποτροπιάζουν, αλλά μόνο το 5% αυτών υποτροπιάζουν με διηθητική ανάπτυξη [34]. Τα υψηλού βαθμού κακοήθειας pTα έχουν 10-15% μεγαλύτερο κίνδυνο για υποτροπή από ότι τα χαμηλού βαθμού, αλλά λιγότερο από ότι τα pT1 [36]. Το 50% περίπου των ασθενών που εμφανίζουν διήθηση του μυϊκού χιτώνα θα δώσουν και μεταστατική νόσο.

Το ιδανικό θα ήταν να προβλέψουμε με κάποιο τρόπο όλα αυτά, αλλά και άλλα, όπως π.χ. ποιοί ασθενείς θα ανταποκριθούν σε μια θεραπεία ή ποιοί

ασθενείς θα υποτροπιάσουν με ένα πιο επιθετικό νεόπλασμα ούτως, ώστε, να κάνουμε μια πιο ριζική και πιο αποτελεσματική θεραπεία π.χ. κυστεκτομή κ.λ.π.

Όσα αναφέρθηκαν πιο πάνω είναι ιστοπαθολογικοί προγνωστικοί παράγοντες. Αυτοί, όπως συμβαίνει και σε κάθε άλλο νεοπλασματικό ιστό, είναι οι πρώτοι που μελετήθηκαν. Η μελέτη αυτών των παραγόντων και η συσχέτισή τους με την πρόγνωση οδήγησε σε τροποποιήσεις των ιστοπαθολογικών ταξινομήσεων. Για παράδειγμα κάποια από τα νεοπλάσματα του ουροθηλίου που παλιότερα περιλαμβάνονταν στο όρο «μαλθακά θηλώματα» και θεωρούνταν καλοήθεις αλλοιώσεις, βρέθηκε να έχουν διαφορετική, πιο επιθετική συμπεριφορά, οπότε στις επόμενες ταξινομήσεις είτε εντάχθηκαν στην κατηγορία του θηλώδους ουροθηλιακού νεοπλάσματος, χαμηλού κακοήθους δυναμικού είτε και σαν ουροθηλιακά καρκινώματα, βαθμού κακοήθειας I. Πέραν των ιστοπαθολογικών προγνωστικών παραγόντων, με την ανάπτυξη διάφορων σύγχρονων τεχνικών, όπως η ανοσοϊστοχημεία, αλλά και μοριακές τεχνικές όπως ο *in situ* υβριδισμός, η PCR και άλλες, μας οδήγησαν στην εκτίμηση διάφορων βιολογικών παραγόντων και στην συσχέτισή τους με την πρόγνωση. Έτσι υπάρχει μια πληθώρα μελετών πάνω σε αυτούς τους παράγοντες που όχι σπάνια τα αποτελέσματα έρχονται σε διαφωνία μεταξύ τους.

Πολύ σωστά οι Murphy και συνεργάτες [37] κατατάσσουν τους προγνωστικούς παράγοντες στις παρακάτω ομάδες:

1 ^η	Προγνωστικοί παράγοντες αποδεκτοί από όλους με επαρκή στοιχεία στη βιβλιογραφία.
2 ^η	Παράγοντες που είναι πιθανό να συσχετίζονται με το καρκίνωμα της ουροδόχου κύστεως. Για τους παράγοντες αυτούς δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία στη βιβλιογραφία ή υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις, όσον αφορά τη συσχέτισή τους με το εν λόγω καρκίνωμα.
3 ^η	Παράγοντες αμφιβόλου αξίας, λόγω ανεπαρκών στοιχείων συσχέτισης ή λόγω αποκλεισμού τους από πολλές μελέτες.

- 1) **Στάδιο νόσου:** Θεωρείται ο πιο σημαντικός παράγοντας έως σήμερα. Τα προτεινόμενα κατά καιρούς συστήματα σταδιοποίησης στηρίζονται στη διαφορά πρόγνωσης που έχουν οι ασθενείς ανάλογα με το βάθος διήθησης [38-40].
- 2) **Διήθηση λεμφαδένων:** Ο παράγοντας αυτός εντάσσεται στη σταδιοποίηση και αποτελεί κακό προγνωστικό παράγοντα [39, 41-43].
- 3) **Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης:** Ο ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης συνδέεται με το στάδιο της νόσου, όπως και οι λεμφαδενικές μεταστάσεις, αφού διήθηση του μυϊκού χιτώνα έχουμε πολύ συχνά στο grade III, ενώ το grade I σπάνια έχει διηθητική ανάπτυξη. Παρ' όλα αυτά θεωρείται ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας όπως αποδεικνύεται από πολλές μελέτες [34, 41, 44-46].
- 4) **Τύπος νεοπλάσματος:** κάποιοι τύποι νεοπλάσματος ως γνωστόν, έχουν χειρότερη πρόγνωση όπως το μικροκυτταρικού τύπου καρκίνωμα, αδενοκαρκίνωμα ή καρκινοσάρκωμα [47-49].
- 5) **Διήθηση του προστάτη αδένου:** η διήθηση του προστάτη αδένου εντάσσεται στη σταδιοποίηση της νόσου. Μπορεί να γίνει είτε κατά

συνέχεια ιστού είτε όχι, με πολύ πιο επιβαρυσμένη πρόγνωση στην πρώτη περίπτωση [50,51].

- 6) **Ηλικία ασθενούς:** τα νεοπλάσματα που εμφανίζονται στις πρώτες δύο δεκαετίες της ζωής συνήθως είναι καλής διαφοροποίησης, οπότε έχουν και πολύ καλή πρόγνωση [52-54].
- 7) **Εντόπιση:** χειρότερη πρόγνωση έχουν τα νεοπλάσματα που εντοπίζονται στον αυχένα της ουροδόχου κύστεως. Αυτά που εντοπίζονται στο θόλο της κύστεως είναι ανώτερης διαφοροποίησης, σε αντίθεση με αυτά που εντοπίζονται στα πλάγια τοιχώματα της κύστεως [55].
- 8) **Εναπομείνουσες υπολειμματικές αλλοιώσεις στην κύστη:** η παρουσία πολυεστιακού νεοπλάσματος ή *in situ* καρκινώματος σε άλλη θέση επιβαρύνουν την πρόγνωση του ασθενούς [56-59].
- 9) **Διήθηση αγγείων:** κακό προγνωστικό παράγοντα αποτελεί η παρουσία νεοπλασματικών εμβόλων εντός αιμοφόρων αγγείων ή λεμφαγγείων [43,60].
- 10) **Θετική κυτταρολογική εξέταση ούρων μετά από θεραπεία:** εάν μετά από χημειοθεραπεία γνωστού καρκινώματος κύστεως, έχουμε θετική κυτταρολογική εξέταση ούρων, έστω και εάν ενδοσκοπικά αυτό δεν επιβεβαιώνεται, αυτό αποτελεί κακό προγνωστικό παράγοντα για την έκβαση της νόσου [61], ενώ αρνητική κυτταρολογική εξέταση μετά από χημειοθεραπεία αποτελεί καλό προγνωστικό παράγοντα [62].
- 11) **Πλοειδία του DNA:** η πλοειδικότητα του DNA με διάφορες τεχνικές που έχουμε στη διάθεσή μας π.χ. κυτταρομετρία ροής, ανάλυση εικόνας, αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα [63-66].
- 12) **Μορφομετρικές Ανωμαλίες** [67,68]
- 13) **Ο τύπος των ορίων του νεοπλάσματος:** τα νεοπλάσματα που έχουν την τάση να ωθούν στο όριό τους το υγιές και η συνύπαρξη

λεμφαγγειακής αντίδρασης έχουν καλύτερη πρόγνωση [69]. Με την αύξηση της γνώσης μας σε επίπεδο μοριακής βιολογίας ανακαλύφθηκαν αρκετοί μοριακοί δείκτες, οι οποίοι λιγότερο ή περισσότερο συσχετίζονται με την πρόγνωση του ουροθηλιακού καρκινώματος όπως:

- 14) **Αντιγόνα που συσχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων:**
οι δείκτες πολλαπλασιασμού Ki-67 και PCNA βρέθηκαν να συσχετίζονται με την πρόγνωση της νόσου [70-75].
- 15) **Γονίδια ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου (p53, p21,p27):** η πυρηνική υπερέκφραση αυτών των γονιδίων συσχετίστηκε με την υποτροπή της νόσου και την επιβίωση [70-75]. Τα νεοπλάσματα της ουροδόχου κύστεως που εκφράζουν το γονίδιο Rb έχουν πιο επιθετική συμπεριφορά από τα άλλα, αλλά δεν είναι βέβαιο, εάν αυτό αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα [76,77]. Η έκφραση των πρωτεϊνών p21WAF1/Cip1 και p27Kip1 συσχετίστηκε με το βαθμό διαφοροποίησης και την επιβίωση των ασθενών.
- 16) **Η αγγειογένεση όσο και η έκφραση πρωτεϊνών ρυθμιστών (αναστολείς ή επαγωγείς) της αγγειογένεσης (FGF, EGF, VEGF, ιντερλευκίνη-8, ιντερφερόνες 1 και 2, θρομβοσπονδίνη-1, αγγειοτενσίνη κ.α.)** έχουν συσχετισθεί με διάφορους προγνωστικούς παράγοντες. Με την υποτροπή της νόσου συσχετίστηκε ο παράγοντας VEGF, ενώ η αντίστροφη συσχέτιση είχε η TSP-1. Με την επιβίωση συσχετίστηκε ο παράγοντας VEGF, οι MMPS και η TSP -1. Με το στάδιο της νόσου ο VEGF, ο PD-ECGF, ο HIF-2α, ο Cox-2 και οι MMPs ενώ με τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης ο HIF-2α, ο PD-ECGF και οι MMPs [70, 78-86].
- 17) **Αυξημένη αποπτωτική δραστηριότητα του νεοπλάσματος** αποτελεί κακό προγνωστικό παράγοντα [86-88]. Δείκτες όπως το bcl-2, bax

και σουρβιβίνη έχουν συσχετισθεί με την υποτροπή της νόσου, ενώ το Fas με την επιβίωση. [72, 89-92]

18) **Η έκφραση των αντιγόνων ομάδων αίματος ABO:** βρέθηκε ότι τα ουροθλιακά νεοπλάσματα εκφράζουν τα αντιγόνα των ομάδων αίματος, στοιχείο που μειώνεται ή εξαφανίζεται στα χαμηλού βαθμού διαφοροποίησης [32, 94-94]. Η απώλεια έκφρασης αυτών συσχετίστηκε με χειρότερη πρόγνωση.

19) **Η έκφραση του αντιγόνου T138 (tumor associated antigen):** συσχετίζεται με μετάσταση της νόσου. [97]

20) **Τα ογκογονίδια c-H-ras, c-myc, c-erbB-2 και mdm-2:** συσχετίστηκαν με την επιβίωση, την υποτροπή, το βαθμό διαφοροποίησης και με μετάσταση της νόσου [98-106].

21) **Τα μόρια που σχετίζονται με τη συνοχή των κυττάρων (μόρια προσκόλλησης):** όπως οι κανδερίνες και ιντεκρίνες, το CD44 συσχετίστηκαν με την επιβίωση των ασθενών, αλλά και με τη μετάσταση της νόσου [108-111].

22) **Οι πρωτεάσες του εξωκυττάρου στρώματος:** όπως λαμινίνη, καθεψίνη-D, ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (UP-A), οι μεταλλοπρωτεϊνάσες του εξωκυττάρου στρώματος έχουν συσχετισθεί είτε με την επιβίωση είτε με τη μετάσταση [112-117].

23) **Άλλοι παράγοντες** όπως ο EGFR έχουν συσχετισθεί με την υποτροπή και την πρόγνωση [118,119].

7. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

Η θεραπεία του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως είναι δυνατή μόνο σε ασθενείς με επιφανειακό καρκίνο και γίνεται με διουρηθρική εκτομή του όγκου (TUR) με ή χωρίς ενδοουρηθρική χημειοθεραπεία.

Στην πλειοψηφία των ασθενών με διηθητικό καρκίνο και στους περισσότερους εκ των ασθενών με επιχώριες ή απομακρυσμένες μεταστάσεις δεν επιτυγχάνεται παράταση της ζωής.

Η συνήθης θεραπεία για το διηθητικό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστεως είναι η ριζική εκτομή της κύστεως και η εκτροπή των ούρων (urinary diversion).

Άλλες θεραπευτικές επιλογές περιλαμβάνουν τη διουρηθρική εκτομή (TUR) και την τμηματική εκτομή με ή χωρίς ακτινοβολία.

Στρατηγικές θεραπείας, με σκοπό τη διατήρηση του οργάνου, συνδυάζουν την χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία, οι οποίες μπορούν να εφαρμοσθούν σε επιλεγμένες περιπτώσεις και βρίσκονται σε ερευνητικό στάδιο.

Αυτές τις θεραπείες τις χρησιμοποιούμε με σκοπό τη διατήρηση της κύστεως και σε περιπτώσεις τοπικής υποτροπής.

Κλινικές μελέτες περιλαμβάνουν: μελέτες για τη χημειοπροφύλαξη των επιφανειακών όγκων, για την επικουρική χημειοθεραπεία σε προχωρημένη τοπική ή περιφερική νόσο, για τη διατήρηση της λειτουργικότητας της κύστεως με χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία και τέλος για την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών συστηματικών και παρηγορικών θεραπειών σε μεταστατικούς όγκους.

Πρωτοποριακές επανορθωτικές τεχνικές, οι οποίες βασίζονται σε σχηματισμό νέας κύστεως από λεπτό και παχύ έντερο, ελαχιστοποιούν την ανάγκη για εξωτερική παροχέτευση των ούρων σε μερικούς άνδρες ασθενείς και επιτρέπουν την αποβολή των ούρων μέσω της ουρήθρας.

Αυτές οι τεχνικές είναι προορισμένες να προάγουν την ποιότητα της ζωής των ασθενών που χρειάζονται κυστεκτομή [107, 120-128].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ

Πρόκειται για μελέτη ουροθηλιακών καρκινωμάτων ουροδόχου κύστεως που αντιμετωπίστηκαν και διαγνώσθηκαν στο Γενικό Νοσοκομείο Πατρών «Άγιος Ανδρέας» την επταετία 1998-2004. Η κυτταρολογική διάγνωση ετέθη στο Κυτταρολογικό Τμήμα σε υλικό ούρων, ενώ η ιστολογική διάγνωση ετέθη στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του ίδιου Νοσοκομείου.

Από τα αρχεία του Παθολογοανατομικού εργαστηρίου συγκεντρώθηκαν 100 συνολικά περιστατικά ουροθηλιακών καρκινωμάτων ουροδόχου κύστεως. Τα νεοπλάσματα αυτά ανακαλύφθηκαν με κυστεοσκόπηση και αφαιρέθηκαν διουρηθρικά. Από τους ασθενείς η μεγάλη πλειοψηφία 77% (η = 77) είναι άνδρες, ενώ οι γυναίκες αποτελούν το 13% (η=13). Η ηλικία των ασθενών κυμαίνεται από 49-92 έτη (μέση ηλικία 59 έτη). Σε ότι αφορά στο στάδιο της νόσου κατά τη στιγμή της διάγνωσης, 68 ήταν σταδίου I και 32 ήταν σταδίου II. Οι ασθενείς παρακολουθούντο από την ουρολογική κλινική και 20 από αυτούς εμφάνισαν τουλάχιστο μια υποτροπή μέσα στα επόμενα 2 χρόνια. Το υλικό από τις υποτροπές ανευρέθη επίσης στο παθολογοανατομικό εργαστήριο. Με βάση τα ονόματα των ασθενών ερευνήθηκαν τα αρχεία του κυτταρολογικού εργαστηρίου και για 60 από αυτούς βρέθηκαν οι αντίστοιχες κυτταρολογικές εξετάσεις ούρων.

Έγινε επανεκτίμηση όλων των ιστολογικών τομών με χρώση Αιματοξυλίνης - Ηωσίνης καθώς και των κυτταρολογικών επιχρισμάτων με χρώση Παπανικολάου και ταξινόμηση με βάση την τελευταία κατάταξη κατά WHO 2004. Σύμφωνα με αυτή 8 νεοπλάσματα ήταν *Grade I*, 43 *Grade II* και 49 *Grade III*. Από κάθε περιστατικό επελέγη μια αντιπροσωπευτική τομή με βάση την ποσότητα του υλικού και κόπηκαν παρασκευάσματα. Τα κυτταρολογικά παρασκευάσματα αποχρωματίστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν περαιτέρω για τον ανοσοϊστοχημικό έλεγχο.

Οι παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν φύλο, ηλικία, βαθμός πυρηνικής διαφοροποίησης (grade) και το στάδιο της νόσου (stage). Προς διευκόλυνση της στατιστικής ανάλυσης οι παράμετροι διχοτομήθηκαν.

Φύλο	Άρρεν	Θήλυ
Ηλικία	>65έτη	<65 έτη
Grade	υψηλό grade	χαμηλό grade
Stage	επιφανειακός (PTa - PT1)	διηθητικός (≥ PT2)

Οι προγνωστικές παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν:

- Επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (relapse-free survival),
- Ολική και Ειδική επιβίωση (overall and specific survival).

Τα κλινικά και ιστολογικά δεδομένα της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται στους ακόλουθους πίνακες.

A/A	ΑΡ. ΠΡ.	ΕΥΛΟ	ΗΛΙΚΙΑ	GRADE	ΔΙΗΘΗΣΗ	ΗΜΕΡ.
1	. 97- 1229	APPEN	63	2&3	-	09/05/97
2	. 99-1	ΘΗΛΥ	72	3	pt2	05/01/99
3	.04- 3868.	ΘΗΛΥ	62	3	pt2	09/12/99
4	.99- 3283	ΘΗΛΥ	82	3	pta	19/11/99
5	04-36	APPEN	78	3	pt2	18/11/99
6	.99- 3230	APPEN	53	2	pta	16/11/99
7	.99- 3072	APPEN	70	3	pt2	
8	98/186 0	APPEN	72	2	pta	21/07/98
	00- 1905	APPEN	74	2	pta	11/07/00
	4-21		77	3	pta	09/11/04
9	97- 1287	ΘΗΛΥ	82	1&2	pta	15/05/97
	99- 2893	ΘΗΛΥ	83	2	-	14/10/99
	00- 2453	ΘΗΛΥ	85	1&2	-	12/09/00
	.01- 3010	ΘΗΛΥ	86	1	-	20/09/01
10	99- 2712	ΘΗΛΥ	75	2	pta	
11	99- 2379	APPEN	86	3	pt1	30/08/99
12	99- 1074	ΘΗΛΥ	72	2	-	27/04/99
13	99-601	APPEN	82	2	-	08/03/99
14	99-382	APPEN	71	3	-	11/02/99
	00- 3540	APPEN	71	3	pt2	01/12/00
15	99-278	APPEN	76	3	-	02/02/99
16	99-277	APPEN	49	3	pt1	02/02/99
17	99-189	APPEN	78	3	-	25/01/99
18	99-154	ΘΗΛΥ	80	2	pta	21/01/99
19	.04- 3270	APPEN	64	3	pta	17/08/04
20	.97- 1571	APPEN	58	1&2	-	10/06/97
	99-44	APPEN	59	1&2	pta	11/01/98

21	00-360	APPEN	71	3	-	14/02/00
22	00-359	APPEN	58	3	pt2	14/02/00
23	00-358	APPEN	74	2&3	pt1	14/02/00
24	00-208	APPEN	74	2	pt1	31/01/00
	01-1377	APPEN	77	2	pta	30/04/01
25	00-261	APPEN	84	2		03/02/00
26	00-1137	APPEN	82	2&3	-	04/05/00
	00-2727	APPEN	82	2	pta	03/10/00
27	00-1410	APPEN	59	2	pta	30/05/00
28	00-2764	APPEN	81	2&3	pt1	05/10/00
	00-3	APPEN	80	2&3	pt2	04/01/00
	.01-4132	APPEN	82	2&3	pt2	17/12/01
	.03-2519	APPEN	84	3	pt3	15/07/03
29	00-3578	APPEN	54	2	pt1	5/12/00
30	.04-3552	APPEN	80	2&3	pt1	06/09/04
31	.98-2476	APPEN	85	3	-	11/09/98
	00-3745	APPEN	85	2&3	pta	18/12/00
32	.02-3297	ΘΗΛΥ	70	1	-	18/09/02
33	.00-3755	APPEN	58	3	-	19/12/00
34	01-191	APPEN	85	2	pt1	22/01/01
35	01-295	APPEN	86	3	pt1	01/02/01
36	01-352	APPEN	61	1&2	pta	06/02/01
37	.04-3136	APPEN	70	2	pt2	05/08/04
38	01-679	APPEN	56	2	-	05/03/01
39	01-1039	APPEN	85	2	pta	29/03/01
40	01-1097	APPEN	87	2	pta	02/04/01
41	.04-3613	APPEN	75	2	pt2	09/09/04

42	01-1104	APPEN	54	2	-	
43	01-1136	APPEN	93	2	pta	05/04/01
	00-2416	APPEN	93	2&3	pt1	07/09/00
44	01-1861	APPEN	75	3	pt1	05/06/01
	02-71	APPEN	75	3	pt2	13/12/02
45	01-1896	APPEN	68	2	pt1	06/06/01
46	.97-1664	ΘΗΛΥ	83	1	pta	19/06/97
	01-51	ΘΗΛΥ	83	3	pt1	12/06/01
47	.01-2023	APPEN	55	2	pta	18/06/01
48	.01-2179	APPEN	75	2&3	pta	28/06/01
49	00-3580	APPEN	75	2&3	pt1	05/12/00
	.01-2810	APPEN	77	2	pt2	04/09/01
	03-62	APPEN	78	2	pta	09/01/03
50	.01-2837	APPEN	62	2	-	06/09/01
51	.01-3265	APPEN	70	2	pta	09/10/01
52	.01-3583	APPEN	56	2	pta	02/11/01
53	.01-3589	APPEN	67	3	pt1	02/11/01
54	.04-2834	APPEN	63	3	pt1	13/07/04
55	.01-3940	APPEN	70	2	pt1	29/11/01
56	.01-3943	APPEN	54	2	pta	29/11/01
57	.02-492	APPEN	68	3	pt1	07/02/01
58	.02-1906	APPEN	77	2	pta	
59	.02-2131	APPEN	75	2	pt1	10/06/01
60	.02-3126	APPEN	74	1	-	05/09/02
61	.02-2845	APPEN	64	2	-	06/08/02
62	.04-	APPEN	80	3	pta	5/7/2004

	2721					
63	.02-3352	APPEN	71	2	pta	23/09/02
64	.02-3470	APPEN	66	2&3	pt1	01/10/02
65	.02-3172	APPEN	82	1	pta	09/09/02
66	.01-2083	APPEN	64	3	pt2	20/06/02
67	.01-3842	ΘΗΛΥ	72	2	pta	22/11/01
68	.01-1486	APPEN	73	3	pt2	07/05/01
69	.00-3352	APPEN	66	3	pt2	14/11/01
70	.04-4596	APPEN	70	3	pt1	11/08/03
71	.04-4576	APPEN	59	1	pta	11/11/04
72	.03-3000	APPEN	73	3	pt2	02/09/03
73	.01-2748	APPEN	78	3	pt2	28/8/01
	02-21	APPEN	80	3	pt2	24/10/02
74	.01-3845	APPEN	73	2	pta	22/11/01
75	.01-2927	APPEN		3	pta	13/09/01
76	.01-2928	APPEN	82	3	pt2	13/09/01
	03-599	APPEN	85	3	pt1	18/02/03
77	.01-2886	ΘΗΛΥ	62	3	pt2	10/09/01
78	.01-1940	APPEN	81	2	pt1	11/06/01
79	.01-2039	APPEN	65	3	pt1	19/06/01
80	.04-4251	APPEN	69	3	pt2	19/10/04
81	.01-1485	ΘΗΛΥ	72	3	pt2	04/05/01
82	.00-3704	APPEN	63	3	pt2	13/12/00
83	.00-2454	ΘΗΛΥ	85	2	pta	12/09/00
	2-39	ΘΗΛΥ	85	2	pta	25/11/02
84	.00-	APPEN	62	2&3	-	12/12/00

	3671					
85	.04-4063	APPEN	67	3	pt2	7/10104
86	.02-76	APPEN	65	3	pt2	10/01/02
87	.02-253	APPEN	78	2	pt1	22/01/02
88	.04-916	APPEN	80	3	pt1	
89	.02-248	APPEN	60	3	pt2	22/01/02
90	.00-1889	APPEN	56	1&2	pta	20/09/84
91	.02-3558	APPEN		2	pta	7/10102
92	.02-3781	APPEN	59	3	pt2	22/10102
93	.02-3823	ΘΗΛΥ	69	3	-	24/10102
94	.02-3780	APPEN	65	3	pt2	22/10102
95	.01-2133	APPEN	67	2	-	26/06/01
96	.04-668	APPEN	81	1	-	
97	.04-610	APPEN	70	3	pta	
98	.99-801	APPEN	61	1&2	-	29/03/99
	.04-1880	APPEN	67	1	pta	13/05/04
99	.04-1550	APPEN	70	3	-	22/04/04
100	.04-544	APPEN	48	3	pta	10/02/04

ΜΕΘΟΔΟΣ

1) Επιλογή αντισωμάτων

Τα πρωτογενή αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν, οι αραιώσεις τους και τα χαρακτηριστικά τους φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα.

<i>Αντίσωμα</i>	<i>Κλώνος</i>	<i>Αραίωση</i>	<i>Εταιρεία</i>
<i>P27</i>	1B4(IgG2a)	1:20	ΥLEM
<i>WAF-1</i> <i>(P21)</i>	4D10 (IgG1)	1:25	ΥLEM
<i>P63</i>	7JUL(IgG1)	1:25	ΥLEM
<i>P53</i>	DO-7(IgG2b)	1:50	ΥLEM
<i>Ki-67</i>	MIB-1	1:100	NOVOCASTRA
<i>c-myc</i>	9E11(IgG2a)	προαραιωμένο	ΥLEM

2) Ανοσοϊστοχημική μέθοδος

Εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημικής μεθόδου δύο σταδίων. Σύμφωνα με την τεχνική και αφού προηγήθηκε αποπαραφίνωση των ήδη θερμανθεισών τομών στον κλίβανο σε 37°C, η επώασή τους πραγματοποιήθηκε με τις ανοσοσφαιρίνες να δεσμεύονται σε ένα πολυμερές δεξτράνης σημασμένο με την υπεροξειδάση για χρονικό διάστημα 30-40 λεπτών και οπτικοποιήθηκε το αποτέλεσμα της σύνδεσης ενσταλλάσσοντας

στις τομές ως χρωμογόνο 3,3 - τετραϋδροχλωρική διαμινοβενζιδίνη (DAB) για χρονικό διάστημα 5 λεπτών. Η όλη διαδικασία, η οποία βασίζεται στην παράκαμψη της δέσμευσης με τη βιοτίνη αποδίδοντας καθαρότερο υπόστρωμα, πραγματοποιήθηκε με το αυτόματο μηχάνημα ανοσοϊστοχημείας Bond-X / vision Biosystems, Newcastle, UK).

Το Bond polymer Refine Detection είναι ένα σύστημα πολυμερών συζευγμένων μορίων συνδετικού αντισώματος - HRP (υπεροξειδάση χρένου), ελεύθερο βιοτίνης, για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων IgG ποντικίου και κουνελιού και ορισμένων αντισωμάτων IgM ποντικών, δεσμευμένων σε ιστό. Προορίζεται για τη χρώση τομών ιστού, οι οποίες έχουν μονιμοποιηθεί σε φορμόλη και εγκλειστεί σε παραφίνη, στο αυτοματοποιημένο σύστημα Bond.

Οι ανοσοϊστοχημικές τεχνικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να καταδείξουν την παρουσία αντιγόνων στους ιστούς και στα κύτταρα. Το Bond polymer Refine Detection χρησιμοποιεί μια νέα τεχνολογία ελεγχόμενου πολυμερισμού για την παραγωγή συζευγμένων μορίων συνδετικού αντισώματος - HRP. Το σύστημα ανίχνευσης αποφεύγει τη χρήση στρεπταβιδίνης και βιοτίνης και κατά συνέπεια, εξαλείφει τη μη ειδική χρώση λόγω της ενδογενούς βιοτίνης.

Το Bond polymer Refine Detection λειτουργεί ως εξής: αφού το δείγμα επωασθεί με υπεροξειδίο υδρογόνου για την καταστολή της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης τοποθετείται ένα ειδικό πρωτογενές αντίσωμα που παρέχεται από τον χρήστη. Ένα διάλυμα ενίσχυσης του πρωτογενούς αντισώματος βελτιώνει την διείσδυση του αντιδραστήριου πολυμερούς που ακολουθεί. Ένα αντιδραστήριο πολυμερούς HRPI αντισώματος έναντι της IgG ποντικίου/κουνελιού εντοπίζει το πρωτογενές αντίσωμα. Το χρωμογόνο υπόστρωμα, η 3,3' - διαμινοβενζιδίνη (DAB) καθιστά το σύμπλεγμα ορατό μέσω του σχηματισμού καφέ ιζήματος. Η

αντίχρωση με αιματοξυλίνη (μπλε) επιτρέπει την παρατήρηση των κυτταρικών πυρήνων. Η χρήση του Bond polymer Refine Detection, σε συνδυασμό με το U945 αυτοματοποιημένο σύστημα Bond, μειώνει την πιθανότητα ανθρώπινου σφάλματος και την εγγενή διακύμανση εξαιτίας της αραίωσης των διαφόρων αντιδραστηρίων και της μη αυτόματης αναρρόφησης και τοποθέτησης των αντιδραστηρίων.

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των p27, K167, c-myc, p53, p63 και p21/WAF1 εκτιμήθηκε ποιοτικά και ποσοτικά με την αξιολόγηση τουλάχιστον 500 καρκινικών κυττάρων σε τυχαία επιλεγμένα οπτικά πεδία. Το σύστημα βαθμονόμησης και ο καθορισμός ενός ορίου (cut-off point) θετικότητας εφαρμόστηκε για κάθε αντίσωμα με βάση αποδεκτά πρωτόκολλα προηγούμενων μελετών [71,98,100,106,177,201].

Για όλες τις ανοσοχρώσεις χρησιμοποιήθηκαν γνωστοί θετικοί μάρτυρες, ενώ παράλληλα με κάθε σειρά πλακιδίων, υπήρχε και αρνητικός μάρτυρας, όπου το πρωτογενές αντίσωμα αντικαθίστατο από PBS.

Όλα τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν εμφάνισαν εντόπιση της χρώσης στον πυρήνα των κυττάρων.

3) Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση κινήθηκε σε τρία επίπεδα:

- (α) Έλεγχος βαθμού ανεξαρτησίας κατηγορικών παραμέτρων,
- (β) Μονοπαραγοντική, και
- (γ) Πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων βασίσθηκε σε πίνακες διπλής εισόδου αξιολογούμενους από τη χ^2 δοκιμασία (Chi-square test). Ερευνήθηκε η στατιστική σημαντικότητα των σχέσεων (ζεύγη δύο μεταβλητών) ανάμεσα στις παραμέτρους ηλικία, φύλο, μέγεθος όγκου, βαθμός διαφοροποίησης και στάδιο

με τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του κάθε αντισώματος.

Στατιστικό μοντέλο: Μετά από την κατασκευή του πίνακα συνάφειας, που μας δίνει μία συνοπτική περιγραφή της κοινής κατανομής των δύο ποιοτικών μεταβλητών, αυτό που πρέπει να εξεταστεί είναι αν οι δύο μεταβλητές είναι ανεξάρτητες. Υποθέτουμε ότι οι δύο μεταβλητές του δείγματος προέρχονται από δύο ποιοτικά χαρακτηριστικά A και B του αρχικού πληθυσμού και μας ενδιαφέρει να ελέγξουμε την υπόθεση της ανεξαρτησίας:

H_0 : Τα χαρακτηριστικά A και B είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους με εναλλακτική την

H_a : Τα χαρακτηριστικά A και B είναι εξαρτημένα.

Για τον έλεγχο και των δύο αυτών υποθέσεων υπολογίζεται το στατιστικό χ^2 του Pearson. Για τον υπολογισμό του εκτιμώνται πρώτα οι λεγόμενες αναμενόμενες συχνότητες (*expected frequencies*) των κελιών (οι συχνότητες δηλαδή που θα είχαμε αν τα χαρακτηριστικά ήταν πραγματικά ανεξάρτητα). Το στατιστικό χ^2 είναι ουσιαστικά ένα μέτρο της απόστασης των αναμενόμενων συχνοτήτων από τις πραγματικές συχνότητες.

Μία άλλη παράμετρος που πρέπει να υπολογιστεί είναι οι βαθμοί ελευθερίας (*degrees of freedom*). Αν έχουμε στον πίνακα συνάφειας R γραμμές και C στήλες, οι βαθμοί ελευθερίας είναι $(R-1)(C-1)$. Η παράμετρος αυτή προσδιορίζει τη θεωρητική κατανομή χ^2 που ακολουθεί το στατιστικό χ^2 . Με αυτά τα δεδομένα υπολογίζεται κατόπιν (με προσεγγιστικές μεθόδους) η σημαντικότητα του ελέγχου, που ουσιαστικά είναι η πιθανότητα λάθους όταν απορρίπτουμε τη μηδενική υπόθεση. Η σημαντικότητα αυτή πρέπει να είναι αρκετά μικρή, ώστε η απόρριψη της μηδενικής απόφασης να είναι ασφαλής. Ένα γενικά αποδεκτό όριο σφάλματος για την απόρριψη της H_0 είναι το 0.05. Αποφασίζουμε λοιπόν να απορρίπτουμε την H_0 όταν η

σημαντικότητα είναι μικρότερη από 0.05. Ένα σημείο που πρέπει να προσέξουμε στον έλεγχο, είναι το ποσοστό των κελιών με αναμενόμενη συχνότητα μικρότερη του 5. Αν το ποσοστό αυτό ξεπερνά το 20%, τότε ο έλεγχος που έχουμε εφαρμόσει δεν είναι αξιόπιστος και πρέπει να προχωρήσουμε σε σύμπτυξη κατηγοριών της μίας τουλάχιστο μεταβλητής και να επαναλάβουμε τον έλεγχο.

Οι μονοπαραγοντικές αναλύσεις επιβίωσης αφορούν την αξιολόγηση με τη δοκιμασία log-rank των καμπύλων επιβίωσης μεταξύ των διαφόρων ομάδων. Η γραφική τους απεικόνιση έγινε με βάση τη μέθοδο Kaplan-Meier. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε το μοντέλο αναλογικού κινδύνου κατά Cox (πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης), προκειμένου να αξιολογηθεί η ανεξαρτησία των προγνωστικών παραγόντων. Σε αυτό το μοντέλο το κριτήριο εισόδου για κάθε προγνωστική παράμετρο ήταν να εμφανίζει στατιστική σημαντικότητα <0,10 στην μονοπαραγοντική ανάλυση. Όλοι οι έλεγχοι ήταν αμφίπλευροι και το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε στο 5%. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος SPSS 11.0 (SPSS Inc, Chicago, USA).

4) Αποτελέσματα

ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΑΘΜΟΥ ΑΝΕΞΑΡΤΗΣΙΑΣ

P53 * ΦΥΛΟ

Ο συσχετισμός ανάμεσα στην ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης P53 και τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους παρουσιάζεται στους ακόλουθους πίνακες. Περιληπτικά στους ίδιους πίνακες παρατίθεται και ο έλεγχος ανεξαρτησίας χ^2 των μελετώμενων παραμέτρων. Με βάση την αποδοχή του ποσοστού 10% ως όριο πάνω από το οποίο η έκφραση της πρωτεΐνης P53 θεωρείται θετική, βρήκαμε θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 26% (26/100). Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης P53 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων εκτός του σταδίου, όπου η Chi-square δοκιμασία ανέδειξε στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και του σταδίου P= 0,037.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		P53 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	58	21	79
	ΘΗΛΥ	16	5	21
	ΣΥΝΟΛΟ	74	26	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,066 ^a	1	,797		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,067	1	,795		
Fisher's Exact Test				1,000	,520
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,46.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P53 * ΗΛΙΚΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		P53 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	<65	27	9	36
	>65	47	17	64
	ΣΥΝΟΛΟ	74	26	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,029 ^a	1	,864		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,029	1	,864		
Fisher's Exact Test				1,000	,531
N of Valid Cases ^b	100				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,36.

b. Computed only for a 2x2 table

P53 * GRADE

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		P53 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
GRADE	HIGH	56	23	79
	LOW	18	3	21
	ΣΥΝΟΛΟ	74	26	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,896 ^a	1	,169		
Continuity Correction ^b	1,204	1	,273		
Likelihood Ratio	2,086	1	,149		
Fisher's Exact Test				,263	,135
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,46.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P53 * ΣΤΑΔΙΟ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		P53 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΤΑΔΙΟ	ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ	18	12	30
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΣ	56	14	70
	ΣΥΝΟΛΟ	74	26	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,366 ^a	1	,037		
Continuity Correction ^b	3,388	1	,066		
Likelihood Ratio	4,174	1	,041		
Fisher's Exact Test				,048	,035
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,80.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P53 * ΥΠΟΤΡΟΠΗ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		P53 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΥΠΟΤΡΟΠΗ	ΝΑΙ	19	4	23
	ΟΧΙ	55	22	77
	ΣΥΝΟΛΟ	74	26	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,151 ^a	1	,283		
Continuity Correction ^b	,643	1	,423		
Likelihood Ratio	1,224	1	,269		
Fisher's Exact Test				,417	,214
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,98.					
b. Computed only for a 2x2 table					

C-MYC * ΦΥΛΟ

Έλεγχος βαθμού ανεξαρτησίας (Chi-square test) της πυρηνικής έκφρασης του αντισώματος c-myc με τις παραμέτρους: φύλο, ηλικία, μέγεθος όγκου, βαθμός διαφοροποίησης (grade), στάδιο (stage), υποτροπή. Θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 75% (75/100). Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης c-myc και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		C-MYC ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	17	62	79
	ΘΥΛΗ	8	13	21
	ΣΥΝΟΛΟ	25	75	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,431 ^a	1	,119		
Continuity Correction ^b	1,627	1	,202		
Likelihood Ratio	2,278	1	,131		
Fisher's Exact Test				,156	,103
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,25.					
b. Computed only for a 2x2 table					

C-MYC * ΗΛΙΚΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		C-MYC ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ			
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ	
ΗΛΙΚΙΑ	<65	10	26	36	
	>65	15	49	64	
	ΣΥΝΟΛΟ	25	75	100	
Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,231 ^a	1	,630		
Continuity Correction ^b	,058	1	,810		
Likelihood Ratio	,229	1	,632		
Fisher's Exact Test				,638	,401
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,00.					
b. Computed only for a 2x2 table					

C-MYC * GRADE

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		C-MYC ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
GRADE	HIGH	18	61	79
	LOW	7	14	21
	ΣΥΝΟΛΟ	25	75	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,985 ^a	1	,321		
Continuity Correction ^b	,502	1	,478		
Likelihood Ratio	,941	1	,332		
Fisher's Exact Test				,396	,235
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,25.					
b. Computed only for a 2x2 table					

C-ΜΥC * ΣΤΑΔΙΟ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		C-ΜΥC ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΤΑΔΙΟ	ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ	9	21	30
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΣ	16	54	70
	ΣΥΝΟΛΟ	25	75	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,571 ^a	1	,450		
Continuity Correction ^b	,254	1	,614		
Likelihood Ratio	,559	1	,455		
Fisher's Exact Test				,460	,303
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,50.					
b. Computed only for a 2x2 table					

C-ΜΥC * ΥΠΟΤΡΟΠΗ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		C-ΜΥC ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΥΠΟΤΡΟΠΗ	ΝΑΙ	7	16	23
	ΟΧΙ	18	59	77
	ΣΥΝΟΛΟ	25	75	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,471 ^a	1	,493		
Continuity Correction ^b	,169	1	,681		
Likelihood Ratio	,457	1	,499		
Fisher's Exact Test				,584	,333
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,75.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p27 kip1 * ΦΥΛΟ

Έλεγχος βαθμού ανεξαρτησίας (Chi-square test) της πυρηνικής έκφρασης του αντισώματος p27 kip1 με τις παραμέτρους: φύλο, ηλικία, μέγεθος όγκου, βαθμός διαφοροποίησης (grade), στάδιο (stage), υποτροπή. Θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 12% (12/100). Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης p27 kip1 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων, εκτός του φύλου, όπου η Chi-square δοκιμασία ανέδειξε στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και του θήλυ φύλου P= 0,009.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p27 kip1 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	73	6	79
	ΘΗΛΥ	15	6	21
	ΣΥΝΟΛΟ	88	12	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	6,913 ^a	1	,009		
Continuity Correction ^b	5,069	1	,024		
Likelihood Ratio	5,793	1	,016		
Fisher's Exact Test				,017	,017
N of Valid Cases ^b	100				
a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,52.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p27 kip1 * ΗΛΙΚΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p27 kip1 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	<65	34	2	36
	>65	54	10	64
	ΣΥΝΟΛΟ	88	12	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,212 ^a	1	,137		
Continuity Correction ^b	1,361	1	,243		
Likelihood Ratio	2,462	1	,117		
Fisher's Exact Test				,203	,119
N of Valid Cases ^b	100				
a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,32.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p27 kip1 * GRADE

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p27 kip1 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
GRADE	HIGH	71	8	79
	LOW	17	4	21
	ΣΥΝΟΛΟ	88	12	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,250 ^a	1	,263		
Continuity Correction ^b	,548	1	,459		
Likelihood Ratio	1,134	1	,287		
Fisher's Exact Test				,271	,222
N of Valid Cases ^b	100				
a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,52.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p27 kip1 * ΣΤΑΔΙΟ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p27 kip1 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΤΑΔΙΟ	ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ	26	4	30
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΣ	62	8	70
	ΣΥΝΟΛΟ	88	12	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,072 ^a	1	,788		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,071	1	,790		
Fisher's Exact Test				,749	,512
N of Valid Cases ^b	100				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,52.

b. Computed only for a 2x2 table.

p27 kip1 * ΥΠΟΤΡΟΠΗ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p27 kip1 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΥΠΟΤΡΟΠΗ	ΝΑΙ	21	2	23
	ΟΧΙ	67	10	77
	ΣΥΝΟΛΟ	88	12	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,309 ^a	1	,578		
Continuity Correction ^b	,036	1	,849		
Likelihood Ratio	,329	1	,566		
Fisher's Exact Test				,728	,446
N of Valid Cases ^b	100				
a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,76.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p21waf/cip * ΦΥΛΟ

Έλεγχος βαθμού ανεξαρτησίας (Chi-square test) της πυρηνικής έκφρασης του αντισώματος p21waf/cip με τις παραμέτρους: φύλο, ηλικία, μέγεθος όγκου, βαθμός διαφοροποίησης (grade), στάδιο (stage), υποτροπή. Θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 25% (25/100). Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης p21waf/cip και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p21waf/cip ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	59	20	79
	ΘΗΛΥ	16	5	21
	ΣΥΝΟΛΟ	75	25	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,020 ^a	1	,887		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,020	1	,887		
Fisher's Exact Test				1,000	,567
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,25.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p21waf/cip * ΗΛΙΚΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p21waf/cip ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	<65	25	11	36
	>65	50	14	64
	ΣΥΝΟΛΟ	75	25	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,926 ^a	1	,336		
Continuity Correction ^b	,521	1	,470		
Likelihood Ratio	,910	1	,340		
Fisher's Exact Test				,347	,234
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,00.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p21waf/cip * GRADE

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p21waf/cip ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
GRADE	HIGH	60	19	79
	LOW	15	6	21
	ΣΥΝΟΛΟ	75	25	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,181 ^a	1	,671		
Continuity Correction ^b	,020	1	,887		
Likelihood Ratio	,177	1	,674		
Fisher's Exact Test				,778	,433
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,25.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p21waf/cip * ΣΤΑΔΙΟ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p21waf/cip ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΤΑΔΙΟ	ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ	24	6	30
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΣ	51	19	70
	ΣΥΝΟΛΟ	75	25	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,571 ^a	1	,450		
Continuity Correction ^b	,254	1	,614		
Likelihood Ratio	,588	1	,443		
Fisher's Exact Test				,615	,312
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,50.					
b. Computed only for a 2x2 table					

p21waf/cip * ΥΠΟΤΡΟΠΗ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p21waf/cip ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΥΠΟΤΡΟΠΗ	ΝΑΙ	16	7	23
	ΟΧΙ	59	18	77
	ΣΥΝΟΛΟ	75	25	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,471 ^a	1	,493		
Continuity Correction ^b	,169	1	,681		
Likelihood Ratio	,457	1	,499		
Fisher's Exact Test				,584	,333
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,75.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P63 * ΦΥΛΟ

Ο συσχετισμός ανάμεσα στην ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης P63 και τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους παρουσιάζεται στους ακόλουθους πίνακες. Περιληπτικά στους ίδιους πίνακες παρατίθεται και ο έλεγχος ανεξαρτησίας χ^2 των μελετώμενων παραμέτρων. Με βάση την αποδοχή του ποσοστού 10% ως όριο πάνω από το οποίο η έκφραση της πρωτεΐνης P63 θεωρείται θετική, βρήκαμε θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 41% (41/100). Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης P63 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων εκτός της υποτροπής, όπου η Chi-square δοκιμασία ανέδειξε ισχυρή στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και της υποτροπής $P=0,007$.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p63 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	47	32	79
	ΘΗΛΥ	12	9	21
	ΣΥΝΟΛΟ	59	41	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,038 ^a	1	,846		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,038	1	,846		
Fisher's Exact Test				1,000	,518
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,61.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P63 * ΗΛΙΚΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p63 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	<65	21	15	36
	>65	38	26	64
	ΣΥΝΟΛΟ	59	41	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,010 ^a	1	,919		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,010	1	,919		
Fisher's Exact Test				1,000	,542
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 14,76.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P63 * GRADE

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p63 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
GRADE	HIGH	50	29	79
	LOW	9	12	21
	ΣΥΝΟΛΟ	59	41	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,864 ^a	1	,091		
Continuity Correction ^b	2,081	1	,149		
Likelihood Ratio	2,822	1	,093		
Fisher's Exact Test				,133	,075
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,61.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P63 * ΣΤΑΔΙΟ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p63 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΤΑΔΙΟ	ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ	20	10	30
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΣ	39	31	70
	ΣΥΝΟΛΟ	59	41	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,041 ^a	1	,308		
Continuity Correction ^b	,638	1	,425		
Likelihood Ratio	1,057	1	,304		
Fisher's Exact Test				,377	,213
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,30.					
b. Computed only for a 2x2 table					

P63 * ΥΠΟΤΡΟΠΗ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		p63 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΥΠΟΤΡΟΠΗ	ΝΑΙ	8	15	23
	ΟΧΙ	51	26	77
	ΣΥΝΟΛΟ	59	41	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7,242 ^a	1	,007		
Continuity Correction ^b	6,000	1	,014		
Likelihood Ratio	7,173	1	,007		
Fisher's Exact Test				,009	,007
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,43.					
b. Computed only for a 2x2 table					

Ki-67 * ΦΥΛΟ

Έλεγχος βαθμού ανεξαρτησίας (Chi-square test) της πυρηνικής έκφρασης του αντισώματος Ki-67 με τις παραμέτρους: φύλο, ηλικία, μέγεθος όγκου, βαθμός διαφοροποίησης (grade), στάδιο (stage), υποτροπή. Θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 57% (57/100). Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης Ki-67 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων, εκτός του βαθμού διαφοροποίησης (grade), όπου η Chi-square δοκιμασία ανέδειξε στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και του υψηλού grade $P= 0,003$.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		Ki-67 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	35	44	79
	ΘΗΛΥ	8	13	21
	ΣΥΝΟΛΟ	43	57	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,261 ^a	1	,609		
Continuity Correction ^b	,069	1	,793		
Likelihood Ratio	,263	1	,608		
Fisher's Exact Test				,805	,399
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,03.					
b. Computed only for a 2x2 table					

Ki-67 * ΗΛΙΚΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		Ki-67 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΗΛΙΚΙΑ	<65	17	19	36
	>65	26	38	64
	ΣΥΝΟΛΟ	43	57	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,409 ^a	1	,522		
Continuity Correction ^b	,184	1	,668		
Likelihood Ratio	,408	1	,523		
Fisher's Exact Test				,536	,333
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 15,48.					
b. Computed only for a 2x2 table					

Ki-67 * GRADE

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		Ki-67 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
GRADE	HIGH	28	51	79
	LOW	15	6	21
	ΣΥΝΟΛΟ	43	57	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	8,765 ^a	1	,003		
Continuity Correction ^b	7,358	1	,007		
Likelihood Ratio	8,813	1	,003		
Fisher's Exact Test				,006	,003
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,03.					
b. Computed only for a 2x2 table					

Ki-67 * ΣΤΑΔΙΟ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		Ki-67 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΤΑΔΙΟ	ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ	10	20	30
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΣ	33	37	70
	ΣΥΝΟΛΟ	43	57	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,634 ^a	1	,201		
Continuity Correction ^b	1,119	1	,290		
Likelihood Ratio	1,660	1	,198		
Fisher's Exact Test				,271	,145
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,90.					
b. Computed only for a 2x2 table					

Ki-67 * ΥΠΟΤΡΟΠΗ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ		Ki-67 ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ		
		ΑΡΝΗΤΙΚΗ	ΘΕΤΙΚΗ	ΣΥΝΟΛΟ
ΥΠΟΤΡΟΠΗ	ΝΑΙ	9	14	23
	ΟΧΙ	34	43	77
	ΣΥΝΟΛΟ	43	57	100

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,182 ^a	1	,669		
Continuity Correction ^b	,035	1	,852		
Likelihood Ratio	,184	1	,668		
Fisher's Exact Test				,811	,428
N of Valid Cases ^b	100				
a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,89.					
b. Computed only for a 2x2 table					

ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ (ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΚΑΡΛΑΝ - ΜΕΙΕΡ)

Οι μονοπαραγοντικές αναλύσεις επιβίωσης αφορούν την αξιολόγηση με τη δοκιμασία log-rank των καμπύλων επιβίωσης μεταξύ των διαφόρων ομάδων. Η γραφική τους απεικόνιση έγινε με βάση τη μέθοδο Kaplan-Meier. Οι καμπύλες Kaplan Meier δεν κατέδειξαν στατιστική συσχέτιση της πυρηνικής χρώσης του P53 με αυξημένη υποτροπή της νόσου ($P=0,811$), ούτε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης του c-myc με την υποτροπή ($P=0,580$). Επιπλέον η ταυτόχρονη θετικότητα των δύο αντισωμάτων δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική με την υποτροπή ($P=0,765$).

Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan Meier έδειξαν ισχυρή στατιστική συσχέτιση της θετικής έκφρασης του P63 με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής της νόσου ($P=0,001$).

Case Processing Summary (C-MYC)

C-MYC			CENSORED	
	TOTAL NUMBER	NUMBER OF EVENTS	NUMBER	PERCENT
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	25	18	7	28,0%
ΘΕΤΙΚΟ	75	59	16	21,3%
ΣΥΝΟΛΟ	100	77	23	23,0%

Πίνακας Επιβίωσης

C-MYC			Cumulative Proportion Surviving at the Time		N of Cumulative Events	N of Remaining Cases	
	Time	Status	Estimate	Std. Error			
APNHTIKO	1	26,000	OXI	,952	,046	1	20
	2	28,000	OXI	,905	,064	2	19
	3	32,000	NAI	.	.	2	18
	4	33,000	OXI	.	.	3	17
	5	33,000	OXI	,804	,088	4	16
	6	38,000	OXI	,754	,096	5	15
	7	39,000	OXI	,704	,102	6	14
	8	42,000	OXI	,653	,106	7	13
	9	43,000	OXI	,603	,109	8	12
	10	44,000	OXI	,553	,111	9	11
	11	44,000	NAI	.	.	9	10
	12	48,000	OXI	.	.	10	9
	13	48,000	OXI	.	.	11	8
	14	48,000	OXI	,387	,112	12	7
	15	49,000	OXI	,332	,109	13	6
	16	50,000	OXI	,276	,104	14	5
	17	55,000	OXI	,221	,096	15	4
	18	58,000	NAI	.	.	15	3
	19	65,000	OXI	,147	,088	16	2

	20	66,000	OXI	,074	,068	17	1
	21	77,000	OXI	,000	,000	18	0
ΘΕΤΙΚΟ	1	25,000	OXI	,985	,015	1	64
	2	27,000	NAI	.	.	1	63
	3	30,000	OXI	,969	,022	2	62
	4	31,000	NAI	.	.	2	61
	5	31,000	NAI	.	.	2	60
	6	32,000	OXI	,953	,027	3	59
	7	33,000	OXI	,937	,031	4	58
	8	35,000	OXI	.	.	5	57
	9	35,000	OXI	,904	,037	6	56
	10	37,000	OXI	.	.	7	55
	11	37,000	OXI	,872	,042	8	54
	12	38,000	OXI	.	.	9	53
	13	38,000	OXI	,840	,046	10	52
	14	39,000	OXI	,824	,048	11	51
	15	40,000	OXI	,807	,050	12	50
	16	41,000	OXI	,791	,052	13	49
	17	44,000	OXI	.	.	14	48
	18	44,000	OXI	,759	,054	15	47
	19	45,000	OXI	.	.	16	46
	20	45,000	OXI	,727	,057	17	45
	21	46,000	OXI	,711	,058	18	44
	22	48,000	OXI	.	.	19	43
	23	48,000	OXI	.	.	20	42
	24	48,000	OXI	.	.	21	41
	25	48,000	OXI	.	.	22	40
	26	48,000	OXI	.	.	23	39

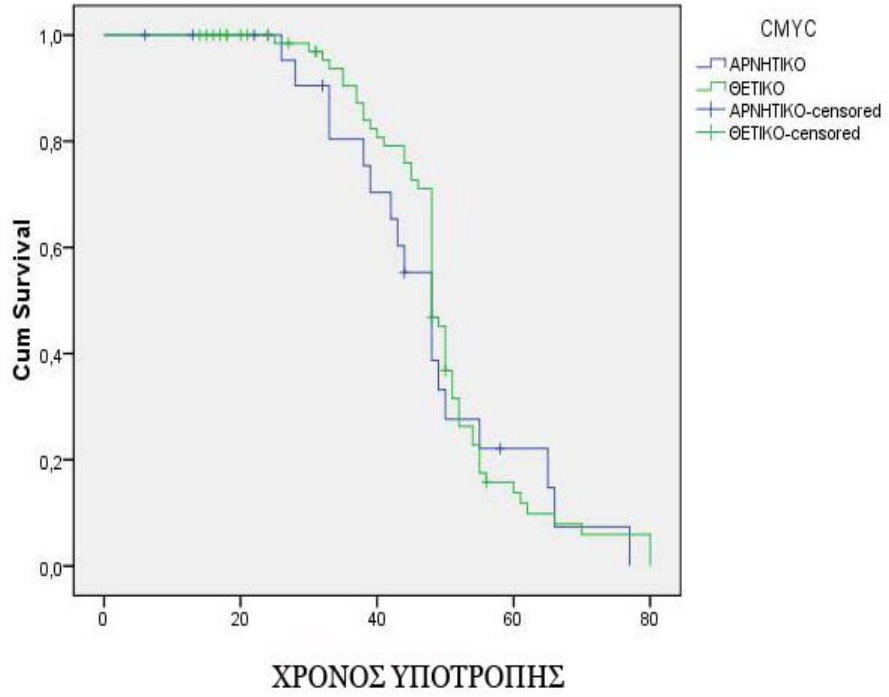
27	48,000	OXI	.	.	24	38
28	48,000	OXI	.	.	25	37
29	48,000	OXI	.	.	26	36
30	48,000	OXI	.	.	27	35
31	48,000	OXI	.	.	28	34
32	48,000	OXI	.	.	29	33
33	48,000	OXI	.	.	30	32
34	48,000	OXI	.	.	31	31
35	48,000	OXI	.	.	32	30
36	48,000	OXI	,468	,063	33	29
37	48,000	NAI	.	.	33	28
38	49,000	OXI	,452	,063	34	27
39	50,000	OXI	.	.	35	26
40	50,000	OXI	.	.	36	25
41	50,000	OXI	.	.	37	24
42	50,000	OXI	.	.	38	23
43	50,000	OXI	,368	,062	39	22
44	50,000	NAI	.	.	39	21
45	51,000	OXI	.	.	40	20
46	51,000	OXI	.	.	41	19
47	51,000	OXI	,315	,060	42	18
48	52,000	OXI	.	.	43	17
49	52,000	OXI	.	.	44	16
50	52,000	OXI	,263	,057	45	15
51	54,000	OXI	.	.	46	14
52	54,000	OXI	,228	,055	47	13
53	55,000	OXI	.	.	48	12
54	55,000	OXI	.	.	49	11

55	55,000	OXI	,175	,050	50	10
56	56,000	OXI	,158	,048	51	9
57	56,000	NAI	.	.	51	8
58	60,000	OXI	,138	,046	52	7
59	61,000	OXI	,118	,043	53	6
60	62,000	OXI	,099	,040	54	5
61	66,000	OXI	,079	,037	55	4
62	70,000	OXI	,059	,032	56	3
63	80,000	OXI	.	.	57	2
64	80,000	OXI	.	.	58	1
65	80,000	OXI	,000	,000	59	0

Overall Comparisons (C-MYC)			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,305	1	,580

Test of equality of survival distributions for the different levels of C-MYC.

RELAPSE FREE SURVIVAL



Case Processing Summary (P53)

P53			CENSORED	
	TOTAL NUMBER	NUMBER OF EVENTS	NUMBER	PERCENT
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	74	55	19	25,7%
ΘΕΤΙΚΟ	26	22	4	15,4%
ΣΥΝΟΛΟ	100	77	23	23,0%

Πίνακας Επιβίωσης

P53			Cumulative Proportion Surviving at the Time				
	Time	Status	Estimate	Std. Error	N of Cumulative Events	N of Remaining Cases	
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	1	25,000	OXI	,984	,016	1	62
	2	27,000	NAI	.	.	1	61
	3	28,000	OXI	,968	,022	2	60
	4	30,000	OXI	,952	,027	3	59
	5	31,000	NAI	.	.	3	58
	6	31,000	NAI	.	.	3	57
	7	32,000	OXI	,935	,031	4	56
	8	32,000	NAI	.	.	4	55
	9	33,000	OXI	.	.	5	54
	10	33,000	OXI	,901	,038	6	53
	11	35,000	OXI	,884	,041	7	52
	12	37,000	OXI	.	.	8	51
	13	37,000	OXI	,850	,046	9	50
	14	38,000	OXI	.	.	10	49
	15	38,000	OXI	,816	,050	11	48
	16	39,000	OXI	.	.	12	47
	17	39,000	OXI	,782	,054	13	46
	18	40,000	OXI	,765	,055	14	45

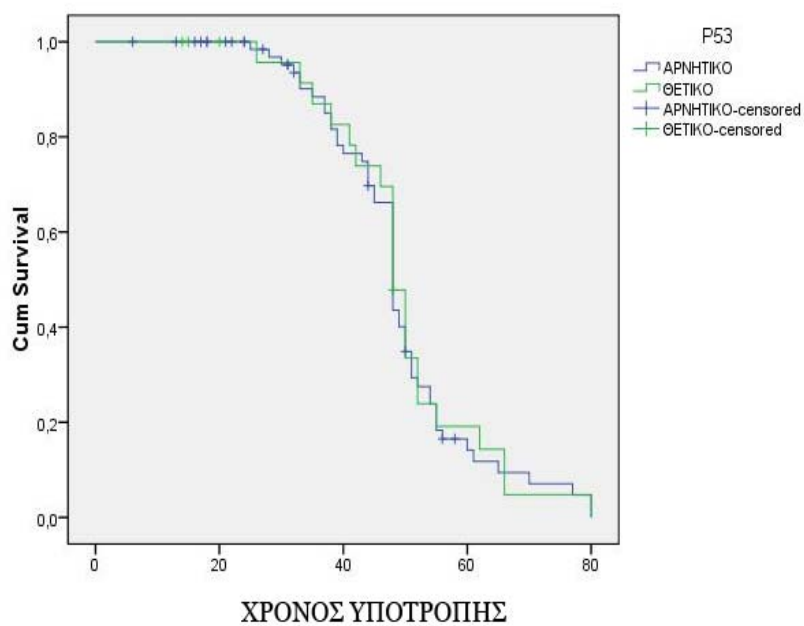
19	43,000	OXI	,748	,056	15	44
20	44,000	OXI	.	.	16	43
21	44,000	OXI	.	.	17	42
22	44,000	OXI	,697	,060	18	41
23	44,000	NAI	.	.	18	40
24	45,000	OXI	.	.	19	39
25	45,000	OXI	,662	,062	20	38
26	48,000	OXI	.	.	21	37
27	48,000	OXI	.	.	22	36
28	48,000	OXI	.	.	23	35
29	48,000	OXI	.	.	24	34
30	48,000	OXI	.	.	25	33
31	48,000	OXI	.	.	26	32
32	48,000	OXI	.	.	27	31
33	48,000	OXI	.	.	28	30
34	48,000	OXI	.	.	29	29
35	48,000	OXI	.	.	30	28
36	48,000	OXI	.	.	31	27
37	48,000	OXI	.	.	32	26
38	48,000	OXI	,436	,065	33	25
39	49,000	OXI	.	.	34	24
40	49,000	OXI	,401	,064	35	23
41	50,000	OXI	.	.	36	22
42	50,000	OXI	.	.	37	21
43	50,000	OXI	,349	,063	38	20
44	50,000	NAI	.	.	38	19

	45	51,000	OXI	.	.	39	18
	46	51,000	OXI	.	.	40	17
	47	51,000	OXI	,294	,060	41	16
	48	52,000	OXI	,275	,059	42	15
	49	54,000	OXI	.	.	43	14
	50	54,000	OXI	,238	,057	44	13
	51	55,000	OXI	.	.	45	12
	52	55,000	OXI	.	.	46	11
	53	55,000	OXI	,183	,052	47	10
	54	56,000	OXI	,165	,050	48	9
	55	56,000	NAI	.	.	48	8
	56	58,000	NAI	.	.	48	7
	57	60,000	OXI	,142	,048	49	6
	58	61,000	OXI	,118	,045	50	5
	59	65,000	OXI	,094	,042	51	4
	60	70,000	OXI	,071	,038	52	3
	61	77,000	OXI	,047	,032	53	2
	62	80,000	OXI	.	.	54	1
	63	80,000	OXI	,000	,000	55	0
ΘΕΤΙΚΟ	1	26,000	OXI	,957	,043	1	22
	2	33,000	OXI	,913	,059	2	21
	3	35,000	OXI	,870	,070	3	20
	4	38,000	OXI	,826	,079	4	19
	5	41,000	OXI	,783	,086	5	18
	6	42,000	OXI	,739	,092	6	17
	7	46,000	OXI	,696	,096	7	16

8	48,000	OXI	.	.	8	15
9	48,000	OXI	.	.	9	14
10	48,000	OXI	.	.	10	13
11	48,000	OXI	.	.	11	12
12	48,000	OXI	,478	,104	12	11
13	48,000	NAI	.	.	12	10
14	50,000	OXI	.	.	13	9
15	50,000	OXI	.	.	14	8
16	50,000	OXI	,335	,101	15	7
17	52,000	OXI	.	.	16	6
18	52,000	OXI	,239	,092	17	5
19	55,000	OXI	,191	,085	18	4
20	62,000	OXI	,143	,076	19	3
21	66,000	OXI	.	.	20	2
22	66,000	OXI	,048	,047	21	1
23	80,000	OXI	,000	,000	22	0

Overall Comparisons (P53)			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel- Cox)	,057	1	,811
Test of equality of survival distributions for the different levels of P53.			

RELAPSE FREE SURVIVAL



Case Processing Summary (C-MYC - P53)

C-MYC - P53			CENSORED	
	TOTAL NUMBER	NUMBER OF EVENTS	NUMBER	PERCENT
ΑΛΛΟ	61	48	13	21,3%
ΑΡΝΗΤΙΚΑ	18	12	6	33,3%
ΘΕΤΙΚΑ	21	17	4	19,0%
ΣΥΝΟΛΟ	100	77	23	23,0%

Πίνακας Επιβίωσης

C-MYC - P53				Cumulative Proportion Surviving at the Time			
		Time	Status	Estimate	Std. Error	N of Cumulative Events	N of Remaining Cases
ΑΛΛΟ	1	25,000	OXI	,981	,018	1	53
	2	26,000	OXI	,963	,026	2	52
	3	27,000	NAI	.	.	2	51
	4	30,000	OXI	,944	,031	3	50
	5	31,000	NAI	.	.	3	49
	6	31,000	NAI	.	.	3	48
	7	32,000	OXI	,924	,036	4	47
	8	33,000	OXI	.	.	5	46
	9	33,000	OXI	,885	,044	6	45
	10	35,000	OXI	,865	,047	7	44
	11	37,000	OXI	.	.	8	43
	12	37,000	OXI	,826	,053	9	42
	13	38,000	OXI	,806	,055	10	41
	14	39,000	OXI	,787	,057	11	40
	15	40,000	OXI	,767	,059	12	39
	16	42,000	OXI	,747	,061	13	38
	17	43,000	OXI	,728	,062	14	37

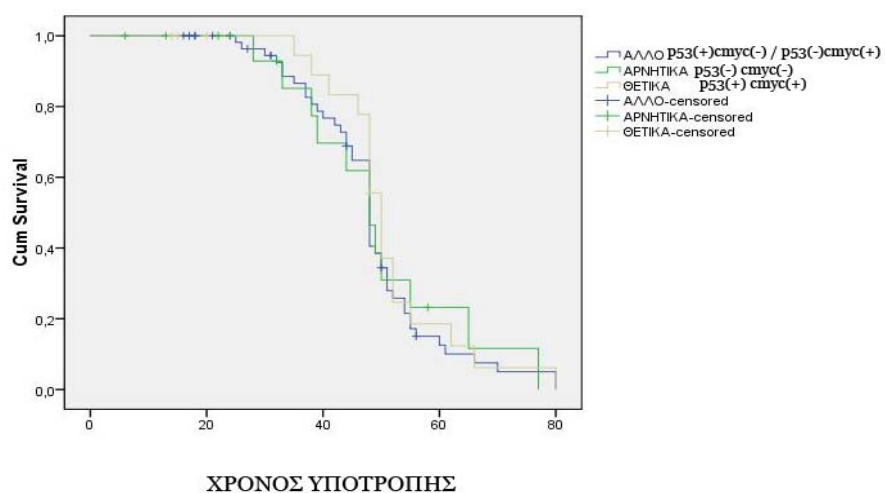
18	44,000	OXI	.	.	15	36
19	44,000	OXI	,688	,065	16	35
20	44,000	NAI	.	.	16	34
21	45,000	OXI	.	.	17	33
22	45,000	OXI	,648	,067	18	32
23	48,000	OXI	.	.	19	31
24	48,000	OXI	.	.	20	30
25	48,000	OXI	.	.	21	29
26	48,000	OXI	.	.	22	28
27	48,000	OXI	.	.	23	27
28	48,000	OXI	.	.	24	26
29	48,000	OXI	.	.	25	25
30	48,000	OXI	.	.	26	24
31	48,000	OXI	.	.	27	23
32	48,000	OXI	.	.	28	22
33	48,000	OXI	.	.	29	21
34	48,000	OXI	,405	,069	30	20
35	49,000	OXI	,385	,069	31	19
36	50,000	OXI	.	.	32	18
37	50,000	OXI	,344	,067	33	17
38	50,000	NAI	.	.	33	16
39	51,000	OXI	.	.	34	15
40	51,000	OXI	.	.	35	14
41	51,000	OXI	,280	,064	36	13
42	52,000	OXI	,258	,063	37	12
43	54,000	OXI	.	.	38	11

	44	54,000	OXI	,215	,059	39	10
	45	55,000	OXI	.	.	40	9
	46	55,000	OXI	,172	,055	41	8
	47	56,000	OXI	,151	,052	42	7
	48	56,000	NAI	.	.	42	6
	49	60,000	OXI	,125	,049	43	5
	50	61,000	OXI	,100	,045	44	4
	51	66,000	OXI	,075	,040	45	3
	52	70,000	OXI	,050	,034	46	2
	53	80,000	OXI	.	.	47	1
	54	80,000	OXI	,000	,000	48	0
ΑΡΝΗΤΙΚΑ	1	28,000	OXI	,929	,069	1	13
	2	32,000	NAI	.	.	1	12
	3	33,000	OXI	,851	,097	2	11
	4	38,000	OXI	,774	,115	3	10
	5	39,000	OXI	,696	,127	4	9
	6	44,000	OXI	,619	,134	5	8
	7	48,000	OXI	.	.	6	7
	8	48,000	OXI	,464	,138	7	6
	9	49,000	OXI	,387	,135	8	5
	10	50,000	OXI	,310	,128	9	4
	11	55,000	OXI	,232	,117	10	3
	12	58,000	NAI	.	.	10	2
	13	65,000	OXI	,116	,101	11	1
	14	77,000	OXI	,000	,000	12	0
ΘΕΤΙΚΑ	1	35,000	OXI	,944	,054	1	17

2	38,000	OXI	,889	,074	2	16
3	41,000	OXI	,833	,088	3	15
4	46,000	OXI	,778	,098	4	14
5	48,000	OXI	.	.	5	13
6	48,000	OXI	.	.	6	12
7	48,000	OXI	.	.	7	11
8	48,000	OXI	,556	,117	8	10
9	48,000	NAI	.	.	8	9
10	50,000	OXI	.	.	9	8
11	50,000	OXI	.	.	10	7
12	50,000	OXI	,370	,117	11	6
13	52,000	OXI	.	.	12	5
14	52,000	OXI	,247	,106	13	4
15	55,000	OXI	,185	,096	14	3
16	62,000	OXI	,123	,081	15	2
17	66,000	OXI	,062	,060	16	1
18	80,000	OXI	,000	,000	17	0

Overall Comparisons (C-MYC - P53)			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,537	2	,765
Test of equality of survival distributions for the different levels of C-MYC - P53.			

RELAPSE FREE SURVIVAL



Case Processing Summary (P63 - ΥΠΟΤΡΟΠΗ)

P63 ΥΠΟΤΡΟΠΗ			CENSORED	
	TOTAL NUMBER	NUMBER OF EVENTS	NUMBER	PERCENT
ΝΑΙ	23	15	8	34,8%
ΟΧΙ	77	26	51	66,2%
ΣΥΝΟΛΟ	100	41	59	59,0%

Πίνακας Επιβίωσης

ΥΠΟΤΡΟΦΗ				Cumulative Proportion Surviving at the Time			
		Time	Status	Estimate	Std. Error	N of Cumulative Events	N of Remaining Cases
NAI	1	13,000	1	,955	,044	1	21
	2	14,000	1	,909	,061	2	20
	3	15,000	1	,864	,073	3	19
	4	16,000	1	,818	,082	4	18
	5	17,000	1	,773	,089	5	17
	6	17,000	0	.	.	5	16
	7	18,000	1	,724	,096	6	15
	8	18,000	0	.	.	6	14
	9	20,000	1	,673	,102	7	13
	10	21,000	1	,621	,107	8	12
	11	22,000	1	,569	,110	9	11
	12	24,000	0	.	.	9	10
	13	27,000	1	,512	,112	10	9
	14	31,000	1	,455	,113	11	8
	15	48,000	1	.	.	12	7
	16	48,000	1	.	.	13	6
	17	48,000	1	.	.	14	5

	18	48,000	1	,228	,098	15	4
	19	48,000	0	.	.	15	3
	20	48,000	0	.	.	15	2
	21	48,000	0	.	.	15	1
	22	48,000	0	.	.	15	0
OXI	1	48,000	1	.	.	1	76
	2	48,000	1	.	.	2	75
	3	48,000	1	.	.	3	74
	4	48,000	1	.	.	4	73
	5	48,000	1	.	.	5	72
	6	48,000	1	.	.	6	71
	7	48,000	1	.	.	7	70
	8	48,000	1	.	.	8	69
	9	48,000	1	.	.	9	68
	10	48,000	1	.	.	10	67
	11	48,000	1	.	.	11	66
	12	48,000	1	.	.	12	65
	13	48,000	1	.	.	13	64
	14	48,000	1	.	.	14	63
	15	48,000	1	.	.	15	62
	16	48,000	1	.	.	16	61
	17	48,000	1	.	.	17	60
	18	48,000	1	.	.	18	59
	19	48,000	1	.	.	19	58
	20	48,000	1	.	.	20	57
	21	48,000	1	.	.	21	56

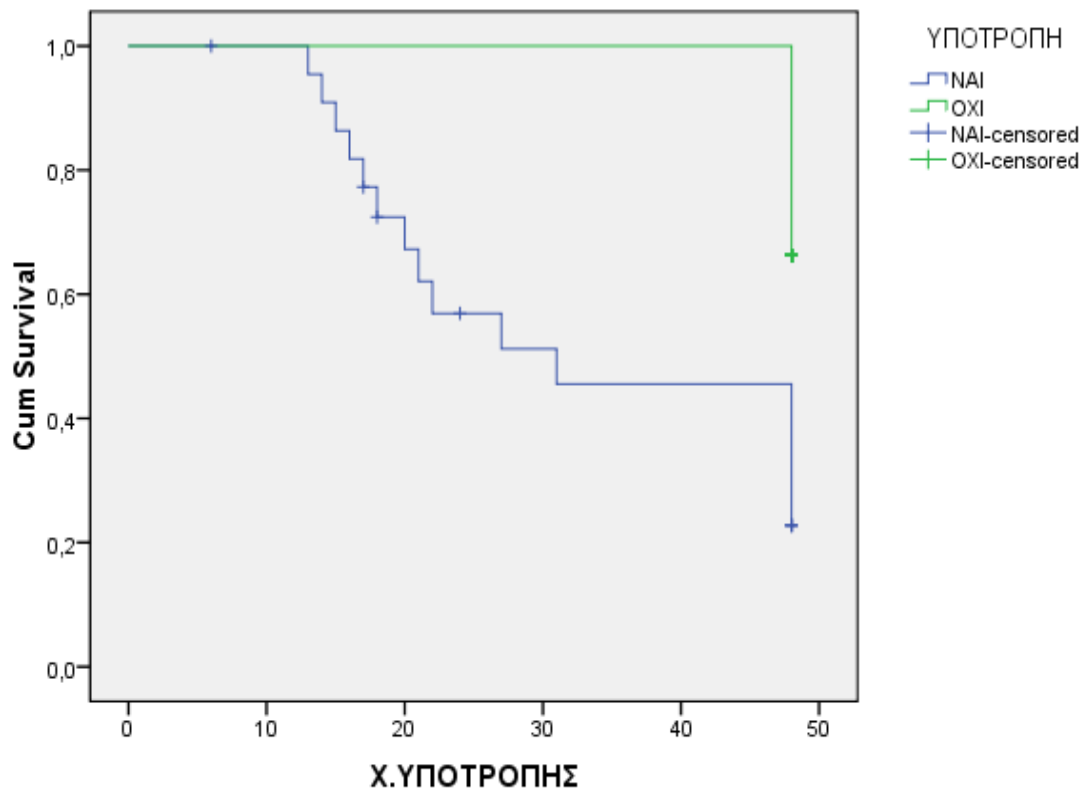
22	48,000	1	.	.	22	55
23	48,000	1	.	.	23	54
24	48,000	1	.	.	24	53
25	48,000	1	.	.	25	52
26	48,000	1	,662	,054	26	51
27	48,000	0	.	.	26	50
28	48,000	0	.	.	26	49
29	48,000	0	.	.	26	48
30	48,000	0	.	.	26	47
31	48,000	0	.	.	26	46
32	48,000	0	.	.	26	45
33	48,000	0	.	.	26	44
34	48,000	0	.	.	26	43
35	48,000	0	.	.	26	42
36	48,000	0	.	.	26	41
37	48,000	0	.	.	26	40
38	48,000	0	.	.	26	39
39	48,000	0	.	.	26	38
40	48,000	0	.	.	26	37
41	48,000	0	.	.	26	36
42	48,000	0	.	.	26	35
43	48,000	0	.	.	26	34
44	48,000	0	.	.	26	33
45	48,000	0	.	.	26	32
46	48,000	0	.	.	26	31
47	48,000	0	.	.	26	30

48	48,000	0	.	.	26	29
49	48,000	0	.	.	26	28
50	48,000	0	.	.	26	27
51	48,000	0	.	.	26	26
52	48,000	0	.	.	26	25
53	48,000	0	.	.	26	24
54	48,000	0	.	.	26	23
55	48,000	0	.	.	26	22
56	48,000	0	.	.	26	21
57	48,000	0	.	.	26	20
58	48,000	0	.	.	26	19
59	48,000	0	.	.	26	18
60	48,000	0	.	.	26	17
61	48,000	0	.	.	26	16
62	48,000	0	.	.	26	15
63	48,000	0	.	.	26	14
64	48,000	0	.	.	26	13
65	48,000	0	.	.	26	12
66	48,000	0	.	.	26	11
67	48,000	0	.	.	26	10
68	48,000	0	.	.	26	9
69	48,000	0	.	.	26	8
70	48,000	0	.	.	26	7
71	48,000	0	.	.	26	6
72	48,000	0	.	.	26	5
73	48,000	0	.	.	26	4

	74	48,000	0	.	.	26	3
	75	48,000	0	.	.	26	2
	76	48,000	0	.	.	26	1
	77	48,000	0	.	.	26	0

Overall Comparisons (P63 ΥΠΟΤΡΟΠΗ)			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel- Cox)	33,290	1	,000
Test of equality of survival distributions for the different levels of RELAPSE.			

Survival Functions



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1) *C-MYC*

Το *C-Myc* είναι ένα ρυθμιστικό γονίδιο το οποίο δρα ως μεταγραφικός παράγοντας. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, το *Myc* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 8 και πιστεύεται ότι ρυθμίζει την έκφραση του 15% όλων των γονιδίων [129] μέσω σύνδεσης σε συναινετικές αλληλουχίες (αλληλουχίες Enhancer Box) και μέσω της πρόσληψης ιστόνης ακετυλοτρανσφεράσης (HATs). Αυτό σημαίνει ότι εκτός από το ρόλο του ως ενός κλασσικού παράγοντα μεταγραφής, το *Myc* λειτουργεί επίσης ως ρυθμιστής της συνολικής δομής της χρωματίνης, ρυθμίζοντας την ακετυλίωση των ιστονών τόσο σε γονιδιακά πλούσιες περιοχές όσο και σε θέσεις μακριά από οποιοδήποτε γνωστό γονίδιο [130]. Υπερέκφραση του *C-myc* ογκογονιδίου σχετίζεται με διάφορους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως [99,100]. Η οικογένεια των *myc* γονιδίων κωδικοποιεί τις πυρηνικές φωσφοπρωτεΐνες με την ικανότητα σύνδεσης του DNA (DNA-binding), που είναι σημαντική για τη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού [131-133]. Η ρύθμιση της δράσης του *C-myc* γίνεται μέσω μιας σύνθετης ετεροδιμερούς αλληλεπίδρασης με άλλες πρωτεΐνες, που ονομάζονται *Mad* και *Max* [130-132].

Το πρωτο-ογκογονίδιο *c-myc* και το γονίδιο p53 φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόπτωση. Το *c-myc* φαίνεται ότι μπορεί να διεγείρει τόσο τον πολλαπλασιασμό όσο και την απόπτωση, η επιλογή όμως ενός κυττάρου για την είσοδο σε μία από τις δύο πορείες καθορίζεται από άλλα σήματα, όπως την παρουσία αυξητικών παραγόντων. Η επαγωγή της απόπτωσης μέσω ενεργοποίησης του γονιδίου *c-myc* απαιτεί την παρουσία λειτουργικής πρωτεΐνης P53. Η συνεχής έκφραση του γονιδίου *c-myc* αυξάνει την ευαισθησία των κυττάρων στην απόπτωση που επάγεται από τις

πρωτεΐνες θερμικού shock (heat shock proteins), την κυκλοεξαμίδη, καθώς επίσης και από μια σειρά αντικαρκινικών παραγόντων [134]. Το γονίδιο p53 κωδικοποιεί μια πυρηνική πρωτεΐνη που ρυθμίζει τη μεταγραφή γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση του DNA, την κυτταρική διαίρεση και την απόπτωση. Ο φυσικός τύπος της πρωτεΐνης p53 ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε καταστάσεις που προκαλούνται δομικές αλλοιώσεις του DNA, όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου, προκαλώντας άμεσα ή έμμεσα βλάβη του κυτταρικού DNA. Αυτό επιτυγχάνεται με υπερέκφραση της φυσικής πρωτεΐνης p53 η οποία προκαλεί στάση του κυτταρικού κύκλου ή απόπτωση. Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι η μεταγραφική ενεργοποίηση του p53 είναι σημαντική για την απόπτωση και επιτυγχάνεται μέσω της αυξημένης παραγωγής της πρωτεΐνης του γονιδίου p21. Επί εκτεταμένης και μη επιδιορθώσιμης βλάβης της δομής του DNA η πρωτεΐνη p53 με άγνωστο ακόμη μηχανισμό οδηγεί το κύτταρο σε απόπτωση, προστατεύοντας, έτσι, το κυτταρικό DNA από συσσώρευση και μετάδοση μεταλλάξεων στα θυγατρικά κύτταρα [135].

Δυσλειτουργίες του *myc* έχουν παρατηρηθεί σε λεμφώματα, καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας, του παχέος εντέρου, του μαστού, του πνεύμονα και του στομάχου [136,137]. Ο Νομπελίστας James D. Watson και άλλοι πιστεύουν ότι το *Myc* είναι ένας υποσχόμενος στόχος των αντικαρκινικών φαρμάκων[138].

Η προγνωστική αξία της έκφρασης του *C-myc* γονιδίου στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως παραμένει αμφιλεγόμενη. Στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε θετική πυρηνική χρώση σε ποσοστό 75% (75/100). Δεν παρατηρήθηκε όμως στατιστική συσχέτιση της έκφρασης *C-Myc* και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων.

Ο Kotake και οι συνεργάτες του [139] κατέδειξαν ότι η έκφραση της C-myc πρωτεΐνης, όπως μετρήθηκε με ανοσοϊστοχημεία, συσχετίζεται με το βαθμό διαφοροποίησης του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως.

Ο Lippromen [140], ωστόσο, δε βρήκε σχέση ανάμεσα στην έκφραση της c-myc πρωτεΐνης και στην πρόγνωση των ασθενών με ουροθηλιακό καρκίνωμα. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται, για να καθοριστεί ο πραγματικός προγνωστικός ρόλος της έκφρασης του C-myc γονιδίου στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως.

2) P53

Το γονίδιο p53 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17p λειτουργεί ως καταστολέας της ογκογένεσης του κυττάρου και ειδικότερα ως ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση). Η κύρια δράση της φυσιολογικής πρωτεΐνης p53 (wild type MB 53 KD, 393 αμινοξέα, χρόνος ημισείας ζωής 6-20 min) που κωδικοποιεί το γονίδιο είναι η αναστολή της εξέλιξης της κυτταρικής διαίρεσης από τη φάση G1 στη φάση S, γεγονός που επιτρέπει στο κύτταρο να επιδιορθώνει τις βλάβες του γονιδιώματός του από εξωγενείς ή ενδογενείς παράγοντες [141].

Η αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου γίνεται με σημειακή μετάλλαξη ή και απώλεια του ετέρου φυσιολογικού αλληλίου (LOH).

Η μεταλλαγμένη p53 πρωτεΐνη έχει πολύ μεγαλύτερο χρόνο ημισείας ζωής από τη φυσιολογική και, έτσι, είναι δυνατή η ανοσοϊστοχημική ανίχνευσή της στους πυρήνες των κυττάρων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ύπαρξη μεταλλάξεων του p53, όπως εκτιμώνται με τεχνικές μελέτες του ανασυνδυσασμένου DNA (RFLP, SSCP), σχετίζονται με την ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης σε ποσοστό 90% [142]. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις μεταλλάξεων χωρίς αυξημένη ανοσοϊστοχημική έκφραση

πυρηνικής πρωτεΐνης και περιπτώσεις ανοσοϊστοχημικής έκφρασης χωρίς μετάλλαξη του γονιδίου [143]. Φαίνεται ότι προϊόντα ογκογονιδίων (όπως το MDM2, SV40, E6, T-antigen) μπορούν και συνδέονται μαζί της, αδρανοποιώντας τη φυσιολογική πρωτεΐνη που δεν αποδομείται, αλλά αθροίζεται στους πυρήνες των κυττάρων. Έτσι, λοιπόν, η ογκοκατασταλτική της δράση εκτός, από την μετάλλαξη, μπορεί να παρακαμφθεί με σχηματισμό συμπλόκων της πρωτεΐνης με ιϊκούς και κυτταρικούς ρυθμιστικούς παράγοντες και έτσι η ανοσοϊστοχημεία να διαπιστώνει ένα λειτουργικά αδρανοποιημένο γονίδιο. Φαίνεται, επίσης, ότι η μετάλλαξη του γονιδίου της p53 συνοδεύεται από αυξημένη συχνότητα χρωμοσωμιακών ανωμαλιών, ανωμαλιών του περιεχομένου σε DNA και αυξημένου κυτταρικού πολλαπλασιασμού [144,145]. Οι μεταλλάξεις του p53 γονιδίου και η αυξημένη πυρηνική άθροιση της p53 πρωτεΐνης είναι αρκετά συχνή στους όγκους της κύστεως. Είναι πρώιμο συμβάν στην εξέλιξη των διηθητικών όγκων και στο καρκίνωμα *in situ*, ενώ είναι λιγότερο συχνή στους επιφανειακούς όγκους [146,147]. Υπερέκφραση της πρωτεΐνης παρατηρείται συνήθως σε όγκους υψηλού σταδίου και *grade* [147]. Ασθενείς με επιφανειακούς όγκους (T1) και ανοσοϊστοχημική έκφραση μεταλλαγμένης p53 έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα επιδείνωσης της νόσου [143, 148-9], ενώ άλλοι ερευνητές διαπιστώνουν ότι το *grade* είναι πιο ισχυρός δείκτης προόδου στην επιφανειακή νόσο [50]. Αντίθετα, στη διηθητική νόσο πολλές μελέτες με πολυπαραγοντική ανάλυση προγνωστικών παραγόντων έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις του γονιδίου p53 και η πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης του αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της επιβίωσης και προτείνουν ότι οι ασθενείς που υποβάλλονται σε κυστεκτομή με θετική έκφραση χρειάζονται συμπληρωματική θεραπεία [150]. Φαίνεται, λοιπόν, ότι η p53 είναι σημαντικός παράγοντας πρόγνωσης με δυνατότητα διαστρωμάτωσης των κακοήθων φαινοτύπων για την επιλογή της κατάλληλης Θεραπείας.

Παρά τον αρχικό ενθουσιασμό για την υπερέκφραση της μεταλλαγμένης p53 ως προγνωστικό δείκτη στην εξέλιξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως, δεν υποτροπιάζουν και δεν εξελίσσονται όλοι οι καρκίνοι της ουροδόχου κύστεως με μεταλλαγμένη p53. Στην πραγματικότητα, το p53 διαμεσολαβεί με τη δράση του στον κυτταρικό κύκλο μέσω της ρύθμισης της έκφρασης p21^{WAF/Cip1} [151]. Γι' αυτό αλλαγές στο p53 μπορεί να οδηγήσουν σε απώλεια της έκφρασης του p21^{WAF/Cip1} και, επομένως, ανεξέλεγκτη κυτταρική ανάπτυξη. Ωστόσο, η έκφραση του p21^{WAF/Cip1} μπορεί επίσης να μεσολαβήσει δια μέσω δρόμων ανεξαρτήτων του p53 [152], διατηρώντας, έτσι, τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου στην παρουσία μιας μετάλλαξης του p53.

Στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε έκφραση της p53 σε ποσοστό 26% των καρκινωμάτων εκ του μεταβατικού επιθηλίου και βρέθηκε στατιστική συσχέτιση με το στάδιο του νεοπλασματος, όπου η δοκιμασία χ^2 ανέδειξε στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και του σταδίου της νόσου ($p=0,037$).

Η Nacopoulou και οι συνεργάτες της το 1995 παρατήρησαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το στάδιο της νόσου [153], ενώ οι Lironnhen και οι συνεργάτες του καθώς και ο Esring και οι συνεργάτες του παρατήρησαν μικρή συσχέτιση [149]. Οι διαφορές των αποτελεσμάτων οφείλονται στο ότι ο Lironnhen και οι συνεργάτες του θεώρησαν θετική την πυρηνική έκφραση της p53 σε ποσοστό >20%, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό της δικής μας μελέτης είναι >10%.

Οι διαφορές των αποτελεσμάτων πιθανόν επίσης να οφείλονται στις διαφορές των χρησιμοποιηθέντων αντισωμάτων και μεθόδων.

3) P21WAF1/CIP1

Οι αναστολείς της CDK (Cyclin -dependent Kinase) μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες οι οποίες διαφέρουν στην ομόζυγη γονιδιακή αλληλουχία: (sequence homology) και στους στόχους αναστολής: 1) Η οικογένεια INK4 που περιέχει επαναλαμβανόμενα μοτίβα ανκυρίνης (containing ankyrin repeat motifs) ($p^{16\text{INK4a}}$, $p^{15\text{INK4b}}$, $p^{18\text{INK4c}}$ και $p^{19\text{INK4d}}$) [154,155] και 2) η CIP/KIP οικογένεια ($p^{21\text{WAF1/CIP1}}$, $p^{27\text{KIP1}}$ και $p^{57\text{KIP2}}$). Η οικογένεια INK4 των αναστολέων της CDK (cyclin dependent kinase) είναι ειδικοί αναστολείς του συμπλέγματος CDK4/6, ενώ οι $p^{27\text{KIP1}}$ και $p^{21\text{WAF1/CIP1}}$ μπορούν να καταστείλουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου μέσω αναστολής μιας οικογένειας προενεργοποιημένων συμπλεγμάτων κυκλίνης - CDK. [156].

Η γνώση περί του κυτταρικού κύκλου έχει προχωρήσει σημαντικά τα τελευταία χρόνια και αυτό οφείλεται στην ανακάλυψη ενός αυξημένου αριθμού ρυθμιστικών πρωτεϊνών, των κυκλινών CDKS (cyclin - dependent kinases) και των αναστολέων τους [157]. Πρόσφατα ένας αριθμός στοιχείων που σχετίζεται με τον κυτταρικό κύκλο βρέθηκε είτε να είναι ανενεργός ή να υπερεκφράζεται σε κυτταρικές σειρές ή νεοπλάσματα. Αν και η ρύθμιση των ρυθμιστικών κυτταρικών πρωτεϊνών έχει μελετηθεί *in vitro*, χρησιμοποιώντας νεοπλασματικές κυτταρικές σειρές, υπάρχουν λίγες σχετικά παρόμοιες μελέτες *in vivo*. Πρόσφατα διάφορα γεγονότα ρυθμιστικά του κυτταρικού κύκλου στους όγκους έχουν αναλυθεί *in vivo*, χρησιμοποιώντας διάφορα μοντέλα καρκινογένεσης σε ζώα [158], συμπεριλαμβανομένης και της νεοπλασίας της ουροδόχου κύστεως.

Το $p21/WAF1$, που είναι επίσης γνωστό ως αναστολέας 1 της εξαρτώμενης από την κυκλίνη κινάση ή CDK - διαδραστική πρωτεΐνη 1 (CK1), είναι μια πρωτεΐνη που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο CDKN1A που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6 (6 p21.2.) [159].

Η p21 είναι ένας ισχυρός αναστολέας της CK1 [160]. Η πρωτεΐνη p21 (CIP1/ WAF1) δεσμεύει και αναστέλλει τη δραστηριότητα της κυκλίνης CDK2 ή των συμπλεγμάτων της CDK1 και, άρα, λειτουργεί ως ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1. Η έκφραση αυτού του γονιδίου ελέγχεται στενά από την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53, μέσω της οποίας μεσολαβεί στην αναστολή της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου, ως ανταπόκριση σε διάφορα ερεθίσματα. Αυτό ήταν μια μεγάλη ανακάλυψη στις αρχές του 1990 που αποκάλυψε πως τα κύτταρα σταματούν να διαιρούνται, όταν εκτίθενται σε βλαπτικούς παράγοντες, όπως την ακτινοβολία. Εκτός από την αναστολή της εξέλιξης, η p21 μπορεί να μεσολαβεί στην κυτταρική γήρανση [161]. Ενδιαφέρον είναι πως οι μελέτες σε ανθρώπινα εμβρυικά αρχέγονα κύτταρα (hESCs) πολύ συχνά αναφέρονται στον μη λειτουργικό άξονα p53-p21 στη G1/S οδό και την επακόλουθη σχέση με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την αντίδραση σε βλάβη του DNA (DDR) [162]. Πολύ σημαντικό είναι πως το p21 mRNA ανευρίσκεται και υπερεκφράζεται μετά την DDR στα hESCs, αλλά η πρωτεΐνη p21 δεν ανιχνεύεται. Σ' αυτόν τον κυτταρικό τύπο η p53 ενεργοποιεί πολλαπλά μικροRNAs (όπως mir-302a, mir302b, mir302c και mir 302d) που άμεσα αναστέλλουν την έκφραση της p21 στα hESCs. Η p21 (CIP1/WAF1) πρωτεΐνη μπορεί, επίσης, να αλληλεπιδράσει με το PCNA (πυρηνικό αντιγόνο πολλαπλασιαζόμενου κυττάρου), ένα βοηθητικό παράγοντα της πολυμεράσης του DNA, και διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στη φάση S στην αντιγραφή και στην επιδιόρθωση του DNA. Αναφέρεται πως αυτή η πρωτεΐνη διασπάται από κασπάσες που ομοιάζουν με την CASP-3 και οδηγείται έτσι σε μια δραματική ενεργοποίηση του CDK2 που μπορεί να είναι χρήσιμη στην προαγωγή της απόπτωσης μετά από την ενεργοποίηση της κασπάσης. Παρά ταύτα η p21 μπορεί να αναστείλει την απόπτωση και δεν επάγει τον κυτταρικό θάνατο από μόνη της [162]. Έχουν αναφερθεί και άλλες παραλλαγές που κωδικοποιούν μια πανομοιότυπη πρωτεΐνη.

Η p21 (CIP1/WAF1) είναι μια CK1 που άμεσα αναστέλλει την κυκλίνη E/CDK2 και τα συμπλέγματα κυκλίνης D/CDK4/6. Η p21 λειτουργεί ως ρυθμιστής της προόδου του κυτταρικού κύκλου στη φάση S. Η έκφραση της p21 ελέγχεται από την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53. Μερικές φορές εκφράζεται χωρίς να επάγεται από την p53. Αυτός ο τύπος επαγωγής διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση που υποκινείται από το p21 και είναι ανεξάρτητη από το p53 [152]. Η έκφραση της p21 εξαρτάται κυρίως από δύο παράγοντες: 1) το ερέθισμα και 2) τον κυτταρικό τύπο. Η αναστολή της εξέλιξης από το p21 μπορεί να υποκινήσει την κυτταρική διαφοροποίηση. Συμπερασματικά, η p21 αποτρέπει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Η p21 διαδραματίζει, επίσης, σημαντικό ρόλο στην απάντηση σε stress [163] και είναι μεταγραφικός στόχος του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53. Πέραν αυτού η απώλεια των λειτουργικών μεταλλάξεων στο p21 (σε αντίθεση με το p53) δεν αθροίζεται στον καρκίνο ούτε προδιαθέτει σε καρκίνο. Τα ποντίκια με έλλειψη p21 (μετά από γενετική τροποποίηση) αναπτύσσονται κανονικά και δεν εμφανίζουν προδιάθεση για καρκίνο σε υψηλότερη συχνότητα απ' ό,τι τα κανονικά ποντίκια και σε αντίθεση με αυτά που έχουν έλλειψη του p53 [158].

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε έκφραση της p21WAF/cip1 στο 25% των καρκινωμάτων του μεταβατικού επιθηλίου. Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης p21WAF/cip1 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων.

Ο Stein και οι συνεργάτες του [151] αξιολόγησαν 101 ασθενείς με όγκους με μεταλλαγμένο p53, οι οποίοι είχαν υποστεί ριζική κυστεκτομή και βρέθηκε ότι η απώλεια της έκφρασης του p21WAF/cip1 (με ανοσοϊστοχημεία) σχετιζόταν με υψηλότερο βαθμό υποτροπής και μείωση της συνολικής επιβίωσης συγκριτικά με όγκους που είχαν θετική έκφραση του

p21WAF/cip1. Μερικές άλλες ομάδες ερευνητών αμφισβήτησαν την προγνωστική αξία της έκφρασης του p21WAF/cip1 [82, 164-5], όπως παρατηρήθηκε και στη δική μας μελέτη. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η έκφραση του p21WAF/cip1 δια μέσου δρόμων ανεξάρτητων του p53 μπορεί να επηρεάσουν θετικά τον κυτταρικό κύκλο, ενώ οι όγκοι που έχουν αλλαγές του p53 και απώλεια έκφρασης του p21WAF/cip1 μπορεί να εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση.

4) P27^{kip1}

Το γονίδιο p27^{kip1} έχει DNAακολουθία παρόμοια με τα άλλα μέλη της οικογένειας «Cip/kip» που περιλαμβάνει το p21^{CIP/WAF1} και το p57^{kip2} [166]. Επιπλέον της δομικής ομοιότητας, μοιράζονται και τη λειτουργική ικανότητα να δεσμεύουν διαφορετικά τμήματα των μορίων της κυκλίνης και της Cdk. Για παράδειγμα το p27^{kip1} δεσμεύεται με την κυκλίνη D είτε μόνο του είτε μέσω δημιουργίας συμπλέγματος με την καταλυτική του υπομονάδα CDK [167]. Με αυτόν τον τρόπο το p27^{kip1} αναστέλλει την καταλυτική δραστηριότητα του cdk4, που σημαίνει ότι προλαμβάνει το cdk4 από το να προσθέσει κατάλοιπα φωσφορικών στο αρχικό του υπόστρωμα, την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (pRb) [168]. Αυξημένα επίπεδα της p27^{kip1} πρωτεΐνης προκαλούν αναστολή του κυτταρικού κύκλου στην φάση G1 [169]. Παρομοίως, το p27^{kip1} έχει την ικανότητα να δεσμεύει άλλες Cdk πρωτεΐνες, όταν δημιουργεί συμπλέγματα με τις υπομονάδες της κυκλίνης, όπως κυκλίνη E/Cdk2 και κυκλίνη A/Cdk2 [170].

Γενικά, οι εξωκυττάριοι παράγοντες ανάπτυξης που προωθούν την κυτταρική διαφοροποίηση μειώνουν την αντιγραφή και τη μετάφραση του p27^{kip1}. Επίσης, η αυξημένη σύνθεση των CDK4, 6/Cyclin D, προκαλεί την

προσκόλληση του p27 σε αυτό το σύμπλεγμα, αποτρέποντάς το από το να δεσμευθεί στο σύμπλεγμα CDK2/Cyclin E [171].

Η μετάλλαξη αυτού του γονιδίου μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και οδηγεί σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Απώλεια έκφρασης του p27 έχει παρατηρηθεί σε μεταστατικά καρκινώματα μαστού σε σκύλους [172]. Μείωση της σηματοδότησης του TGFβeta θεωρείται ότι προκαλεί απώλεια της έκφρασης του p27 σε αυτά τα νεοπλάσματα [173].

Ένα δομικό στοιχείο που ρυθμίζει το cis έχει βρεθεί στο 5' UTR του p27 mRNA, όπου πιστεύεται ότι ρυθμίζει τη μετάφραση που σχετίζεται με την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου [174].

Στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε έκφραση της p27^{Kip1} στο 12% των καρκινωμάτων από μεταβατικό επιθήλιο. Δεν παρατηρήθηκε στατιστική συσχέτιση της έκφρασης p27^{Kip1} και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων εκτός του φύλου, όπου η δοκιμασία χ² ανέδειξε στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και του θήλεος φύλου = p=0,009.

Ο Lee και οι συνεργάτες του το 1999 παρατήρησαν απουσία έκφρασης του p27 στα ουροθηλιακά καρκινώματα [175].

Ο DelPizzo και οι συνεργάτες του [176] παρατήρησαν με ανοσοϊστοχημεία ότι η μειωμένη έκφραση του p27^{Kip1} και της κυκλίνης E σχετιζόταν με αυξημένο grade, stage και θνησιμότητα.

Άλλες ομάδες ερευνητών παρατήρησαν ότι η ελαττωμένη έκφραση του p27 με ή χωρίς ελαττωμένη έκφραση της κυκλίνης E συσχετιζόταν με χειρότερη πρόγνωση των ασθενών με ουροθηλιακό καρκίνωμα. [177,178]. Η μειωμένη έκφραση του p27^{Kip1} είναι προγνωστικός παράγοντας σε έναν αριθμό καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού [179,180],

του προστάτου [181] και του μη μικροκυτταρικού καρκινώματος του πνεύμονα [182] και συνήθως συσχετίζεται με αυξημένη έκφραση της κυκλίνης E [183].

Η απώλεια έκφρασης της p27^{Kip1} πρωτεΐνης στο επιφανειακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστεως σχετίζεται με υποτροπή της νόσου και διηθητική ανάπτυξη [184].

Ο Sgambato και οι συνεργάτες του [185] παρατήρησαν ότι ασθενείς με χαμηλή έκφραση κυκλίνης E και p27^{Kip1} και υψηλό δείκτη πολλαπλασιασμού, που μετρήθηκε με την έκφραση του Ki67 είχαν ένα εξαιρετικά υψηλό ποσοστό υποτροπής ($p < 0,001$). Σε καμία μελέτη από τις προαναφερθείσες δεν αναφέρθηκε συσχέτιση της έκφρασης του p27 με το φύλο των ασθενών.

5) Ki-67

Το Ki-67 είναι μια πυρηνική πρωτεΐνη που σχετίζεται αυστηρά με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι παίζει ένα ρόλο στον έλεγχο της δομής χρωματίνης σε ανώτερο επίπεδο [186]. Επειδή η πρωτεΐνη παράγεται μόνο σε διαιρούμενα κύτταρα, το αντίσωμα MIB-1 έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε ιστοπαθολογικές μελέτες για να εκτιμηθεί το κλάσμα ανάπτυξης ανθρώπινων νεοπλασματικών δειγμάτων ιστού *in situ*. Για πολλούς ανθρώπινους όγκους, συμπεριλαμβανομένων των καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστεως, έχει αποδειχθεί ότι το Ki-67 έχει προγνωστική αξία για την υποτροπή του όγκου και για την επιβίωση του ασθενούς [187].

Η πυρηνική έκφραση του αντιγόνου Ki-67 αποτελεί μέτρο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού του όγκου και συνεπώς της επιθετικότερης βιολογικής συμπεριφοράς [188].

Πιο πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι ασθενείς με διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα και υπερέκφραση του Ki-67 παρουσιάζουν ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία [188].

Μέχρι σήμερα λίγες μελέτες ερεύνησαν τον προγνωστικό ρόλο του Ki-67 μετά από ριζική κυστεκτομή για προχωρημένα ουροθηλιακά καρκινώματα [189]. Αυτές οι μελέτες ήταν ατελείς, λόγω του μικρού αριθμού των περιστατικών, και της απουσίας κατηγοριοποίησης σε υποομάδες για να προσδιορισθεί η σημασία του Ki-67 στις διαφορετικές ομάδες των ασθενών.

Στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε έκφραση του Ki-67 στο 57% των καρκινωμάτων. Δεν παρατηρήθηκε όμως στατιστική συσχέτιση της έκφρασης Ki-67 και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων εκτός του βαθμού διαφοροποίησης (*grade*), όπου η δοκιμασία χ^2 ανέδειξε στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και του υψηλού *grade* $p=0,003$.

Οι Tim B Menke και οι συνεργάτες τους [190] κατέδειξαν σε ούρα ασθενών με καρκίνωμα ουροδόχου κύστεως την προγνωστική αξία του Ki-67, σε σχέση με την υποτροπή του όγκου και την περαιτέρω επιβίωση του ασθενούς.

Ο Andriy O. Yurakh και οι συνεργάτες του το 2006 παρατήρησαν ότι το Ki-67 είναι ένας πολύ καλός προγνωστικός δείκτης για την συνολική επιβίωση αλλά χωρίς σημαντικές πληροφορίες για το στάδιο και τον βαθμό της κακοήθειας του όγκου [191]. Άλλωστε σε διάφορες μελέτες που έχουν περιγραφεί στο παρελθόν, τα στοιχεία συσχέτισης της έκφρασης Ki-67 με το στάδιο και το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου είναι αντικρουόμενα.

Ο Torzsoκ P και οι συνεργάτες του το 2011 [192] παρατήρησαν ότι το Ki-67 μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ένας δείκτης στη διαφορική διάγνωση του low-grade από το high grade ουροθηλιακό καρκίνωμα, ενώ ο Ogata και οι συνεργάτες του το 2012 παρατήρησαν έντονη συσχέτιση της έκφρασης του

Ki-67 με υποτροπή του όγκου και το ιστολογικό grade επιφανειακών θηλωδών όγκων [193].

Ο Piaton E και οι συνεργάτες του το 2012 παρατήρησαν ότι η συνέκφραση των p16 (INK4a) και Ki67 επιτρέπει την ανίχνευση στα ούρα των περισσότερων high grade ουροθηλιακών καρκινικών κυττάρων όχι μόνο κατά την αρχική διάγνωση αλλά και στο follow up των ασθενών [194].

6) P63

Η ογκοπρωτεΐνη p63 είναι μια πρωτεΐνη που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο TP63 [195]. Ανακαλύφθηκε 20 χρόνια μετά την ανακάλυψη του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 και μαζί με το p73 αποτελεί την οικογένεια γονιδίων p53 που βασίζεται στη δομική τους ομοιότητα [195-197]. Παρότι ανακαλύφθηκε πολύ αργότερα από το p53, η φυλογενετική ανάλυση των p53, p63 και p73 έδειξε ότι το p63 ήταν το αρχικό μέλος της οικογένειας από την οποία εξελίχθηκε το p53 και το p73 [198].

Η ογκοπρωτεΐνη p63 είναι ένα μέλος της οικογένειας p53 των μεταγραφικών παραγόντων. P63-/- επίμυες, έχουν αρκετές αναπτυξιακές ανωμαλίες, οι οποίες περιλαμβάνουν την έλλειψη των άκρων και άλλων ιστών, όπως τα δόντια, μαζικούς αδένες, που αναπτύσσονται ως αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ μεσεγχύματος και επιθηλίου.

Το γονίδιο TP63 κωδικοποιεί δύο κύριες ισομορφές μέσω εναλλακτικών προαγωγέων (TAp63 και DNp63). Η DNp63 συμμετέχει σε πολλαπλές λειτουργίες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του δέρματος και στους ενήλικες συμμετέχει στη ρύθμιση βλαστικών / προδρόμων κυττάρων [199].

Σε αντίθεση ο ρόλος της TAp63 περιορίζεται κυρίως στην αποπτωτική της δράση και πρόσφατα θεωρήθηκε ως θεματοφύλακας της

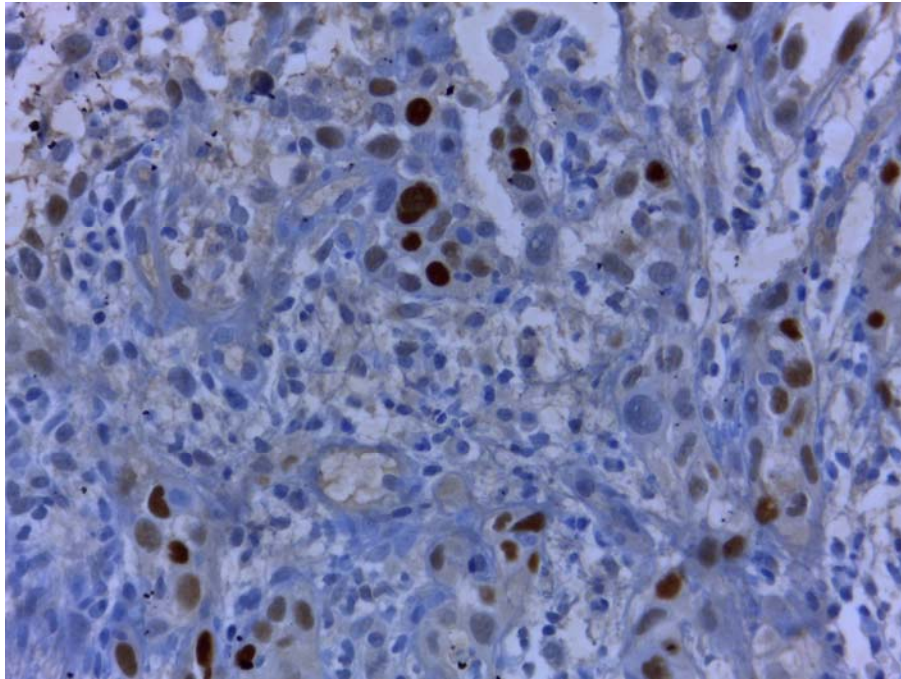
ακεραιότητας των ωκυττάρων [200-202]. Πρόσφατα δύο νέες λειτουργίες έχουν αποδοθεί στην TP63: η ανάπτυξη της καρδιάς [203] και η πρόωρη γήρανση [204,205]. Μεταλλάξεις της TP63 προκαλούν διάφορα δυσμορφικά σύνδρομα .

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της p63 χρησιμοποιείται στην διαφορική διάγνωση του προστατικού αδενοκαρκινώματος από τον καλοήγη προστατικό ιστό [206] και στη διαφορική διάγνωση του χαμηλής διαφοροποίησης πλακώδους καρκινώματος από μικροκυτταρικό καρκίνωμα ή αδενοκαρκίνωμα. Εκφράζεται έντονα στο χαμηλής διαφοροποίησης πλακώδες καρκίνωμα και είναι αρνητική στο μικροκυτταρικό καρκίνωμα και στο αδενοκαρκίνωμα [207].

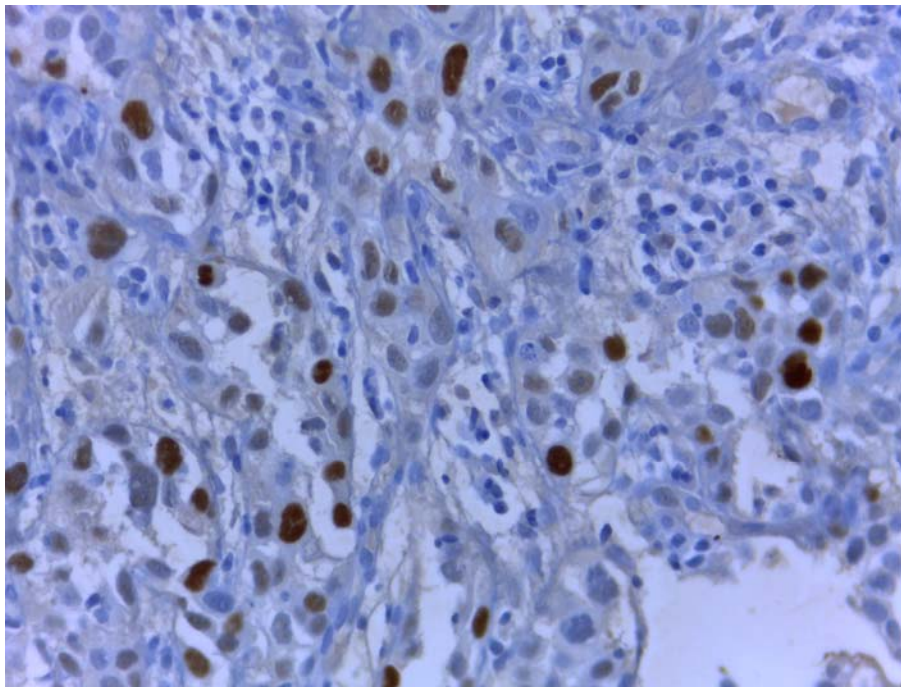
Στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε έκφραση του p63 στο 41% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων. Ανεδείχθη ισχυρή στατιστική σημαντικότητα μεταξύ της θετικής πυρηνικής χρώσης και της υποτροπής $p = 0,007$, ενώ δεν αναδείχθηκε καμία σχέση με το στάδιο και τον βαθμό διαφοροποίησης των όγκων

Ο Marsall και οι συνεργάτες του το 2002 [208] αναφέρουν ότι υπάρχει απώλεια της έκφρασης του p63 στα διηθητικά καρκινώματα. Υποστηρίζουν ότι αυτό οφείλεται στις ισομορφές του p63 στην ογκογένεση και ότι η μειωμένη έκφραση του p63 στα ουροθηλιακά καρκινώματα μπορεί να αντιπροσωπεύει την απώλεια της διαφοροποίησης και, συνεπώς, αναστολή της ανάπτυξης των ισομορφών του p63.

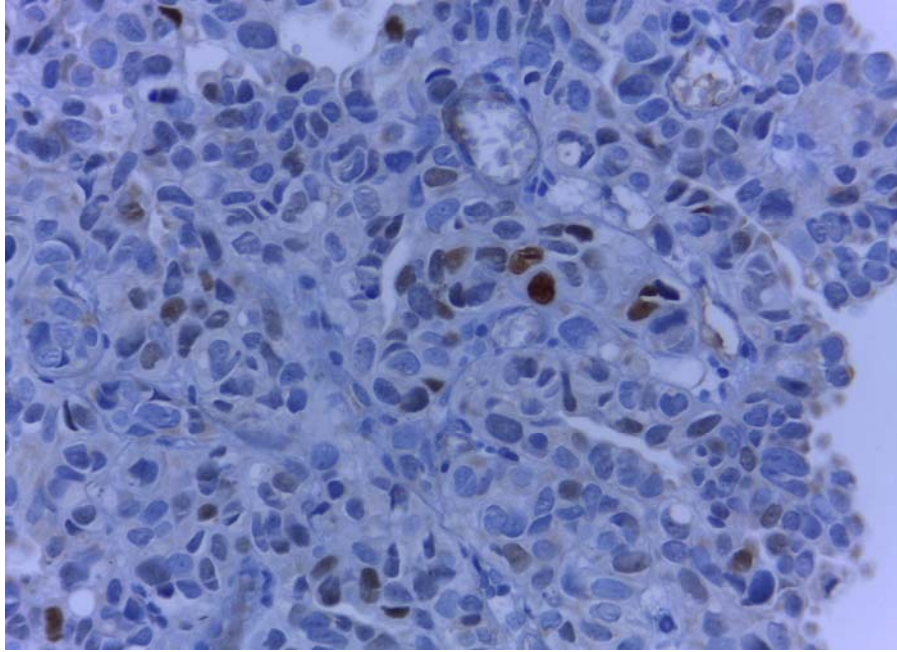
Ο Karni - Schmid [209] και οι συνεργάτες του παρατήρησαν την επικράτηση των p63 ισομορφών στην εξέλιξη και την επέκταση του ουροθηλιακού καρκινώματος με την ΔNp63 ισομορφή να ενεργεί σαν ογκογονίδιο στους διηθητικούς ουροθηλιακούς όγκους.



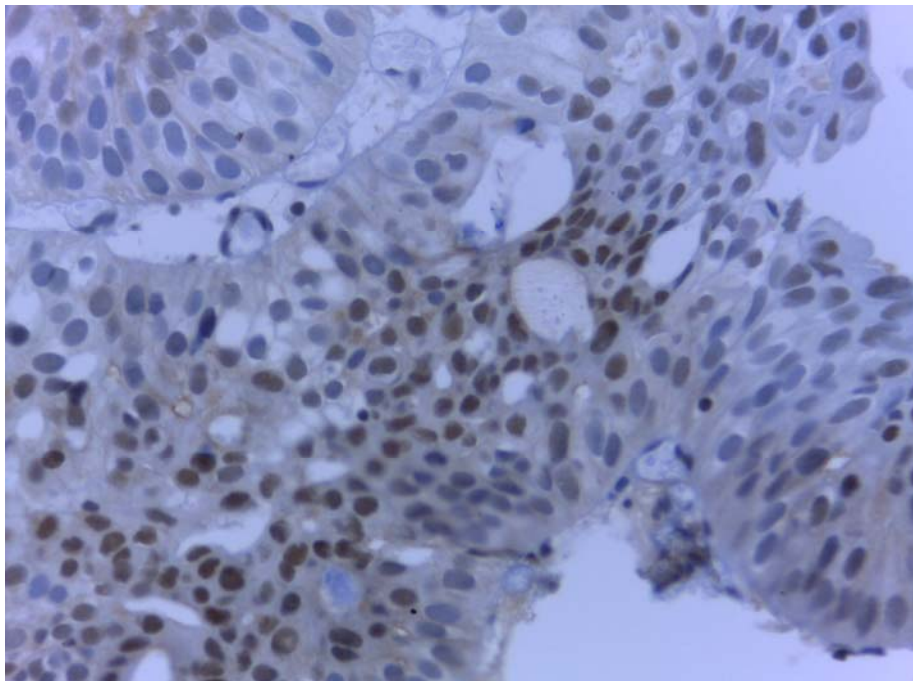
Εικόνα 1. Ανοσοέκφραση του γονιδίου c-myc.



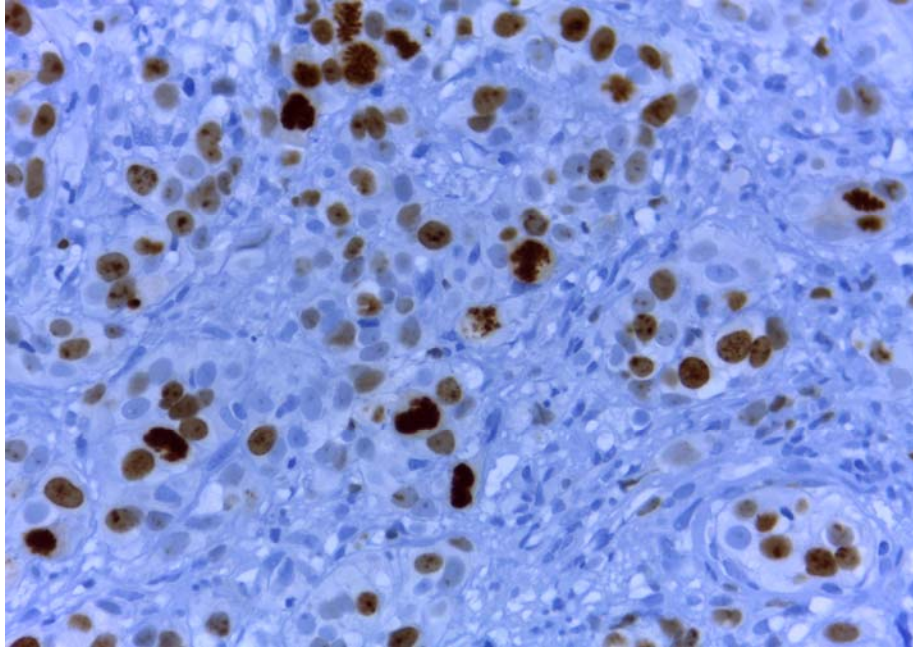
Εικόνα 2. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την πρωτεΐνη p53.



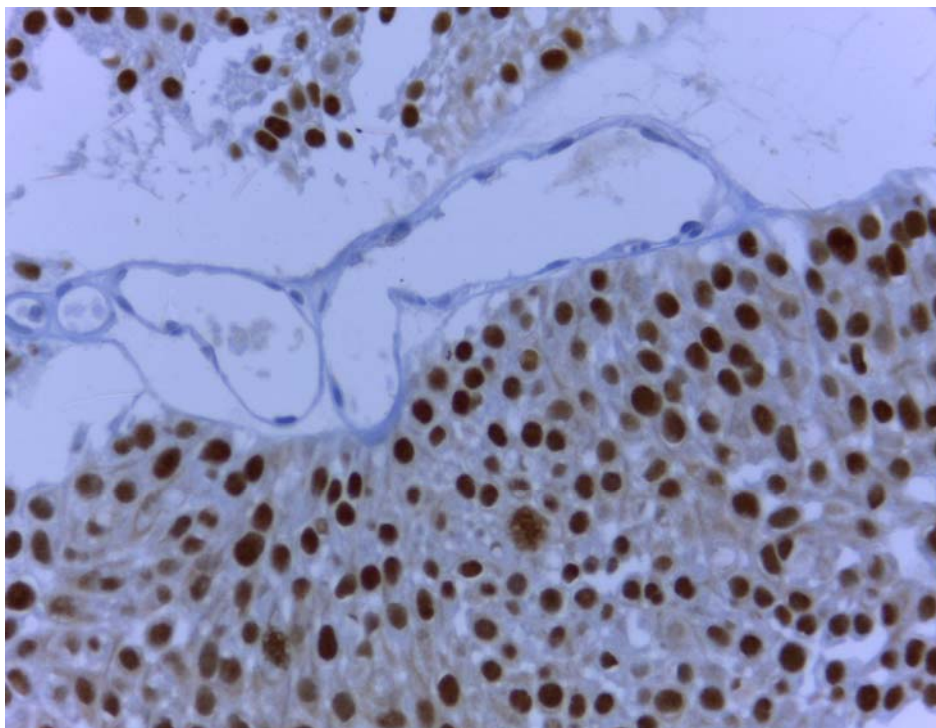
Εικόνα 3. Μοντέλο ανοσοέκφρασης p21^{WAF1/CIP1}.



Εικόνα 4. Ανοσοέκφραση του p27^{kip1}.



Εικόνα 5. Ανοσοϊστοχημική χρώση για τον δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67.



Εικόνα 6. Ανοσοϊστοχημική χρώση για την πρωτεΐνη p63.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ουροθηλιακό καρκίνωμα είναι ο δεύτερος πιο συχνός όγκος του ουροποιογεννητικού συστήματος και σημαντική αιτία θνησιμότητας και θνητότητας. Εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια στη βιολογική του συμπεριφορά. Δύο μορφολογικά όμοιοι όγκοι που εμφανίζονται σε ένα συγκεκριμένο στάδιο είναι δυνατό να εμφανίσουν διαφορετική εξέλιξη, γεγονός που περιορίζει τη δυνατότητα πρόβλεψης της κλινικής πορείας σε μια δεδομένη περίπτωση. Στην μελέτη αυτή διερευνήθηκε το ανοσοϊστοχημικό προφίλ των δεικτών *c-myc*, *p53*, *p21*, *p27*, *p63* και *Ki-67* και προσδιορίστηκε η προγνωστική τους αξία σε σχέση με εδραιωμένες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και την υποτροπή της νόσου.

Μελετήθηκαν ανοσοϊστοχημικά ιστολογικές τομές από 100 πρωτοπαθή ουροθηλιακά καρκινώματα επιλεγμένων ασθενών οι οποίοι ακολούθησαν συγκεκριμένο θεραπευτικό πρωτόκολλο. Από τους ασθενείς η μεγάλη πλειοψηφία 77% ($n = 77$) είναι άνδρες, ενώ οι γυναίκες αποτελούν το 13% ($n=13$). Η ηλικία των ασθενών κυμαίνεται από 49-92 έτη (μέση ηλικία 59 έτη). Σε ότι αφορά στο στάδιο της νόσου κατά τη στιγμή της διάγνωσης, 68 ήταν σταδίου I και 32 ήταν σταδίου II. Αναφορικά με το βαθμό διαφοροποίησης 8 νεοπλάσματα ήταν *Grade I*, 43 *Grade II* και 49 *Grade III*. Οι ασθενείς παρακολουθούντο από την ουρολογική κλινική και 20 από αυτούς εμφάνισαν τουλάχιστο μια υποτροπή μέσα στα επόμενα 2 χρόνια.

Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων μας προέκυψε θετική έκφραση για το *C-myc* σε ποσοστό 75%, για την *p53* σε ποσοστό 26%, για την *p21WAF/cip1* σε ποσοστό 25%, για την *p27^{Kip1}* σε ποσοστό 12% για το *Ki-67* σε ποσοστό 57% και για το *p63* σε ποσοστό 41%. Στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις αναδείχθηκαν μεταξύ του *p27^{Kip1}* και του θήλεος φύλου ($p=0,037$), της *p53* και του σταδίου της νόσου ($p=0,037$), του *Ki-67* και του βαθμού

διαφοροποίησης ($p=0,003$) και της $p63$ και των υποτροπών της νόσου ($p=0,007$).

SUMMARY

Urothelial bladder cancer is the second most common genitourinary tumor and constitutes an important cause of morbidity and mortality. It presents a meaningful heterogeneity in biological behaviour that is not completely understood. It is well known that two morphologically similar tumors presenting in any assigned stage may behave in different fashions, a fact that seriously impedes the potential to accurately predict the clinical outcome in a given case.

The study group was a sequential eighty specimens (n=100) of primary urothelial carcinoma of the urinary bladder obtained by transurethral resection or total cystectomy. All patients were treated and followed at the same institution between 1998-2004. The cohort of patients in this study was highly selected, fairly homogenous and treated in a prospective and standardized fashion. The demographic information, clinical presentation, pathologic stage, and follow-up were extracted from the medical charts. Tumor grading and staging were determined according to the principles outlined by World Health Organization (WHO 2004) and TNM classification of International Union against Cancer (UICC). The study population consisted of 77 men and 13 women with a mean age of 59 years (range 49-92).

Positive immunostaining for c-myc was seen in 75% of urothelial carcinomas, for p53 in 26%, for p21WAF/cip1 in 25%, for p27^{Kip1} in 12%, for Ki-67 in 57% and for p63 in 41%. Statistically significant correlations were found between p27^{Kip1} expression and female patients (p=0,037), p53 positivity and stage (p=0,037), Ki-67 and high grade tumors (p=0,003) and between p63 and relapse (p =0,007).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1.Sadler T.W. Medical Embryology, 6th ed Baltimore:Williams & Wilkins; 1990:300-302
- 2.Moore K.L. The developing humam, 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1998: 315-316
- 3.A. Stevens and J.Lowe: Human Histology. Editions Gower Medical Publishing.1997.
- 4.L.P. Gartner and J.L.Hiatt: Color Textbook ofHistology. Edition Williams and Wilkins.1997.
- 5.L.C. Junqueira and J. Carneiro and R.O.Kelley: Basic Histology.Editions MC Graw-Hill.2003.
- 6.Wheater's Functional Histology Editions Churchill Livingston. 1993.
- 7.Gray's Anatomy: Editions Churchill Livingston. 1995.
- 8.S. Jacob. Atlas of Human Anatomy, Editions Churchill - Livingston. 2002.
- 9.Kroft Sh,Oyasau R.Urinary bladder cancer: mechanisms of development and progression. Lab Invest. 1994; 71:158-74.
- 10.Murphy WM, Beckwith JB, FarrowGM. Tumors of the Kidney, Bladder, and related Structures. 3rd ed. RosaiJ, ed. Atlas of tumor Pathology. Vol 1 Bethesda MD: Armwed Forces Institure of Pathology: 1994.
- 11.Hicks RM, Chowaniec J. The importance of synergy between weak carcinogens in the induction of bladder cancer in experimental animals and humans. Cancer Res. 1977; 37:2943-9.
- 12.Silverman DT, Hartge P, Morrison AS, et al. Epidemiology of bladder cancer. Hematol Oncol Clin North Am. 1992;6:1-30.
- 13.Wynder EL,Goldsmith R. The epidemiology of bladder cancer: a second look. Cancer.1977;40:1246-68.

14. Parker CC, Huddart RA. Management of invasive bladder cancer. *Br J Hosp Med.* 1996;56:213-8.
15. Fitzpatrick JM, Reda M. Bladder carcinoma in patients 40 years old or less. *J Urol.* 1986;135:53-4.
16. Droller MJ. Bladder cancer. *Curr Probl Surg.* 1981;18:205-79.
17. Epstein JL, Amin MB, Reuter Vr, et al. The bladder consensus conference Committee. The World Health Organization/International Society of urological Pathology Consensus classification of Urothelial (Transitional cell). Neoplasms of the Urinary Bladder. *Am J Surg Pathol.* 1998;22:1435-1448.
18. World health Organization (1999). Histological typing of urinary bladder tumors. International histological classification of tumors, no.10, 2nd ed, Geneva.
19. World health Organization (1973). Histological typing of urinary bladder tumors. International histological classification of tumors, no. 10. Geneva.
20. Cheng L, Neumann RM, Bostwick DG. Papillary urothelial neoplasms of low malignant potential. Clinical and biological implications. *Cancer.* 1999;86:2102-8.
21. Urinary Bladder in: *AJCC, Cancer Staging Manual*, 5th ed, Lippincott-Raven Press. 1997;38:242-246.
22. Younes M, Sussman J, True Ld. The usefulness of the level of the muscularis mucosa in the staging of invasive transitional carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 1990; 66:543-8.
23. Holmang S, Heldnen H, Aderson c, et al. The importance of the depth of invasion in stage T1 bladder cancer a prospective cohort study. *J. Urol.* 1997;157:800-3;
24. Epstein JL, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK and Bladder Consensus Conference Committee. The world Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial

(transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Am j Surg Pathol* 22:1435-48, 1998.

25. Taylor DC, Bhagavan BS, Larsen MP, Cox JA, Epstein JI. Papillary urothelial hyperplasia A precursor to Papillary neoplasms. *Am j Surg Pathol* 20: 1481-1488, 1996.

26. Eble JN, Young RH. Benign and low-grade papillary lesions of the urinary bladder a re-view of the papilloma-papillary carcinoma controversy and a report of 5 typical papillomas. *SemDiagn Pathol* 6: 351-371, 1998.

27. Cheng L, DaDarson M, Cheville JC, et al. Unrothelial papilloma of the bladder clinical and biological implications. *Cancer* 86:2098, 1999.

28. Sauter G. Inverted papilloma, WHO classification of non-invasive papillary urothelial tumors. In *World Health Organization Classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of urinary system and male genital organs*. Edited by Eble JN, Epstein JI, Sesterhenn I. (eds): Lyon, IARCC 2004:114

29. Cheng L, Neumann Rm, Bostrwick DG. Papillary urothelial neoplasms of low malignant potential clinical and biological implications. *Cancer* 86:2102-8, 1999.

30. Alvarez - Kindelan J, Lopez Beltran A, Anglada Curado F et al. Clinicopathologic differences between bladder neoplasm with low malignant potential and low - grade carcinoma. *Actas Urol Esp* 25: 645-650, 2001.

31. Pagano F, Bassi P, Galletti TP. Results of contemporary radical cystectomy for invasive bladder cancer a clinicopathological study with an emphasis on the inadequacy of the tumor, nodes, and metastases classification *J Urol* 145:45-50, 1991.

32. Stein JP, Grossfeld GD, Ginsberg DA, et al. Prognostic markers in bladder cancer: a contemporary review of the literature. *J. Urol.* 1998;160:645-59.

33. Herr HW Tumor progression and survival of patients with high grade, noninvasive papillary (TaG3) bladder tumors: 15-year outcome. *J. Urol.* 200;163:60-2.
34. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, et al. Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *J. Urol.* 1983;130:1083-6.
35. Leblanc B, Duclos AJ, Benard F, et al. Long-term follow up of initial Ta grade 1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J. Urol.* 1999;162:1946-50.
36. Althausen AF, Prout GR and Daly JJ. Non - invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J. Urol.* 1976;116:575-80.
37. William MM. *Urological pathology, 2nd ed, W.B. Saunders Company:1997.*
38. Lipponen PK, Eskelinen M, Jauhiainen K, et al. Clinical Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder. *Urol int* 1993;50:192-7.
39. Knap MM, Lundbeck F, Overgaard J. Prognostic factors, pattern of recurrence and survival in a Danish bladder cancer cohort treated with radical cystectomy. *Act Oncol.* 2003;42:160-8.
40. Larsson P, Wijkstrom H, Thorstenson A. et al. A population - based study fo 538 patients with newly detected urinary bladder neoplasms followed during 5 years. *Scand J. Urol Nephrology.* 2003;37:195-201.
41. Cordonnier JJ. Cystectomy for carcinoma of the bladder . *J. Urol.* 1986;99:172-3.
42. Hara S, Miyake H, Fujisawa M, et al. Prognostic variables in patients who have undergone radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder. *Jpn J Clin Oncol.* 2001;31:399-402.
43. Knap MM, Lundbeck F, Overgaard J. The role of pelvic lymph node dissection as a predictive and prognostic factor in bladder cancer. *Eur J Cancer.* 2003;39:604-13.

44. Gilbert HA, Logan JL, Kagan AR, et al. The natural history of papillary transitional cell carcinoma of the bladder and its treatment in an unselected population on the basis of histological grading. *J Urol.* 1978;119:488-92.
45. Jordan AM, Weingarten J, Murphy WM. Transitional cell neoplasms of the urinary bladder. Can biologic potential be predicted from histologic grading? *Cancer.* 1987;60:2766-74.
46. Busto Catanon L, Sanchez Merino JM, et al. Clinical prognostic factors in superficial cancer of the urinary bladder. *Arch Esp Urol.* 2001;54:131-8.
47. Varo Solis C, Soto Delgado M, Hens Perez A, et al. Primary nontransitional neoplasms of the bladder. *Actas Urol Esp.* 1999;23:587-95.
48. Kanat O, Evrensel T, Adim SB, et al. Small cell carcinoma of the urinary bladder. A clinicopathologic study of five cases. *Tumori.* 2003; 89:328-30.
49. Queipo Zaragoza JA, Chicote Perez F, Borrell Palanca A, et al. Unusual bladder tumors: primary epidermoid carcinoma, adenocarcinoma, and sarcoma. Clinical behavior. Our experience. *Actas Urol Esp.* 2003; 27:123-31.
50. Pagano F, Bassi P, Ferrante GL, et al. Is stage pT4a (D1) reliable in assessing transitional cell carcinoma involvement of the prostate in patients with a concurrent bladder cancer? A necessary distinction for contiguous or non-contiguous involvement. *J Urol.* 1996; 155:244-7.
51. Njinou Ngninkeu B, Lorge F, Moulin P, et al. Transitional cell carcinoma involving the prostate: a clinicopathological retrospective study of 76 cases. *J Urol.* 2003; 169:149-52.
52. Javadpour N, Mostofi FK. Primary epithelial tumors of the bladder in the first two decades of life. *J Urol.* 1969;101:706-10.
53. Ikemoto I, Shimomura T, Yamada H, et al. Retrospective analysis of uroepithelial malignancies detected in the renal pelvis and ureter over the

past decade at the Jikei University Hospital. *Hinyokika Kiyo*.2003;49:451-6.

54. Blanchard JM, Graziana JP, Bonnal JL, et al. Bladder tumor in young patients: a series of 26 cases. Comparison with a review of the literature. *Prog Urol*.2003;13:227-33.

55. Stephenson WT, Holmes FF, Noble MJ, et al. Analysis of bladder carcinoma by subsite. Cystoscopic location may have prognostic value. *Cancer*. 1990;66:1630-5.

56. Dalesio O, Schulman CC, Sylvester R, et al. Prognostic factors in superficial bladder tumors. A study of the European Organization for Research on Treatment of Cancer: Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. *J Urol*. 1983;129:730-3.

57. Frazier HA, Robertson JE, Dodge RK, et al. The value of pathologic factors in predicting cancer-specific survival among patients treated with radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder and prostate. *Cancer*. 1993;71:3993-4001.

58. Wolf H, Hojgaard K. Prognostic factors in local surgical treatment of invasive bladder cancer, with special reference to the presence of urothelial dysplasia. *Cancer*. 1983;51:1710-5.

59. Zieger K, Olsen PR, Wolf H, et al. Long term follow-up of superficial invasive bladder carcinoma with or without concomitant epithelial atypia recurrence and progression. *Scand J Urol Nephrology*. 2002;36:52-9.

60. Heney NM, Proppe K, Prout GR Jr, et al. Invasive bladder cancer: tumor configuration, lymphatic invasion and survival. *J Urol*. 1983;130:895-7.

61. Herr HW, Badalament RA, Amato DA, et al. Superficial bladder cancer treated with bacillus Calmette-Guerin: a multivariate analysis of factors affecting tumor progression. *J Urol*.1989;141:22-9.

62. Soloway MS, Murphy WM, Johnson DE, et al. Initial evaluation and response criteria for patients with superficial bladder cancer. Report of a workshop. *Br J Urol*. 1990;66:380-5.

63. Al-Abadi H, Nagel R. Deoxyribonucleic acid content and survival rates of patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol.* 1994;151:37-42.
64. Blomjous EC, Schipper NW, Baak JP, et al. The value of morphometry and DNA flow cytometry in addition to classic prognosticators in superficial urinary bladder carcinoma, *Am J Clin Pathol.* 1989;91:243-8.
65. Turkolmez K, Baltaci S, Beduk Y, et al. DNA ploidy and S-phase fraction as predictive factors of response and outcome following neoadjuvant methotrexate, vinblastine, epirubicin and cisplatin (M-VEC) chemotherapy for invasive bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol.* 2002;36:46-51.
66. Cianciulli AM, Bovani R, Leonardo F, et al. Interphase cytogenetics of bladder cancer progression: relationship between aneusomy, DNA ploidy pattern, histopathology, and clinical outcome. *Int J Clin Lab Res.* 2000;30:5-11.
67. Ozer E, Yorukoglu K, Mungan MU, et al. Prognostic significance of nuclear morphometry in superficial bladder cancer. *Anal Quant Cytology Histology.* 2001;23:251-6.
68. Van Velthoven R, Petein M, Oosterlinck W, et al. Identification by quantitative chromatin pattern analysis of patients at risk for recurrence of superficial transitional bladder carcinoma. *J Urol.* 2000;164:2134-7.
69. Sarma KP. The role of lymphoid reaction in bladder cancer. *J Urol.* 1970;104:843-9.
70. Lorenzo Gomez MF, Schroeder G. The role of tumor markers in prognosting transitional bladder cancer. *Actas Urol Esp.* 2003;27:501-12.
71. Bol MG, Baak JP, van Diermen B, et al. Proliferation markers and DNA content analysis in urinary bladder TaT1 urothelial cell carcinomas: identification of subgroups with low and high stage progression risks. *J Clin Pathol* 2003;56:447-52.
72. Plastiras D, Moutzouris G, Barbatis C, et al. Can p53 nuclear over-expression, Bcl-2 accumulation and PCNA status be of prognostic

significance in high- risk superficial and invasive bladder tumours? *Eur J Surg Oncol.* 1999;25:61-5.

73.Rodriguez Alonso A, Pita Fernandez S, Gonzalez-Carrero J, et al. Multivariate analysis of recurrence and progression in stage T1 transitional-cell carcinoma of the bladder. Prognostic value of p53 and Ki67. *Actas Urol Esp.*2003;27:132-41

74.Ong F, Moonen LM, Gallee MP, et al. Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for Bcl-2 and p53. *Radiotherapy Oncol.* 2001;61:169-75.

75.Moonen L, Ong F, Gallee MP, et al. Apoptosis, proliferation and p53, cyclin D1, and retinoblastoma gene expression in relation to radiation response in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;49:1305-10.

76.Pollack A, Czerniak B, Zagars GK, et al. Retinoblastoma protein expression and radiation response in muscle- invasive bladder cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997;39:687-95.

77.Cote RJ, Dunn MD, Chatterjee SJ, et al. Elevated and absent pRb expression is associated with bladder cancer progression and has cooperative effects with p53. *Cancer Res.* 1998;58:1090-4.

78.Bochner BH, Cote RJ, Weidner N, et al. Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *J. Natl. Cancer Inst.* 1995;87:1603-12.

79.Chaudhary R, Bromley M, Clarke NW, et al. Prognostic relevance of micro-vessel density in cancer of the urinary bladder. *Anticancer Res.* 1999;19:3479-84.

80.Philip EA, Stephenson TJ and Reed MW. Prognostic significance of angiogenesis in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder. *Br. J. Urol.* 1996;77:352-7.

81.Ozer E, Mungan MU, Tuna B, et al. Prognostic significance of angiogenesis and immunoreactivity of cathepsin D and type IV collagen in high-grade stage T1 primary bladder cancer. *Urology.* 1999;54:50-5.

82. Hawke CK, Delahunt B. and Davidson PJ. Microvessel density as a prognostic marker for transitional cell carcinoma of the bladder. *Br. J. Urol.* 1998;81:585-90.
83. Grossfeld GD, Ginsberg DA, Stein JP, et al. Thrombospondin-1 expression in bladder cancer: association with p53 alterations, tumor angiogenesis, and tumor progression. *J. Natl. Cancer Inst.* 1997;89:219-27.
84. Offersen BV, Borre M, Overgaard J. Quantification of angiogenesis as a prognostic marker in human carcinomas: a critical evaluation of histopathological methods for estimation of vascular density. *Eur J Cancer.* 2003;39:881-90.
85. Santos L, Costa C, Pereira S, et al. Neovascularisation is a prognostic factor of early recurrence in T1/G2 urothelial bladder tumours. *Ann Oncol.* 2003;14:1419-24.
86. Lebret T, Watson RW, Molinie V, et al. Heat shock proteins HSP27, HSP60, HSP70, and HSP90: expression in bladder carcinoma. *Cancer.* 2003;98:970-7.
87. Gazzaniga P, Gradilone A, Giuliani L, et al. Expression and prognostic significance of LIVIN, SULLIVAN and other apoptosis- related genes in the progression of superficial bladder cancer. *Ann Oncol.* 2003;14:85-90.
88. Mizutani Y, Hongo F, Sato N, et al. Significance of serum soluble Fas ligand in patients with bladder carcinoma. *Cancer.* 2001;92:287-93.
89. Gazzaniga P, Gradilone A, Vercillo R, et al. Bcl-2/bax mRNA expression ratio as prognostic factor in low grade urinary bladder cancer. *Int. J. Cancer.* 1996;69:100-4.
90. Lee SH, Lee JY, Park WS, et al. Transitional cell carcinoma expresses high levels of Fas ligand in vivo. *BJU Int.* 1999;83:698-702.
91. Lee SH, Shin MS, Park WS, et al. Alterations of Fas (APO-1/CD95) gene in transitional cell carcinomas urinary bladder. *Cancer Res.* 1999;59:3068-72.

92. Mizutani Y, Yoshida O, and Bonavida B. Prognostic significance of soluble Fas in the serum of patients with bladder cancer. *J. Urol.* 1998;160:571-6.
93. Swana HS, Grossman D, Anthony JN, et al. Tumor content of the antiapoptosis molecule survivin and recurrence of bladder cancer. *New Engl. J. Med.* 1999;341:452-3.
94. Burchardt M, Burchardt T, Shabsigh A, et al. Current concepts in biomarker technology for bladder cancers. *Clin Chem.* 2000;46:595-605.
95. Juhl BR, Hartzen SH, Hainau B. Lewis an antigen in transitional cell tumors of the urinary bladder. *Cancer.* 1986;58:222-8.
96. Orntoft TF, Nielsen MJ, Wolf H, et al. Blood group ABO and Lewis antigen expression during neoplastic progression of human urothelium. Immunohistochemical study of type 1 chain structures. *Cancer.* 1987;60:2641-8.
97. Fradet Y, Tardif M, Bourget L, et al. Clinical cancer progression in urinary bladder tumors evaluated by multiparameter flow cytometry with monoclonal antibodies. Laval university Urology Group. *Cancer Res.* 1990;50:432-7.
98. Fontana D, Belina M, Scoffone C, et al. Evaluation of c-ras oncogene product (p21) in superficial bladder cancer. *Eur. Urol.* 1996;29:470-6
99. Kotake T, Saiki S, Kinouchi T, et al. Detection of c-myc gene product in urinary bladder cancer. *Jpn. J. Cancer Res.* 1990;81:1198-201
100. Lipponen PK. Expression of c-myc protein is related to cell proliferation and expression of growth factor receptors in transitional cell bladder cancer. *J Pathol.* 1995; 175:203-10.
101. Sato K, Moriyama M, Mori S, et al. An immunohistologic evaluation of c-erb-B2 gene product in patients with urinary bladder carcinoma. *Cancer.* 1992;70:2493-8.
102. Moriyama M, Akiyama T, Yamamoto T, et al. Expression of c-erb-2 gene product in urinary bladder cancer. *J. Urol.* 1991; 145:423-7.

103. Mellon K, Lunec J, Wright C, et al. C-erb-2 in bladder cancer: molecular biology, correlation with epidermal growth factor receptors and prognostic value. *J. Urol.* 1996; 155:321-6.
104. Underwood M, Bartlett J, Reeves J, et al. C-erb-2 gene amplification: a molecular marker in recurrent bladder tumors? *Cancer Res.* 1995;55:2422-30.
105. Lianes P, Orlov I, Zhang ZF, et al. Altered patterns of MDM2 and TP53 expression in human bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1994; 86:1325-30.
106. Shiina H, Igawa M, Nagami H, et al. Immunohistochemical analysis of proliferating cell nuclear antigen p53 protein and nm23 protein and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer.* 1996;78:1762-74.
107. Green LF, Hanas KA, Farrow G.M.: Benign papilloma or papillary carcinoma of the bladder? *J. Urol.* 110,205 1973
108. Bringuier PP, Umdas R, Schaafsma HE, et al. Decreased E-cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumors. *Cancer Res.* 1993;53:3241-5.
109. Lipponen PK and Eskelinen MJ. M Reduced expression of E-cadherin is related to invasive disease and frequent recurrence in bladder cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1995;121:303-8.
110. Grossman HB, Lee C, Bromberg J, et al. Expression of the alpha6 beta4 integrin provides prognostic information in bladder cancer. *Oncol. Rep.* 2000;7:13-6.
111. Lipponen P, Aaltomas S, Kosma VM, et al. Expression of CD44 standard and variant-v6 proteins in transitional cell bladder tumours and their relation to prognosis during a long-term follow up. *J Pathol.* 1998; 186:157-64.
112. Mungan U, Kirkali G, Celebi I, et al. Significance of serum laminin P1 values in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology.* 1997;48:496-500.

113. Lipponen PK. Expression of cathepsin D in transitional cell bladder tumours. *J Pathol.* 1996; 178:59-64.
114. Dickinson AJ, Fox SB, Newcomb PV, et al. An immunohistochemical and prognostic evaluation of cathepsin D expression in 105 bladder carcinomas. *J. Urol.* 1995; 154:237-41.
115. Hasui Y, Marutsuka K, Asada Y, et al. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator in patients with superficial bladder cancer. *Urology.* 1996;47:34-7.
116. Ozdemir E, Kakehi Y, Okuno H, et al. Role of matrix metalloproteinase-9 in the base-membrane destruction of superficial urothelial carcinomas. *J. Urol.* 1999; 161:1359-63.
117. Grignon DJ, Sakr W, Toth M, et al. High levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP) expression are associated with poor outcome in invasive bladder cancer. *Cancer Res.* 1996;56:1654-9.
118. Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Res.* 1990;50:2530-7.
119. Neal DE, Marsh C, Bennett MK, et al. Epidermal growth factor receptors in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumours. *Lancet.* 1985;1:366-8
120. Nichols JA and Marchall VF.: The treatment of bladder carcinoma by local excision and fulguration. *Cancer,* 9, 17, 1956.
121. Barnes RW, Bergman RT, Hadley HL, et al.: Control of bladder tumors by endoscopic surgery. *J Urol,* 97, 864, 1967.
122. Varkarakis MJ, Gaeta J, Moore RH, et al. Superficial bladder tumor: aspects of clinical progression *Urology,*4,414, 1974.
123. Cutler SJ, Heney NM, Friedell GH: Longitudinal study of patients with bladder cancer: Factors associated with disease recurrence and progression. In Walsh, Gittes, Perlmutter, Stamey (Eds), *Campbell's Urology,* Vol 2, fifth edition, WB Saunders Co, 1986, p.1381.

124. Anderson CK.: Current topics on the pathology of bladder cancer. Proc R Soc Med, 66, 283, 1973.
125. Althausen AF, Prout GR, Daly JJ.: Noninvasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. J Urol, 116, 575, 1976.
126. Heney NM, Daly J, Prout GR, et al: Biopsy of apparently normal urothelium in patients with bladder cancer. J Urol, 120, 559, 1978.
127. Skinner DG, Lieskovsky G. Management of invasive and high-grade bladder cancer. In: Skinner DG, Lieskovsky G editor. Diagnosis and Management of Genitourinary Cancer. Philadelphia: W.B. Saunders; 1988;p. 295-312
128. Stein JP, Lieskovsky G, Cote R, et al. Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer (long-term results in 1,054 patients). J. Clin. Oncol. 2001;19:666-675
129. Watt RA, Shatzman AR, Rosenberg M. Expression and characterization of the human c-myc DNA-binding protein. Mol. Cell Biol. 1985;5:448-456
130. Dominguez-Sola D, Ying CY, Grandori C, Ruggiero L, Chen B, Li M, Galloway DA, Gu W, Gautier J, Dalla-Favera R (July 2007). "Non-transcriptional control of DNA replication by c-Myc". Nature **448** (7152): 445-51.
131. Vastrik I, Makela TP, Koskinen PJ, Alitalo K. Determination of sequences responsible for the differential regulation of Myc function by delta Max and Max. Oncogene. 1995;11:553-560
132. Hurlin PJ, Queva C, Koskinen PJ, et al. Mad3 and Mad4 (novel Max-interacting transcriptional repressors that suppress c-myc dependent transformation and are expressed during neural and epidermal differentiation). EMBO J. 1995;14:5646-5659
133. Amati B, Land H. Myc-Max-Mad (a transcription factor network controlling cell cycle progression, differentiation and death). Current Opinion in Genetics & Development. 1994;4:102-108
134. Hermeking H, Eick D. Mediation of c-myc induced apoptosis by p53. Science 265:2091-93, 1994

135. Canman CE, Gilmer TM, Coutts SB, Kastan MB. Growth factor modulation of p53-mediated growth arrest versus apoptosis. *Genes Dev* 9: 600-611, 1995
136. Berns EM, Klijn JG, van Putten WL, van Staveren IL, Portengen H, Foekens JA. c-myc amplification is a better prognostic factor than HER2/neu amplification in primary breast cancer. *Cancer Res.* 1992;52:1107-1113
137. Koskinen PJ, Alitalo K. Role of myc amplification and overexpression in cell growth, differentiation and death. *Semin. Cancer Biol.* 1993;4:3-12
138. DNA pioneer James Watson takes aim at "cancer establishments", By Sharon Begley, Reuters, Jan. 9, 2013.
139. Kotake T, Saiki S, Kinouchi T, Shiku H, Nakayama E. Detection of the c-myc gene product in urinary bladder cancer. *Jpn. J. Cancer Res.* 1990;81:1198-1201
140. Lipponen PK. Expression of c-myc protein is related to cell proliferation and expression of growth factor receptors in transitional cell bladder cancer. *J. Pathol.* 1995;175:203-210
141. Lane DP. p53, guardian of the genome. *Nature.* 1992;358:15-16
142. Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GT, et al. p53 mutations in human bladder cancer (genotypic versus phenotypic patterns). *Int J Cancer.* 1994;56:347-353
143. Esrig D, Spruck CH, Nichols 3rd PW, et al. p53 nuclear protein accumulation correlates with mutations in the p53 gene, tumor grade, and stage in bladder cancer. *Am. J. Pathol.* 1993;143:1389-1397
144. Bishop JM. The molecular genetics of cancers. *Science.* 1987;235:305-311
145. Cohen SM, and Ellwein LB, Genetic errors, cell proliferation, and carcinogenesis. *Cancer Res.* 1991. 51:6493-6505

146. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon-Cardo C, et al. Nuclear overexpression of p53 protein in transitional cell bladder carcinoma (a marker for disease progression). *J. Natl. Cancer Inst.* 1993;85:53-59
147. Lipponen PK. Over-expression of p53 nuclear oncoprotein in transitional-cell bladder cancer and its prognostic value. *Int J Cancer.* 1993;53:365-370
148. Esrig D, Elmajian D, Groshen S, et al. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N. Engl. J. Med.* 1994;331:1259-1264
149. Lipponen PK. Over-expression of p53 nuclear oncoprotein in transitional-cell bladder cancer and its prognostic value. *Int. J. Cancer.* 1993;53:365-370
150. Lacombe L, Dalbagni G, Zhang ZF, et al. Overexpression of p53 protein in a high-risk population of patients with superficial bladder cancer before and after bacillus Calmette-Guerin therapy (correlation to clinical outcome). *J. Clin. Oncol.* 1996;14:2646-2652
151. Stein JP, Ginsberg DA, Grossfeld GD, et al. Effect of p21WAF1/CIP1 expression on tumor progression in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90:1072-1079
152. Parker SB, Eichele G, Zhang P, et al. p53-independent expression of p21Cip1 in muscle and other terminally differentiating cells. *Science.* 1995;267:1024-1027
153. M.D. L. Nakopoulou C. Constantinides, M.D.J. Papandropoulos, M.D. G. Theodoropoulos, D.M.Sc. A. Tzonou M.D. A. Giannopoulos M.D. A. Zervas, M.D. C. Dimopoulos Evaluation of overexpression of p53 tumor suppressor protein in superficial and invasive transitional cell bladder cancer: Comparison with dna ploidy
154. Ruas M, Peters G. The p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor and its relatives. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998;1378:F115-F177
155. Quelle DE, Zindy F, Ashmun RA, Sherr CJ. Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. *Cell.* 1995;83:993-1000

- 156.**Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.* 1989;49:4682-4689
- 157.**Hirai H, Roussel MF, Kato JY, Ashmun RA, Sherr CJ. Novel INK4 proteins, p19 and p18, are specific inhibitors of the cyclin D-dependent kinases CDK4 and CDK6. *Molecular & Cellular Biology.* 1995;15:2672-2681
- 158.**Bedelbaeva K, Snyder A, Gourevitch D, Clark L, Zhang X-M, Leferovich J, Cheverud JM, Lieberman P, Heber-Katz E (March 2010). "Lack of p21 expression links cell cycle control and appendage regeneration in mice". *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107** (11): 5845-50.
- 159.**Tsihlias J, Kapusta L, Slingerland J. The prognostic significance of altered cyclin-dependent kinase inhibitors in human cancer. *Annu. Rev. Med.* 1999;50:401-423
- 160.**Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ (November 1993). "The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases". *Cell* **75** (4): 805-16.
- 161.**Gartel AL, Radhakrishnan SK (May 2005). "Lost in transcription: p21 repression, mechanisms, and consequences". *Cancer Res.* **65** (10): 3980-5.
- 162.**Dolezalova D, Mraz M, Barta T, Plevova K, Vinarsky V, Holubcova Z, Jaros J, Dvorak P, Pospisilova S, Hampl A.. MicroRNAs regulate p21(Waf1/Cip1) protein expression and the DNA damage response in human embryonic stem cells.. *Stem Cells.* 2012;7:1362-72.
- 163.**Rodriguez R, Meuth M (January 2006). "Chk1 and p21 cooperate to prevent apoptosis during DNA replication fork stress". *Mol. Biol. Cell* **17** (1): 402-12.
- 164.**Liukkonen T, Lipponen P, Raitanen M, et al. Evaluation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 expression in the progression of superficial bladder cancer. *Finbladder Group. Urol Res.* 2000;28:285-292
- 165.**Lipponen P, Aaltomaa S, Eskelinen M, Ala-Opas M, Kosma VM. Expression of p21(waf1/cip1) protein in transitional cell bladder tumours and its prognostic value. *Eur Urol.* 1998;34:237-243

166. Toyoshima H, Hunter T. p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell*. 1994;78:67-74

167. Polyak K, Lee MH, Erdjument-Bromage H, Koff A, Roberts JM, Tempst P, Massague J (August 1994). "Cloning of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals". *Cell* **78** (1): 59-66.

168. Fero ML, Rivkin M, Tasch M, Porter P, Carow CE, Firpo E, Polyak K, Tsai LH, Broudy V, Perlmutter RM, Kaushansky K, Roberts JM (May 1996). "A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27(Kip1)-deficient mice". *Cell* **85** (5): 733-44.

169. Kiyokawa H, Kineman RD, Manova-Todorova KO, Soares VC, Hoffman ES, Ono M, Khanam D, Hayday AC, Frohman LA, Koff A (May 1996). "Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27(Kip1)". *Cell* **85** (5): 721-32.

170. Nakayama K, Ishida N, Shirane M, Inomata A, Inoue T, Shishido N, Horii I, Loh DY, Nakayama K (May 1996). "Mice lacking p27(Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors". *Cell* **85** (5): 707-20.

171. Klopffleisch R, Gruber AD. (January 2009). "Differential expression of cell cycle regulators p21, p27 and p53 in metastasizing canine mammary adenocarcinomas versus normal mammary glands". *Res Vet Sci*. **87** (1): 91-6.

172. Klopffleisch R, Schütze M, Gruber AD. (September 2010). "Loss of p27 expression in canine mammary tumors and their metastases". *Res Vet Sci*. **88** (2): 300-3.

173. Klopffleisch R, Schütze M, Gruber AD. (October 2009). "Downregulation of transforming growth factor β (TGF β) and latent TGF β binding protein (LTBP)-4 expression in late stage canine mammary tumours". *Veterinary Journal* **186** (3): 379-84

174. Klopffleisch R, von Euler H, Sarli G, Pinho SS, Gärtner F, Gruber AD. (2010). "Molecular Carcinogenesis of Canine Mammary Tumors: News From an Old Disease". *Veterinary Pathology* **228** (1): 98-116.

175. Lee CC, Ichihara T, Yamamoto S, Wanibuchi H, Sugimura K, Wada S, Kishimoto T, Fukushima S. Reduced expression of the CDK inhibitor p27(KIP1) in rat two-stage bladder carcinogenesis and its association with expression profiles of p21(WAF1/Cip1) and p53.
176. Del Pizzo JJ, Borkowski A, Jacobs SC, Kyprianou N. Loss of cell cycle regulators p27(Kip1) and cyclin E in transitional cell carcinoma of the bladder correlates with tumor grade and patient survival. *Am. J. Pathol.* 1999;155:1129-1136
177. Kamai T, Takagi K, Asami H, Ito Y, Oshima H, Yoshida KI. Decreasing of p27(Kip1) and cyclin E protein levels is associated with progression from superficial into invasive bladder cancer. *Br. J. Cancer.* 2001;84:1242-1251
178. Korkolopoulou P, Christodoulou P, Konstantinidou AE, et al. Cell cycle regulators in bladder cancer (a multivariate survival study with emphasis on p27Kip1). *Hum. Pathol.* 2000;31:751-760
179. Porter PL, Malone KE, Heagerty PJ, et al. Expression of cell-cycle regulators p27Kip1 and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival in young breast cancer patients. *Nature Medicine.* 1997;3:222-225
180. Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung YC, et al. Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 protein (prognostic implications in primary breast cancer). *Nature Medicine.* 1997;3:227-230
181. Tsihlias J, Kapusta LR, DeBoer G, et al. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Research.* 1998;58:542-548
182. Esposito V, Baldi A, De Luca A, et al. Prognostic role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in non-small cell lung cancer. *Cancer Research.* 1997;57:3381-3385
183. Juan G, Cordon-Cardo C. Intranuclear compartmentalization of cyclin E during the cell cycle (disruption of the nucleoplasm-nucleolar shuttling of cyclin E in bladder cancer). *Cancer Res.* 2001;61:1220-1226

- 184.**Burton PBJ, Anderson CJ, Corbishly CM. Caspase 3 and p27 as predictors of invasive bladder cancer. *N. Engl. J. Med.* 2000;343:1418-1420
- 185.**Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, et al. Cyclin D1 expression in papillary superficial bladder cancer (its association with other cell cycle-associated proteins, cell proliferation and clinical outcome). *Int. J. Cancer.* 2002;97:671-678
- 186.**Scholzen T, Endl E, Wohlenberg C, van der Sar S, Cowell IG, Gerdes J, et al. The Ki-67 protein interacts with members of the heterochromatin protein 1 (HP1) family: a potential role in the regulation of higher-order chromatin structure. *J Pathol* 2002;196:135-144.
- 187.**Oosterhuis JW, Schapers RF, Janssen-Heijnen ML, Smeets AW, Pauwels RP. MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder: clinical significance and comparison with other prognostic factors. *Cancer* 2000;88:2598-2605.
- 188.**Santos L, Amaro T, Costa C, Pereira S, Bento MJ, Lopes P, et al. Ki-67 index enhances the prognostic accuracy of the urothelial superficial bladder carcinoma risk group classification. *Int J Cancer* 2003;105:267-272.
- 189.**Suwa Y, Takano Y, Iki M, Asakura T, Noguchi S, Masuda M. Prognostic significance of Ki-67 expression in transitional cell bladder carcinoma after radical cystectomy. *Pathol Res Pract* 1997;193:551-556.
- 190.**Tim B. Menke, Katrin Boettcher, Stefan Krüger, Ingo Kausch, Andreas Boehle, Georg Sczakiel and Jens M. Warnecke. Ki-67 Protein Concentrations in Urothelial Bladder Carcinomas Are Related to Ki-67-Specific RNA Concentrations in Urine
- 191.**Andriy O. Yurakh, David Ramos, Silvia Calabuig-Fariñas, José Antonio López-Guerrero José Rubio, Eduardo Solsona, Alina M. Romanenko, Alexander F. Vozianov, Antonio Pellin, Antonio Llombart-Bosc. Molecular and Immunohistochemical Analysis of the Prognostic Value of Cell-Cycle Regulators in Urothelial Neoplasms of the Bladder
- 192.**P Törzsök, P Riesz, I Kenessey, E Szekely, A Somoracz, P Nyirády, I Romics, Z Schaff, G Lotz, A Kiss *Eur J Cancer* (2011), Claudins and Ki-67 -

Potential Markers to Differentiate Low and High Grade Transitional Cell Carcinomas of the Urinary Bladder

193.Ogata DC, Marcondes CA, Tuon FF, Busato WF Jr, Cavalli G, Czczko LE.(2012) Superficial papillary urothelial neoplasms of the bladder (PTA E PT1): correlation of expression of P53, KI-67 and CK20 with histologic grade, recurrence and tumor progression.

194.Piaton E, Advenier AS, Carré C, Decaussin-Petrucci M, Mege-Lechevallier F, Ruffion A.p16(INK4a) /Ki-67 dual labelling as a marker for the presence of high-grade cancer cells or disease progression in urinary cytopathology. *Cytopathology* 2012 Sep25

195.Yang A, Kaghad M, Wang Y, Gillett E, Fleming MD, Dötsch V, Andrews NC, Caput D, McKeon F (September 1998). "p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities". *Mol. Cell* **2** (3): 305-16.

196.Osada M, Ohba M, Kawahara C, Ishioka C, Kanamaru R, Katoh I, Ikawa Y, Nimura Y, Nakagawara A, Obinata M, Ikawa S (July 1998). "Cloning and functional analysis of human p51, which structurally and functionally resembles p53". *Nat. Med.* **4** (7): 839-43.

197.Zeng X, Zhu Y, Lu H (February 2001). "NBP is the p53 homolog p63". *Carcinogenesis* **22** (2): 215-9.

198.Tan M, Bian J, Guan K, Sun Y (February 2001). "p53CP is p51/p63, the third member of the p53 gene family: partial purification and characterization". *Carcinogenesis* **22** (2): 295-300.

199.Wu G, Nomoto S, Hoque MO, Dracheva T, Osada M, Lee CC, Dong SM, Guo Z, Benoit N, Cohen Y, Rechthand P, Califano J, Moon CS, Ratovitski E, Jen J, Sidransky D, Trink B (May 2003). "DeltaNp63alpha and TAp63alpha regulate transcription of genes with distinct biological functions in cancer and development". *Cancer Res.* **63** (10): 2351-7.

200.Skipper M (January 2007). "Dedicated protection for the female germline". *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **8** (1): 4-5.

201.Crum CP, McKeon FD (2010). "p63 in epithelial survival, germ cell surveillance, and neoplasia". *Annu Rev Pathol* **5**: 349-71.

202. Deutsch GB, Zielonka EM, Coutandin D, Weber TA, Schäfer B, Hannewald J, Luh LM, Durst FG, Ibrahim M, Hoffmann J, Niesen FH, Sentürk A, Kunkel H, Brutschy B, Schleiff E, Knapp S, Acker-Palmer A, Grez M, McKeon F, Dötsch V (February 2011). "DNA damage in oocytes induces a switch of the quality control factor TAp63a from dimer to tetramer". *Cell* **144** (4): 566-76.

203. Rouleau M, Medawar A, Hamon L, Shivtiel S, Wolchinsky Z, Zhou H, De Rosa L, Candi E, de la Forest Divonne S, Mikkola ML, van Bokhoven H, Missero C, Melino G, Pucéat M, Aberdam D (September 2011). "TAp63 is Important for Cardiac Differentiation of Embryonic Stem Cells and Heart Development". *Stem Cells* **29**: 1612-1683.

204. Su X, Paris M, Gi YJ, Tsai KY, Cho MS, Lin YL, Biernaskie JA, Sinha S, Prives C, Pevny LH, Miller FD, Flores ER (July 2009). "TAp63 prevents premature aging by promoting adult stem cell maintenance". *Cell Stem Cell* **5** (1): 64-75.

205. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC (March 2011). "Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences". *Nat. Rev. Genet.* **12** (3): 167-78.

206. Shiran MS, Tan GC, Sabariah AR, Rampal L, Phang KS (March 2007). "p63 as a complementary basal cell specific marker to high molecular weight-cytokeratin in distinguishing prostatic carcinoma from benign prostatic lesions". *Med. J. Malaysia* **62** (1): 36-9.

207. Shalom Feuerstein R. et al. Impaired epithelial differentiation of induced pluripotent stem cells from EEC patients is rescued by APR-246/PRIMA-1MET. P.N.A.S 2012.

208. Marshall J. Urist, Charles J. Di Como, Ming-Lan Lu, Elizabeth Charytonowicz, David Verbel, Christopher P. Crum, Tan A. Ince, Frank D. McKeon, and Carlos Cordon-Cardo Loss of p63 Expression Is Associated with Tumor Progression in Bladder Cancer *Am J Pathol.* 2002 October; 161(4): 1199-1206.

209. Orit Karni-Schmidt, Mireia Castillo-Martin, Tian Huai Shen, Nataliya Gladoun, Josep Domingo-Domenech, Marta Sanchez-Carbayo, Yingchun Li, Scott Lowe, Carol Prives, and Carlos Cordon-Cardo. Distinct Expression

Profiles of p63 Variants during Urothelial Development and Bladder Cancer Progression *Am J Pathol.* 2011 March; 178(3): 1350-1360.