Archive of SID

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ نهم، شمارهٔ ۳، ص ۱۲۱-۱۱٤، ۱۳۸۱

مقالهٔ

پژوهشی

مطالعه میزان DNA سلولی در سرطان ترانزیشنال مثانه و ارتباط آن با گریدینگ تومور

دکتر سیمین ترابی نژاد[1] و دکتر سیده زینب سهرابی ۲

خلاصه

ترانزیشنال سل کارسینومای (TCC) مثانه توموری است که از نظر رفتار بیولوژیک غیر قابل پیش بینی بوده و روش‌های مورفولوژیک گریدینگ این تومور برای مشخص نمودن سیر بالینی آن به تنهایی کافی نیستند. هدف از این مطالعه بررسی رابطه بین grading و staging پاتولوژیک و مقدار DNA سلولی به خصوص در تومورهای گرید II(IIa,IIb) است که حالت حد فاصل دارند. در این مطالعه گذشته نگر که بر روی ۳۰ نمونه از بیماران با TCC مثانه انجام گرفت، مقدار DNA سلول های تومورال به وسیله دستگاه فلوسیتومتری اندازه‌گیری شد و نتایج آن با grade ، stage و دیگر شاخص‌های مورفولوژیک از جمله تهاجم تومور به عروق خونی، لنفاوی و اعصاب مقایسه گردید. رابطه مثبت و معنی داری بین گرید تومور و DNA پلوئیدی وجود داشت (P<۰ /۰۰۳) .همچنین در تومورهای گرید **II** که به دو دسته b و a تقسیم شده بودند، بین زیر گروه‌ها و مقدار DNA رابطه معنی داری برقرار بود (P<۰ /۰۰۳). stage تومور و مقدار DNA رابطه معنی داری با هم داشتند (P<۰ /۰۰۳). و مقدار DNA سلولی با شاخص‌هایی نظیر تهاجم تومور به عروق خونی، لنفاتیک و اعصاب از رابطه معنی داری برخوردار بود (P<۰ /۰۰۸). مقدار DNA سلولی در TCC مثانه در تعیین پیش آگهی مفید بوده و به خصوص در گرید **II** به عنوان یک روش مکمل همراه با گریدینگ و staging در مشخص نمودن سیر بالینی بیماری کاربرد خواهد داشت. در مراکزی که امکان اندازه‌گیری مقدار DNA سلولی وجود ندارد، استفاده دقیق از شاخص‌های مورفولوژیک برای گریدینگ تومورهای مثانه تا حدی در تعیین پیش آگهی تومور کمک کننده است.

واژه‌های کلیدی: سرطان ترانزیشنال، مثانه، درجه بدخیمی، میزان DNA ، فلوسیتومتری

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ترانزیشنال سل کارسینوما (TCC) شایع‌ترین تومور مثانه را تشکیل می‌دهد. این تومور پنجمین سرطان شایع انسانی نیز می‌باشد
(۲۲). تعیین پیش آگهی TCC از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و نوع درمان بر اساس آن متفاوت می‌باشد. تعیین شدت بدخیمی بر اساس شاخص‌های هیستومورفولژی و staging بالینی و پاتولوژی بیماری اهمیت فراوانی دارد (۱۰). در TCC مثانه با وجود ارزش غیر قابل انکار سیستم‌های گریدینگ و staging در پیش‌بینی دوره بالینی عوامل دیگری هم وجود دارد که نحوه برخورد با این تومور را پیچیده می‌سازد. بر اساس اظهار نظر بعضی از محققین تومورهای TCC مثانه هتروژن بوده و سیر بالینی غیر قابل پیش‌بینی دارند به خصوص تومورهای گرید **II** در تقسیم‌بندی WHO یک گروه یکنواخت نبوده و تعدادی از آنها تمایل به رفتار تهاجمی دارند و بنابر این از نظر رفتاری به گرید **III** نزدیک‌تر می‌باشند در حالی که بعضی دیگر از نظر رفتار بیولوژیک به تومورهای گرید I شباهت بیشتری دارند. در نتیجه گریدینگ هیستومورفولوژیک مرسوم به تنهایی نمی‌تواند سیر بالینی این دسته از تومورها را پیش بینی نماید (۲۲ , ۱۷). به تدریج برای رفع این نقیصه روش‌های دیگری مانند استفاده از سیتوژنتیک و مطالعه کروموزمی، مورفومتری هسته‌ای،

۱اندازه‌گیری اندکس‌های پرولیفراتیو نظیر (PKi67) و سپس اندازه‌گیری میزان DNA مورد استفاده قرار گرفته است (۱۸ ,۱۰, ۵). اندازه‌گیری میزان DNA امروزه در پیش‌بینی سیر بالینی و پیش آگهی تومورهای مثانه و احتمال عود آنها به کار می‌رود. مقالات مختلفی ارتباط بین آناپلوئیدی تومور و بالا رفتن گرید و stage تومور را نشان داده‌اند (۲۲ , ۱۵ , ۷ , ۵ , ۲).

در این مطالعه ما با بررسی شاخص‌های هیستومورفولوژیک و اندازه‌گیری DNA سلولی در پی یافتن ارتباط بین گرید (خصوصاً با تأکید بر گرید II)، stage تومور و میزان DNA سلولی بوده‌ایم.

روش کار

مطالعه حاضر بر روی نمونه‌های Transurethral resecstion مثانه از ۳۰ بیمار انجام گرفت که در فاصله شهریورماه ۱۳۷٦ تا مرداد ماه ۱۳۷۸ به اورولوژیست مراجعه کرده بودند و نمونه بیوپسی آن‌ها به بخش پاتولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز ارسال شده بود. از بافت ارسالی تومور این بیماران بر حسب اندازه بین ۱ تا ۷ بلوک پارافینی تهیه و اسلایدهای میکروسکوپی به ضخامت ٦-۵ میکرون از بلوک‌ها فراهم گردید و با رنگ‌آمیزی H&E رنگ شدند. تمامی اسلایدهای میکروسکپی این بیماران مجدداً بازبینی و بر طبق سیستم WHO (البته با تغییر جزئی که توسط Pauwel ارائه شده است) گریدبندی گردید (۱۷ , ۱۰). اساس گرید بندی به شرح زیر بود:

www.SID.ir

Archive of SID

Grade I : از نظر ظاهری این تومورها به صورت زواید انگشتی کوچک، نرم و صورتی بوده و در بررسی میکروسکپی از پاپیلاهای منظم با ساقه همبندی عروقی ظریف تشکیل شده‌اند که تعداد ۷ لایه یا بیشتر از سلول‌های ترانزیشنال شبیه به نرمال آن را می‌پوشاند. سلول‌ها از نظر پلاریتی نرمال هستند و نسبت به حالت طبیعی کمی بزرگتر شده و میتوز به ندرت دیده می‌شود.

Grade II : این تومورها در بررسی ماکروسکپی قوام سفت‌تری داشته و ممکن است به صورت توده‌ای پایه‌دار یا بدون پایه باشند. از نظر میکروسکپی به دو زیر گروه b و a تقسیم می‌شوند.

Grade IIa : ساختمان نرمال تا حدودی به هم خورده، تعداد لایه‌ها افزایش یافته ولی هنوز آتیپی سلولی چشمگیر نیست. هسته سلول‌ها اختلاف اندازه کمی داشته و پلاریتی سلول‌ها حفظ شده است.

Grade IIb : اختلاف اندازه سلول‌ها زیاد است، شکل آنها با یکدیگر متفاوت بوده و پلاریتی هم به مقدار قابل توجهی به هم خورده است.

Grade III : از نظر ظاهری این تومورها بیشتر خود را به صورت توده‌های بدون پایه گل کلمی با مناطقی از خونریزی و نکروز نشان می‌دهند. در بررسی میکروسکپی آتیپی هسته خیلی شدید است. ساختمان نرمال کاملاً از بین رفته است و سلول‌ها حالت جدا از هم (discohesive) پیدا کرده‌اند. میتوزهای آتیپیک به وفور دیده می‌شوند. و مناطق نکروز و تهاجم به بافت‌های اطراف هم فراوان است.

در مرحله بعدی تومورها با استفاده از سیستم American Joint Commission for Cancer/Union. International Contre Le Cancer (AJCC/UICC) از Stage Ta تا T4 دسته بندی شدند. پس از آن در هر نمونه وجود یا عدم تمایزسنگفرشی (squamous differentiation) ، تمایز غددی و طرح سارکوماتوس بررسی شد. دیگر پارامترهای مورد بررسی در این مطالعه تهاجم تومور به عروق خونی، لنفاوی و اعصاب موجود در اطراف تومور بود. در تومورهایی که دارای بافت نرمال هم بودند وجود یا عدم کارسینومای در جا و وجود سلول‌های التهابی در اطراف تومور هم مورد توجه قرار گرفت (۱۱،۱۹). در مرحله بعد برای اندازه‌گیری DNA سلولی به وسیله روش فلوسیتومتری ابتدا از بلوک‌های پارافینی برش هایی به ضخامت ۱۰ تا ۲۰ میکرون تهیه شد و مراحل آماده سازی اندازه‌گیری DNA به شرح زیر انجام شد:

۱- مرحله پارافین زدایی (Deparafinization) : که با استفاده از زیلول (Xylol) به مدت ۲٤ ساعت (هر ٦ ساعت یک بار تعویض انجام می‌شد) تمام پارافین جدا می‌شد.

۲- مرحله آب دهی (Rehydration) : با استفاده از الکل‌های نزولی، دو بار الکل مطلق و یک بار به ترتیب از الکل‌های ۷۰، ۹٦، ۳۰، ۵۰ و هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد سپس به بافت آب مقطر اضافه گشت و به مدت ۲٤ ساعت در یخچال قرار داده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

۳- مرحله هضم آنزیمی (Enzyme digestion) : در این مرحله که دو ساعت به طول انجامید از محلول ۱٪ پپسین با PH ۱/۵ استفاده شد و در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت . هر ده دقیقه یک بار محتویات لوله با استفاده از دستگاه mixer جهت افزایش اثر آنزیم پپسین مخلوط می‌شد. در پایان این مرحله سلول‌ها به صورت جدا از هم در آمدند.

٤- مرحله فیلتراسیون (Filteration) : در این مرحله با استفاده از بافر tris محلول از فیلترهای نایلونی عبور داده شد.

۵- رنگ‌آمیزی (DNA staining) : به محلول به دست آمده ۰/۵ میلی لیتر RNA ase و۰/۵ میلی‌لیتر رنگ فلوروکروم Propidum Iodine اضافه شد و به مدت نیم ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این مرحله RNA باعث از بین رفتن RNA داخل هسته شده و از تداخل در اندازه‌گیری DNA جلوگیری می‌نماید. در نهایت با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری Coulter-Epics-Profile II حداقل DNA در10^4 سلول اندازه‌گیری شد. از بافت غده لنفاوی نرمال انسان جهت کنترل داخلی استفاده شد. پس از به دست آوردن منحنی‌های DNA سلولی کلیه اطلاعات بر اساس تست مجذور کای (Chi Square) ، آزمون دقیق فیشر (Fisher exact test) و آزمون رگرسیون (Regression) تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

قسمت اول: نتایج بررسی‌های سیتومرفولوژیک

از ۳۰ نمونه مورد مطالعه ۲٦ عدد مربوط به مردان و ٤ عدد مربوط به زنان بود. از نظر گریدینگ، ۲ مورد گرید ۱(۷ / ٦٪)، ١٤ مورد گرید IIa (۷ / ٤٦٪)، ۷ مورد گرید IIb (۳ / ۲۳٪) و ۷ نمونه در گرید III (۳ / ۲۳٪) قرار گرفتند (تصویرهای ۱،۲،۳و٤).

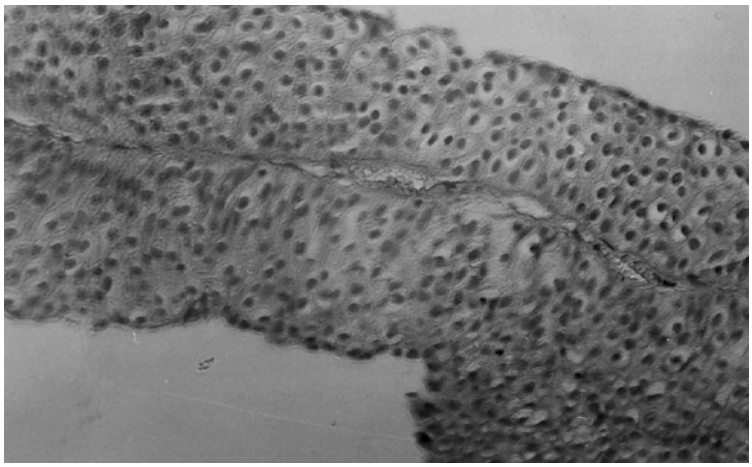
از نظر staging ، ۲ مورد در stage Ta (۷ / ٦٪)، ۱۷ مورد در stage T1 (۷ / ٥٦٪)، ۱ مورد در stage T2 (۳ / ۳٪)، ۵ مورد در stage T3 (۷ / ١٦٪) و ۵ مورد در stage T4 (۷ / ١٦٪) قرار داشتند (جدول ۱).

از نظر آماری بین بالا رفتن گرید و stage در این تومورها رابطه معنی داری وجود داشت (P<۰/۰۰۳) . تمایز سنگفرشی در ۷ مورد (۳ / ۲۳٪)دیده شد که یک مورد در گرید IIa ، سه مورد در گرید IIb و سه مورد در گرید III قرار داشتند (P =۰/۰٦) . تمایز غددی در ۵ مورد (١٦/۷٪) به چشم می‌خورد که ۳ مورد در گرید IIb و ۲ مورد در گرید III بودند (P =۰/۰٦). طرح سارکوماتوس در ٤ تومور (۳ / ۱۳٪) مشاهده شد که یک مورد در گرید IIa و سه مورد در گرید III قرار داشتند (P =۰/۰٦). تهاجم به عروق لنفاتیک در ۵۰٪ موارد (۱۵نمونه) وجود داشت. به این صورت که درگرید IIa سه مورد (٤ / ۱۲٪)، درگرید IIb پنج مورد (٤/ ۷۱٪) و در گرید III هفت مورد (۱۰۰٪) تهاجم به عروقِ لنفاتیک مشاهده شد (P< ۰/۰۰۲). تهاجم به عروق خونی در ۷ / ٤٦٪ موارد (١٤ بیمار) دیده شد. در گرید IIa ، سه مورد (٤ / ۲۱٪)، گرید IIb چهار مورد (۱ / ۵۷٪) و

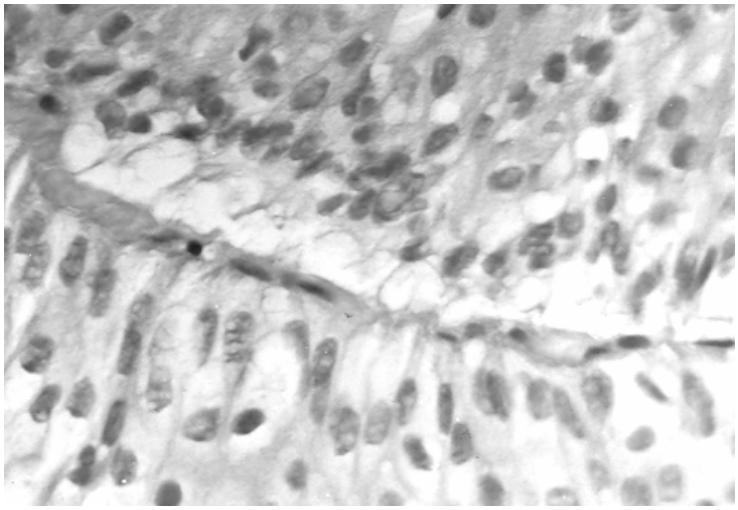
www.SID.ir

Archive of SID

در گرید III ، هفت مورد (۱۰۰٪) گزارش شد (P< ۰/۰۰۵). تهاجم تومور به اعصاب‌تنها در ۷ مورد (۳ / ۲۳٪) مشاهده شد. به این ترتیب که در گرید IIa یک مورد (۱ / ۷٪) و در گرید III شش مورد (۷ / ۸۵٪) دیده شد (P< ۰/۰۰۲). ارتشاح سلول‌های التهابی به خصوص لنفوسیت‌ها در اطراف تومور در ۲۸ مورد از ۳۰ نمونه (۹٤٪) دیده شد که بین ارتشاح سلول‌های التهابی و گرید رابطه معنی‌داری مشاهده نشد (P> ۰/۵). در ٦ مورد از نمونه‌ها مناطقی از مخاط مثانه با کارسینومای درجا (in situ) مشاهده گردید که از این تعداد یک مورد در گرید I ، یک مورد در گرید IIa ، سه مورد در گرید IIb بودند و در گرید III هیچ موردی مشاهده نگردید(۳/ ۰ P =). به نظر می‌رسد در اغلب نمونه‌های گرید III به دلیل وسعت و انتشار تومور مخاط عاری از تومور کمتر مشاهده می‌گردد.



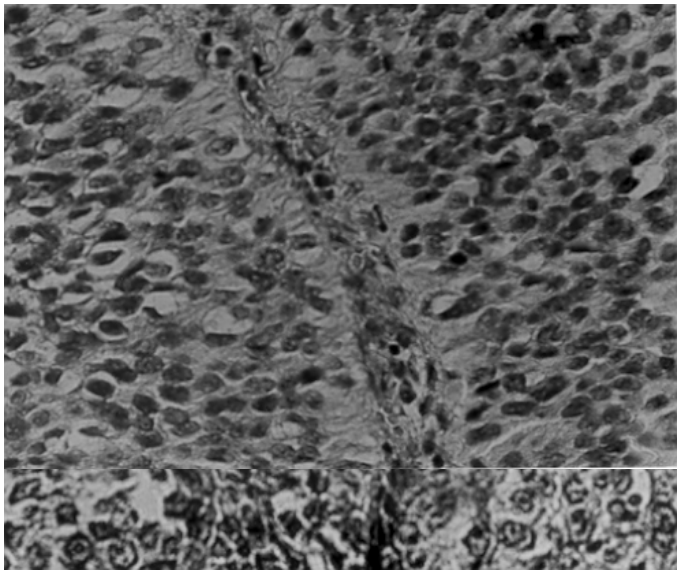
شکل ۱: *ترانزیشنال سل کارسینوما گرید* **I** (**H.E** ٤۰۰*)



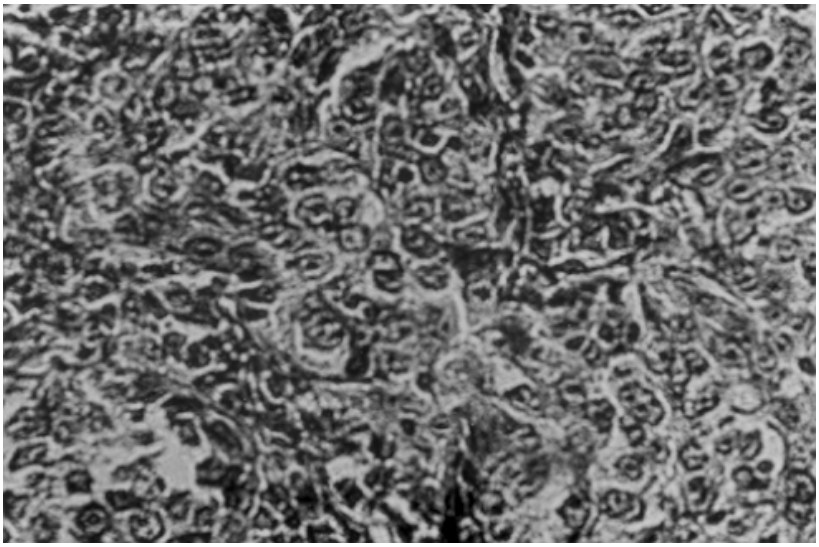
شکل ۲: *ترانزیشنال سل کارسینوما گرید* **II a** (**H.E** ٤۰۰*)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: *ترانزیشنال سل کارسینوما گرید* **II b**



شکل ٤: *ترانزیشنال سل کارسینوما گرید* **III**

قسمت دوم: نتایج حاصله از اندازه‌گیری DNA سلولی :

www.SID.ir

Archive of SID

از سی نمونه بررسی شده در ۱۸ مورد (٦٠٪) DNA سلولی به صورت دیپلوئید و در ۱۲ مورد (٤٠٪) به صورت آناپلوئید گزارش

جدول ۱: *توزیع فراوانی نمونه‌ها بر اساس* Stage و Grade *تومور*

مرحله (stage) / درجه (grade)	Ta	T1	T2	T3	T4	جمع
I	–	۳/۳	۳/۳	–	–	٪٦/۷
IIa	۳/۳	٤۰	–	۳/۳	–	٤٦/۷
IIb	۳/۳	۱۳/۳	–	٦/۷	–	۲۳/۳
III	–	–	–	٦/۷	۱٦/۷	۲۳/۳
جمع	٦/۷	٥٦/۷	۱٦/۷	۱٦/۷	۱٦/۷	٪۱۰۰

جدول ۲: *رابطه بین گرید تومور و* DNA *پلوئیدی*

DNA / **درجه** (grade)	**دیپلوئید**	**آناپلوئید**	**جمع**

www.SID.ir

Archive of SID

I	۲(٪۱۰۰)	–	۲ (٪٦ /۷)
IIa	۱۲ (٪ ۸۵/ ۷)	۲ (٪۱٤/ ۳)	۱٤ (٪٤۷ /۷)
IIb	٤ (٪۵۷ /۱)	۳ (٪٤۲ /۹)	۷ (٪۲۳ /۳)
III	–	۷ (٪ ۱۰۰)	۷ (٪۲۳ /۳)
جمع	۱۸ (٪ ٦۰)	۱۲ (٪ ٤۰)	۳۰ (٪ ۱۰۰)

جدول ۳. *رابطه بین* Stage *تومور و* DNA *پلوئیدی*

DNA / **درجه** (grade)	**دیپلوئید**	**آناپلوئید**	**جمع**
Ta	۱ (٪ ۵۰)	۱ (٪ ۵۰)	۲ (٪٦ /۷)
T1	۱٤ (٪۸۲ /٤)	۳ (٪۱۷ /٦)	۱۷ (٪۵٦ /۷)
T2	–	۱ (٪ ۱۰۰)	۱ (٪۳ /۳)
T3	۲ (٪ ٤۰)	۳ (٪ ٦۰)	۵ (٪۱٦ /۷)
T4	–	۵ (٪ ۱۰۰)	۵ (٪۱٦ /۷)
جمع	۱۷ (٪ ۵٦)	۱۳ (٪ ٤٤)	۳۰ (٪ ۱۰۰)

جدول ٤. *رابطه* DNA Polidy *با تمایز سنگفرشی، غددی، طرح سارکوماتوس و تهاجم به عروق خونی لنفاتیک و اعصاب*

DNA / مشخصه تومور			**Pvalue**

www.SID.ir

Archive of SID

	دیپلوئید	آناپلوئید	
تمایز سنگفرشی	۳	٤	۰/ ۳۹
تمایز غددی	۱	٤	۰/ ۲
طرح سارکوماتوس	۱	۳	۰/ ۱٦
تهاجم عروق لنفاتیک	٥	۱۰	۰/ ۰۰۹
تهاجم به دور عصب	٤	۱۰	۰/ ۰۰۰۸
تهاجم به عروق خونی	۰	۷	۰/ ۰۰۳

گردید. گرید I شامل دو نمونه بود و هر دو مورد DNA دیپلوئید داشتند. در زیر گروه‌های گرید II (۷۰٪ نمونه‌ها) میزان DNA به صورت هتروژن توزیع شده بود. در گرید IIa از مجموع ١٤ نمونه ١٢ مورد (٧ / ٨٥٪) به صورت دیپلوئید و ٢ مورد در جداول ٣ و ٤ رابطه بین stage و سایر شاخص‌های سیتومورفولوژیک با DNA ploidy نشان داده شده است.

(١٤/٣٪) آناپلوئید بودند. در گرید IIb از کل ٧ نمونه ٤ مورد (٥٧/١٪) دیپلوئید و ٣ مورد (٤٢/٩٪) آناپلوئید بودند. در گرید III هـر ٧ نمونه (١٠٠٪) به صـورت آناپلوئید ظاهر شدند. در تمامی مـوارد رابطه معنی داری بین DNA پلوئیدی و گـرید مشاهده گردید
(P<۰ /۰٥). (جدول٢).

بحث

تومورهای مثانه به خصوص ترانزیشنال سل کارسینوما (TCC) همواره یکی از مباحث بحث برانگیز از نظر بیولوژی و بالینی بوده‌اند یکی از علل توجه زیاد به TCC مثانه شیوع نسبتاً بالای آن و تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی در ایجاد آن می‌باشد (١٨ , ١٠ ,٦ , ٥ , ٣). به همین جهت یافتن روش‌هایی برای پیش بینی سیر بالینی تومورهای ترانزیشنال مثانه می‌تواند در انتخاب نوع درمان برای هر بیمار مؤثر باشد. مانند سایر تومورهای بدخیم انسانی ارزش گریدینگ و staging هیستوپاتولوژیک در نشان دادن سیر بالینی این تومورها بسیار حائز اهمیت است (٨ , ٤). به همین جهت از ابتدای قرن بیستم چندین سیستم گریدینگ با معیارهای نسبتاً متفاوت برای این تومورها پیشنهاد شد که تعدادی از آنها مورد استفاده مراکز علمی مختلف قرار گرفت ولی به دلیل عدم هماهنگی در سال ١٩٦٥ عده‌ای از دانشمندان عضو سازمان بهداشت جهانی (WHO) یک سیستم واحد جهانی را پایه گذاری نموده و بر اساس آن تومورهای ترانزیشنال مثانه را به سه گرید تقسیم کردند. این تقسیم‌بندی بر اساس افزایش سلولاریتی، به هم خوردن نظم و پلاریتی سلول‌ها، از بین رفتن تمایز سلول‌ها از لایه بازال به طرف سطح، پلومرفیسم، نامنظم شدن شکل و اندازه هسته، تغییر در شکل کروماتین و وجود میتوز صورت گرفت (١٤). با

www.SID.ir

Archive of SID

وجود این یک مشکل اساسی در مورد تومورهای گرید II مشاهده شد به این ترتیب که به نظر می‌رسید تومورهای این گروه هتروژن بوده و همهٔ آنها رفتار بیولوژی یکسانی ندارند. بنابر این پاول و همکاران در سال ۱۹۸۸ بر اساس میزان پلومورفیسم سلول‌ها و بر هم خوردن پلاریتی آنها را به دو زیر گروه IIa و IIb تقسیم نمودند (۱۷ , ۱۵ , ۱۳). علاوه بر گریدینگ شاخصِ staging پاتولوژیک که نشان دهنده عمق تهاجم تومور می‌باشد در تعیین پیش آگهی تومور مؤثر است (۱۹ , ۱۰). تهاجم به عروق خونی و لنفاتیک، تهاجم به دور عصب، وجود تمایز سنگفرشی و طرح سارکوماتوس نیز از عوامل مؤثر در تعیین سیر بالینی بیماری به شمار می‌روند (۱٦ , ۹ , ۱) ولی یکی از مشکلات اساسی ناهمگون بودن تومورهای ترانزیشنال خصوصاً در گرید II است. به همین جهت به نظر می‌رسد که استفاده از روش‌های دیگر نظیر تعیین میزان DNA سلول‌های تومورال روش دقیق‌تری برای بررسی پتانسیل بدخیمی یک تومور است (۲۲ , ۲۱ , ۱۸ , ۱۳ , ۱۲ , ۸ , ۵). در اکثر مطالعاتی که در این زمینه انجام شده است غالباً ارتباط قابل قبولی بین DNA ploidy ، گرید، Stage و طول عمر بیماران به دست آمده است.

Tribukait و همکاران در سال ۱۹۸۲ اندازه‌گیری DNA را به روش فلوسیتومتری بر روی ۱۰۰ بیمار با تومور اولیه مثانه انجام دادند. در این مطالعه حدود ٤۰٪ تومورهای Stage T1 ، از نظر DNA آناپلوئید بودند در حالی که در stage های بالاتر همهٔ تومورها آناپلوئید بودند. از نظر گریدینگ کلیه تومورهای گرید I در این تحقیق دیپلوئید و تمامی تومورهای گرید III آناپلوئید بودند. در حالیکه $\frac{2}{3}$ تومورهای گرید II دیپلوئید و $\frac{1}{3}$ آن‌ها آناپلوئید گزارش شدند (۲۱).

در سال ۱۹۸۸، پاول و همکاران با توجه به هتروژن بودن تومورهای گرید II ، آنها را به دو دسته تقسیم کرده و میزان DNA را در ۹۱ بیمار اندازه‌گیری نمودند. در مطالعه آنها ۳۳٪ از مواردی که به عنوان گرید IIb تقسیم شده بودند آناپلوئید و ٦۷٪ که گرید IIa بودند دیپلوئید گزارش شدند در حـالیکه همهٔ تومورهای گرید III به جـز یک مورد آناپلوئید و کلیه تومورهای گـرید I دیپلوئید بودند (۱۷).

Blomjous و همکارن هم در مقاله‌ای که در سال ۱۹۸۹ انتشار یافت با مطالعه بر روی ۸۰ بیمار با TCC مثانه به این نتییجه رسیدند که DNA فلوسیتومتری یا مورفومتری هسته حساسیت بیشتری برای پیش بینی احتمال عود تومور و طول عمر بیمار در مقایسه با گرید و stage تومور دارند (۵).

آل آبادی و همکاران در سال ۱۹۹٤ ارتباط مستقیمی را بین گرید و Stage تومور و DNA پلوئیدی به دست آوردند. در این مطالعه ۸۹٪ بیماران با گرید I دیپلوئید بودند در حالی که ۷۳٪ تومورهای گرید III به صورت آناپلوئید ظاهر شدند. اما گرید II به صورت یک گروه هتروژن بروز نمود که ٤۲٪ آنها آناپلوئید و ۵۸٪ دیپلوئید یا تتراپلوئید بودند. آنها عنوان نمودند که تومورهای گرید II را می‌توان از نقطه نظر بیولوژیک به دو دسته تقسیم نمود. در همین مطالعه ۳۸٪ از بیماران در stage T1 ، ٦٤٪ در stage T2 و ۸۵٪ در T3 stage ، DNA

www.SID.ir

Archive of SID

آناپلوئید داشتند. آنها با پی‌گیری بیماران برای ۹-۱ سال موردی از تهاجم موضعی یا متاستاز در بیمارانی که تومور دیپلوئید داشتند مشاهده نکردند (۲).

Neulander و همکاران در سال ۱۹۹۷ عنوان نمودند که در گرید II رابطه بسیار خوبی بین آناپلوئیدی، بالا رفتن SPF و قدرت تهاجمی تومور وجود دارد و پیشنهاد شده است که باید DNA ploidy به عنوان یک تست مکمل در تومورهای گرید II به خصوص آنهایی که در stage Ta قرار دارند مورد استفاده قرار گیرد (۱۵).

در مطالعهٔ حاضر با استفاده از معیارهای پذیرفته شده توسط WHO نمونه‌ها گریدبندی و بر اساس نظریه پاول تومورهای گرید II به دو زیر گروه IIa,IIb تقسیم شدند. بیشترین تعداد نمونه‌ها در گرید IIa (٤٦٪) و کمترین تعداد مربوط به گرید I (۷ / ٦٪) بود. سپس بـا استفاده از سیستم AJCC/UICC تومورها stage بندی شدند. نتایج نشان می‌دهد بالا رفتن stage همیشه با بالا رفتن گرید همراه است (P<۰ /۰۳). همانطور که مشهود است تمامی بیماران گرید III در stage T4 قرار داشتند و هیچکدام از بیماران گرید I در stage T3 و T4 ، قرار نمی‌گرفتند. در مورد بیماران گرید II ، ۸۰٪ موارد گرید IIa در stage T1 بودند در حالی که فقط ۵۰٪ از موارد گرید IIb در stage T1 قرار ۲۵٪ آنها در Stage T3 قرار داشتند. بین گرید تومور و تهاجم به عروقِ خونی تهاجم به عروقِ لنفاتیک و تهاجم به اعصاب رابطه معنی داری دیده شد (P<۰ /۰۰۲) ، لذا وجود هر یک از این پارامترها نشان دهنده سیر تهاجمی تومور می‌باشد. اگر چه بین گرید تومور و تمایز سنگفرشی، غددی و طرح سارکوماتوس رابطه معنی داری به دست نیامد(P<۰ /۰٦) ، اما این موارد در گریدهای بالاتر به مقدار بیشتری دیده شدند. در بررسی ارتباط مقدار DNA سلول‌ها و گرید تومور می‌توان نتیجه گرفت که بین گرید تومور و DNA ploidy رابطه مثبتی وجود دارد (P<۰ /۰۰۳) . دو بیمار گرید I هر دو دیپلوئید بودند. در تومورهای گرید IIa فقط ۱٤/۳٪ نمونه‌ها و در گرید IIb ٤۲/۹٪ موارد آناپلوئید بودند. در اینجا می‌توان ادعا نمود که بین این نوع ساب تایپ کردن هیستومورفولوژیک و DNA ploidy رابطه معنی داری وجود دارد (P<۰ /۰۰۳) . لذا مشخص نمودن زیر گروه a و b در گرید II (که در بسیاری از مراکز انجام نمی‌گیرد) و توجیه نمودن پزشکان در این مورد که این دو زیر گروه از نظر خصوصیات بیولوژیک با هم متفاوتند و قاعدتاً باید درمان متفاوتی هم داشته باشند الزامی است. در گرید III ۱۰۰٪ بیماران ما DNA آناپلوئید داشتند (P<۰ /۰۰۳) و در مطالعات دیگر هم معمولاً درصد تومورهای آناپلوئید در این گرید بیشتر از ۷۵٪ بوده است (۲۱ , ۲۰ , ۸) در مقایسه‌ای که بین stage هیستوپاتولوژیک تومور و DNA ploidy انجام شد در stage Ta ، ۱۰۰٪ موارد دیپلوئید و در Stage های T4,T3,T2,T1 به ترتیب ٦ / ۱۷٪، ۱۰۰٪، ٦۰٪ و ۱۰۰٪ تومورها آناپلوئید بودند. در مطالعه Tribukait ارقام اخیر به ترتیب ۳/٦٪، ۱۰۰٪، ٦۰٪ و ۱۰۰٪ ذکر شدند (۲۱).

نتیجه‌گیری

www.SID.ir

Archive of SID

همچنانکه در این مطالعه مشخص شد DNA ploidy یکی از شاخص هایی است که رابطه مستقیمی با گرید و stage تومور دارد. به همین جهت اندازه‌گیری DNA سلولی و مشخص نمودن پلوئیدی تومور یکی از راه‌های ارزشمند در تعیین قدرت تهاجمی تومور می‌باشد. البته وجود این رابطه بیشتر در تومورهای گرید II که حالت حد واسط دارند و در یافتن زیر گروه‌های این گروه اهمیت پیدا می‌کند. زیرا همان طور که مطالعه مشخص نمود تومورهای گرید DNA,I دیپلوئید داشته و تومورهای گرید III همگی آناپلوئید بودند که این نشان دهنده سیر بالینی نسبتاً خوب در گرید یک و سیر تهاجمی در گرید سه می‌باشد. تومورهای گرید دو از نظر میزان DNA سلولی ناهمگون بوده و تومورهای گرید دو که از نظر پارامترهای هیستومورفولژیک در زیر گروه b قرار می‌گرفتند عمدتاً آناپلوئید بودند. ولی به طور کلی در مراکزی که دستگاه‌های مخصوص اندازه‌گیری DNA وجود ندارد بهره گرفتن صحیح و دقیق از معیارهای هیستومورفولژیک می‌تواند تا حد زیادی این دو زیر گروه را از هم جدا نماید. از طرف دیگر با توجه به رابطه معنی داری که بین شاخص‌های مورفولوژیک مانند تهاجم تومور به عروقِ خونی، لنفاوی و اعصاب با بالا رفتن گرید و stage و آناپلوئیدی وجود دارد دقت و توجه پاتولوژیست برای یافتن و ذکر آنها در گزارش نهایی می‌تواند کمک شایانی به پزشک معالج در انتخاب نحوه صحیح درمان نماید.

Summary

A Survey on the DNA Content in Transitional Cell Carcinoma of Bladder and its Relation with Histological Grading

Torabinejad S, MD 1 . and Sohrabi SZ, MD 2 .

1. Associate Professor of Pathology, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran. 2. Pathologist

Transitional cell carcinoma (T.C.C) of bladder display an upredictable biological behavior. Morphologic methods of grading this tumor are insuficient to predict the clinical outcome of the patients. The aim of this study was to investigate the relationships between histological grading, staging and DNA ploidy especially in intermediate grade II (IIa and IIb). In a retrospective study of tissue specimen in 30 patients with T.C.C of the bladder, we compared the results of histological grading, staging and other morphological criteria such as vascular, lymphatic and perineural invasion with DNA ploidy. DNA content was measured by flow cytometry. There was a good correlation between histological grading and DNA ploidy (P<0.003). Regarding TCC grade II (a,b). There was also a good relationship between morphologic criteria and DNA content (P<0.003). There was also a positive correlation between histopathologic staging and DNA content except in one case (P<0.003). We found a significant correlation between results of DNA cytometry and vascular, lymphatic and perineural invasion (P<0.0008). Flow cytometric determination of DNA content as a complementary method is valuable in predicting prognosis of TCC especially in grade II. The exact use of morphologic criteria for grading of TCC can be substituted for DNA content in the absence of flow cytometry for prediction of aggressive behavior in TCC.

www.SID.ir

Archive of SID

Key words: *Transitional cell carcinoma, Bladder, Grading, DNA content*
Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2002; 9(3): 114-121

References

١. Akdas A and Turkeri L. The impact of squamous metaplasia in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int Urol Nephrol* 1991; 23(4): 333-6.

٢. al-Abadi H and Nagel R. Deoxyribonucleic acid content and survival rates of patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 1994; 151(1): 37-42.

٣. Auerbach O and Grafinkel L. Histologic changes in the urinary bladder in relation to cigarette smoking and use of artificial sweeteners. *Cancer* 1989; 64(5): 983-987.

٤. Bell JT, Burney SW and Friedell GH. Blood vessele invasion in human bladder cance. *J Urol* 1971; 105(5): 675-678.

٥. Blomjous EC, Schipper NW, Baak JP, Vos W, De Voogt HJ and Meijer CJ. The value of morphometry and DNA flow cytometry in addition to classic prognosticators in superfacial urinary bladder carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1989; 91(3): 243-8.

٦. Cotran SR, Kumar V and Robbins LS: Robbins pathologic basis of disease. 5 th ed., WB sanders Co. 1993; PP 997.

٧. Farsund T, Hoestmark JG and Laerum OD. Relation between flow cytometric DNA distribution and pathology in human bladder cancer. *Cancer* 1984; 54(9): 1771-1777.

٨. Goulandris N, Karakitsos P, Georgoulakis J, Bellos C, Deliveliotis C and Legaki S. Deoxyribonucleic acid measurements in transitional celll carcinomas: Comparison of flow and image cytometry techniques. *J Urol* 1996; 156(3): 958-60.

٩. Grace DA and Winter CC. Mixed differentiation of primary carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 1968; 21(6): 1239-1243.

١٠. Grigone DJ. Neoplasm of the urinary bladder. In: Bosuick DG (ed.) Urologic surgical pathology. 1 st ed., Mosby year book, 1997; P 215.

١١. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, *et al.* Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *J Urol* 1983; 130(6): 1083-1086.

١٢. Koss LG, Czerniak B, Herz F and Wersto RP. Flow cytometric measurments of DNA and other cell components in human tumors: a critical appraisal. *Hum Pathol* 1989; 20(6): 528-48.

١٣. Lipponen PK, Collan Y, Eskelinen MJ, Pesonen E, Sotarauta M and Nordling S. Comparison of morphometry and DNA flow cytometry with standard prognostic factors in bladder cancer. *Br J Urol* 1990; 65(6): 589-97

١٤. Mostofi FK, Sobin LH and Toriani H. Histologic typing of urinary bladder tumors. Geneva 1973; World Health Organization.

www.SID.ir

Archive of SID

۱۵. Neulander E, Kaneti J, Chaimovitz C, Sion-Vardy N and Douvdevani A. Deoxyribonucleic acid ploidy and the clinical pattern of grade 2 superficial bladder cancer. *J Urol* 1997; 157(4): 1254-8.

۱۶. Ooms EC, Anderson WA, Alons CL, Boon ME and Veldhuizen RW. Analysis of the performance of pathologists in the grading of bladder tumors. *Hum Pathol* 1983; 14(2): 140-143.

۱۷. Pauwels RP, Schapers RF, Smeets AW, Debruyne FM and Geraedts JP. Grading in superficial bladder cancer. (1). Morphological criteria. *Br J Urol* 1988; 60(2): 129-134.

۱۸. Rosai J: Ackermans's surgical pathology. 8 th ed., mosby year book, 1996; PP1195- 1204.

۱۹. Rubben H, Lutzeyer W, Fischer N, Deutz F, Lagrange W and Giani G. Natural history and treatment of low and high risk superficial bladder tumors. *J Urol* 1988; 139(2): 283-5.

۲۰. Terz JJ, Curutchet HP and Lawrence W jr. Analysis of the cell kinetics of human solid tumors. *Cancer* 1971; 28(5): 1100- 1110.

۲۱. Tribukait B, Gustafson H and Esposti PL. The significance of ploidy & proliferation in the clinical & biological evaluation of bladder tumors: a study of 100 untreated cases. *Br J Urol* 1982; 54(2): 130-135.

۲۲. Van-Velthoven R, Petein M, Oosterlinck WJ, *et al* . Image cytometry determination of ploidy level, proliferative activity and nuclear size in a series of 314 transitional bladder cell carcinomas. *Hum Pathol* 1995; 26(1): 3-11

www.SID.ir