

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

دکتر سیمین ترابی نژاد^۱ و دکتر سیده زینب سهرابی^۲

خلاصه

ترانزیشنال سل کارسینوما (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 سلول‌های تومورال به وسیله دستگاه فلوسیتومتری اندازه گیری 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 ($P < 0.003$). همچنین در تومورهای گرید II که به دو دسته a و b تقسیم شده بودند، بین زیرگروه‌ها و مقدار DNA رابطه معنی داری برقرار بود ($P < 0.003$). stage تومور و مقدار DNA رابطه معنی داری با هم داشتند ($P < 0.003$) و مقدار DNA سلولی با شاخص‌هایی نظیر تهاجم تومور به عروق خونی، لنفاتیک و اعصاب از رابطه معنی داری برخوردار بود. ($P < 0.008$). 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 اندازه گیری 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

مقدمه

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

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 هیستومورفولوژی و staging

۱- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شیراز ۲- پاتولوژیست

پایه باشند. از نظر میکروسکوپی به دو زیر گروه a و b تقسیم می‌شوند.

Grade IIA: ساختمان نرمال تا حدودی به هم خورده، تعداد لایه‌ها افزایش یافته ولی هنوز آتیبی 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 میکروسکوپی آتیبی هسته خیلی شدید است. ساختمان نرمال کاملاً از بین رفته است و سلول‌ها حالت جدا از هم (discohesive) پیدا کرده‌اند. میتوزهای آتیبیک 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 Centre Le Cancer (AJCC/UICC) از Stage Ta تا T4 دسته بندی شدند. پس از آن در هر نمونه وجود یا عدم تمایز سنگفرشی (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 انتهایی در اطراف تومور هم مورد توجه قرار گرفت (۱۱،۱۹). در مرحله بعد برای اندازه گیری DNA سلولی به وسیله روش فلوسیتومتری ابتدا از بلوک‌های پارافینی برش هایی به ضخامت ۱۰ تا ۲۰ میکرون تهیه شد و مراحل آماده سازی اندازه گیری DNA به شرح زیر انجام شد:

- ۱- مرحله پارافین زدایی (Deparaffinization): که با استفاده از زیلول (Xylo) به مدت ۲۴ ساعت (هر ۶ ساعت یک بار تعویض انجام می‌شد) تمام پارافین جدا می‌شد.
- ۲- مرحله آب دهی (Rehydration): با استفاده از الکل‌های نزولی، دو بار الکل مطاق و یک بار به ترتیب از الکل‌های ۳۰، ۵۰، ۹۶، ۷۰ و هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد سپس به بافت آب مقطر اضافه گشت و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد.
- ۳- مرحله هضم آنزیمی (Enzyme digestion): در این مرحله که

تقسیم بندی WHO یک گروه یکتواخت نبوده و تعدادی از آنها تمایل به رفتار تهاجمی دارند و بنابراین از نظر رفتاری به گرید III نزدیک تر 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 (۱۷،۲۲). به تدریج برای رفع این نقیصه روش‌های دیگری مانند استفاده از سیتوژنتیک و مطالعه کروموزمی، مورفومتری هسته‌ای، اندازه گیری اندکس‌های پروليفراتیو نظیر (PKI67) و سپس اندازه گیری میزان DNA مورد استفاده قرار گرفته است (۵،۱۰،۱۸). اندازه گیری میزان DNA امروزه در پیش‌بینی سیر بالینی و پیش آگهی تومورهای مثانه و احتمال عود آنها به کار می‌رود. مقالات مختلفی ارتباط بین آنالوئیدی تومور و بالا رفتن گرید و stage تومور را نشان داده‌اند (۲،۵،۷،۱۵،۲۲).

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

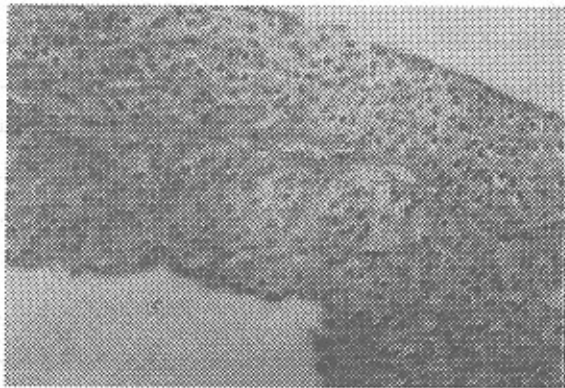
روش کار

مطالعه حاضر بر روی نمونه‌های Transurethral resection مثانه از ۳۰ بیمار انجام گرفت که در فاصله شهریورماه ۱۳۷۶ 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 ۵-۶ میکرون از بلوک‌ها فراهم گردید و با رنگ آمیزی H&E رنگ شدند. تمامی اسلایدهای میکروسکوپی این بیماران مجدداً بازبینی و بر طبق سیستم WHO (البته با تغییر جزئی که توسط Pauwel ارائه شده است) گریدبندی گردید (۱۰،۱۷). اساس گرید بندی به شرح زیر بود:

Grade I: از نظر ظاهری این تومورها به صورت زواید انگشتی کوچک، نرم و صورتی بوده و در بررسی میکروسکوپی از پاپیلاهای منظم با ساقه همبندی عروقی ظریف تشکیل شده‌اند که تعداد ۷ لایه یا بیشتر از سلول‌های ترازیشنال 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 ماکروسکوپی قوام سفت تری داشته و ممکن است به صورت توده‌ای پایه دار یا بدون

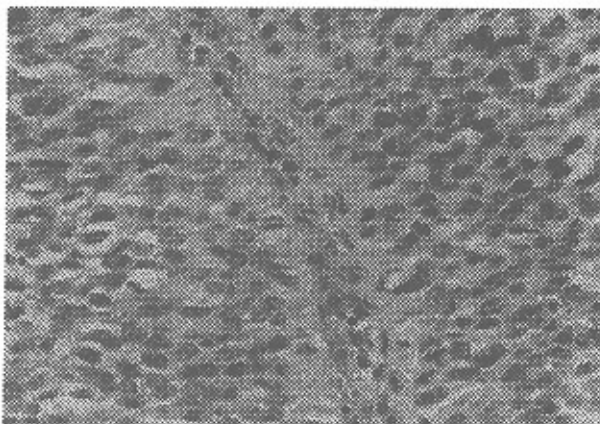
که در گرید IIa سه مورد (۱۲/۴٪)، در گرید IIb پنج مورد (۷۱/۴٪) و در گرید III هفت مورد (۱۰۰٪) تهاجم به عروق لنفاتیکی مشاهده شد ($P < 0.002$). تهاجم به عروق خونی در ۴۶/۷٪ موارد (۱۴ بیمار) دیده شد. در گرید IIa سه مورد (۲۱/۴٪)، گرید IIb چهار مورد (۵۷/۱٪) و در گرید III هفت



شکل ۱: ترانزیشنال سل کارسینوما گرید I (H.E.×۴۰۰)



شکل ۲: ترانزیشنال سل کارسینوما گرید IIa (H.E.×۴۰۰)



شکل ۳: ترانزیشنال سل کارسینوما گرید IIb

دو ساعت به طول انجامید از محلول ۱٪ پپسین با PH ۱/۵ استفاده شد و در بین ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. هر ده دقیقه یک بار محتویات لوله با استفاده از دستگاه mixer جهت افزایش اثر آنزیم پپسین مخلوط می شد. در پایان این مرحله سلول ها به صورت جدا از هم در آمدند.

۴- مرحله فیلتراسیون (Filtration): در این مرحله با استفاده از بافر tris محلول از فیلترهای ناپلونی عبور داده شد.

۵- رنگ آمیزی (DNA staining): به محلول به دست آمده ۰/۵ میلی لیتر RNA ase و ۰/۵ میلی لیتر رنگ فلوروکروم Propidium Iodine اضافه شد و به مدت نیم ساعت در بین ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در این مرحله RNA باعث از بین رفتن RNA داخل هسته شده و از تداخل در اندازه گیری DNA جلوگیری می نماید. در نهایت با استفاده از دستگاه فلوئوسیتومتری Coulter-Epics-Profile II حداقل در DNA در 10^4 سلول اندازه گیری شد. از بافت غده لنفاوی نرمال انسان جهت کنترل داخلی استفاده شد. پس از به دست آوردن منحنی های DNA سلولی کلیه اطلاعات بر اساس تست مجذورکای (Chi Square)، آزمون دقیق فیشر (Fisher exact test) و آزمون رگرسیون (Regression) تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

قسمت اول: نتایج بررسی های سیتومرفولوژیک

از ۳۰ نمونه مورد مطالعه ۲۶ عدد مربوط به مردان و ۴ عدد مربوط به زنان بود. از نظر گریدینگ، ۲ مورد گرید I (۶/۷٪)، ۱۴ مورد گرید IIa (۴۶/۷٪)، ۷ مورد گرید IIb (۲۳/۳٪) و ۷ نمونه در گرید III (۲۳/۳٪) قرار گرفتند (تصویرهای ۱، ۲، ۳ و ۴).

از نظر staging ۲ مورد در stage Ta (۶/۷٪)، ۱۷ مورد در stage T1 (۵۶/۷٪)، ۱ مورد در stage T2 (۳/۳٪)، ۵ مورد در stage T3 (۱۶/۷٪) و ۵ مورد در stage T4 (۱۶/۷٪) قرار داشتند (جدول ۱).

از نظر آماری بین بالا رفتن گرید و stage در این تومورها رابطه معنی داری وجود داشت ($P < 0.003$). تمایز سنگفرشی در ۷ مورد (۲۳/۳٪) دیده شد که یک مورد در گرید IIa، سه مورد در گرید IIb و سه مورد در گرید III قرار داشتند ($P = 0.006$). تمایز غددی در ۵ مورد (۱۶/۷٪) به چشم می خورد که ۳ مورد در گرید IIb و ۲ مورد در گرید III بودند ($P = 0.006$). طرح سارکوماتوس در ۴ تومور (۱۳/۳٪) مشاهده شد که یک مورد در گرید IIa و سه مورد در گرید III قرار داشتند ($P = 0.006$). تهاجم به عروق لنفاتیکی در ۵۰٪ موارد (۱۵ نمونه) وجود داشت. به این صورت

جدول ۲: رابطه بین گرید تومور و DNA پلوئیدی

درجه DNA (grade)	دیپلوئید	آنابلوئید	جمع
I	۲ (٪۱۰۰)	-	۲ (٪۶/۷)
IIa	۱۲ (٪۸۵/۷)	۲ (٪۱۴/۳)	۱۴ (٪۴۷/۷)
IIb	۴ (٪۵۷/۱)	۳ (٪۴۲/۹)	۷ (٪۲۳/۳)
III	-	۷ (٪۱۰۰)	۷ (٪۲۳/۳)
جمع	۱۸ (٪۶۰)	۱۲ (٪۴۰)	۳۰ (٪۱۰۰)

جدول ۳: رابطه بین Stage تومور و DNA پلوئیدی

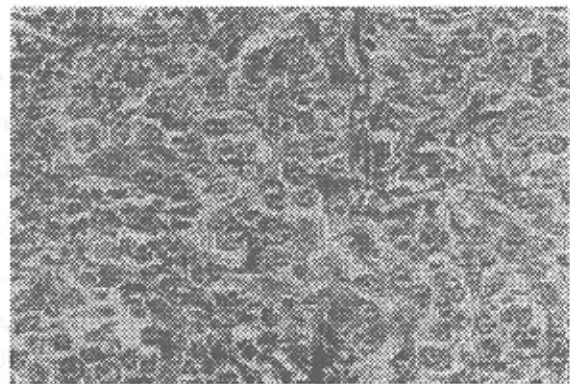
مرحله DNA (stage)	دیپلوئید	آنابلوئید	جمع
Ta	۱ (٪۵۰)	۱ (٪۵۰)	۲ (٪۶/۷)
T1	۱۴ (٪۸۲/۴)	۳ (٪۱۷/۶)	۱۷ (٪۵۶/۷)
T2	-	۱ (٪۱۰۰)	۱ (٪۳/۳)
T3	۲ (٪۴۰)	۳ (٪۶۰)	۵ (٪۱۶/۷)
T4	-	۵ (٪۱۰۰)	۵ (٪۱۶/۷)
جمع	۱۷ (٪۵۶)	۱۳ (٪۴۴)	۳۰ (٪۱۰۰)

جدول ۴: رابطه DNA Polidy با تمایز سنگفرشی، غددی، طرح سارکوماتوس و تهاجم به عروق خونی لنفاتیک و اعصاب

مشخصه تومور	دیپلوئیدی	آنابلوئید	Pvalue
تمایز سنگفرشی	۳	۴	۰/۳۹
تمایز غددی	۱	۴	۰/۲
طرح سارکوماتوس	۱	۳	۰/۱۶
تهاجم عروق لنفاتیک	۵	۱۰	۰/۰۰۹
تهاجم به دور عصب	۴	۱۰	۰/۰۰۰۸
تهاجم به عروق خونی	۰	۷	۰/۰۰۳

صورت دیپلوئید و در ۱۲ مورد (٪۴۰) به صورت آنابلوئید گزارش 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 IIIa از مجموع ۱۴ نمونه ۱۲ مورد (٪۸۵/۷) به صورت دیپلوئید و ۲ مورد در

مورد (٪۱۰۰) گزارش شد ($P < 0/005$). تهاجم تومور به اعصاب تنها در ۷ مورد (٪۲۳/۳) مشاهده شد. به این ترتیب که در گرید IIa یک مورد (٪۷/۱) و در گرید III شش مورد (٪۸۵/۷) دیده شد ($P < 0/002$). ارتشاح سلول‌های التهابی به خصوص لنفوسیت‌ها در اطراف تومور در ۲۸ مورد از ۳۰ نمونه (٪۹۴) دیده شد که بین ارتشاح سلول‌های التهابی و گرید رابطه معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/5$). در ۶ مورد از نمونه‌ها مناطقی از مخاط مثانه با کارسینومای درجا (in situ) مشاهده گردید



شکل ۴: ترانزیشنال سل کارسینوما گرید III

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 ($P = 0/3$). به نظر می‌رسد در اغلب نمونه‌های گرید III به دلیل وسعت و انتشار تومور مخاط عاری از تومور کمتر مشاهده می‌گردد.

قسمت دوم: نتایج حاصله از اندازه‌گیری DNA سلولی:

از سی نمونه بررسی شده در ۱۸ مورد (٪۶۰) DNA سلولی به

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

درجه (grade)	مرحله (stage)	Ta	T1	T2	T3	T4	جمع
I	-	-	۳/۳	۳/۳	-	-	۶/۷
IIa	۳/۳	۴۰	-	۳/۳	-	-	۴۶/۷
IIb	۳/۳	۱۳/۳	-	۶/۷	-	-	۲۳/۳
III	-	-	-	۶/۷	۱۶/۷	-	۲۳/۳
جمع	۶/۷	۵۶/۷	۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	-	۱۰۰

جدول ۳ و ۴ رابطه بین stage و سایر شاخص‌های سیتومورفولوژیک با DNA ploidy نشان داده شده است. (۱۴/۳٪) آناپلوئید بودند. در گرید IIb از کل ۷ نمونه ۴ مورد (۵۷/۱٪) دیپلوئید و ۳ مورد (۴۲/۹٪) آناپلوئید بودند. در گرید III هر ۷ نمونه (۱۰۰٪) به صورت آناپلوئید ظاهر شدند. در تمامی موارد رابطه معنی داری بین DNA ploidy و گرید مشاهده گردید ($P < 0.05$) (جدول ۲).

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 (۳،۵،۶،۱۰،۱۸). به همین جهت یافتن روش‌هایی برای پیش‌بینی 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 (۴،۸). 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 ۱۹۶۵ 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 (۱۴). با 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 همه 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 (۱۳،۱۵،۱۷). علاوه بر گریدینگ شاخص staging پاتولوژیک که نشان دهنده عمق تهاجم تومور می‌باشد در تعیین پیش‌آگهی تومور مؤثر است (۱۰،۱۹). 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 (۱،۹،۱۶) 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 (۵،۸،۱۲،۱۳،۱۸،۲۱،۲۲). 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 ۴۰٪ تومورهای Stage T1، از نظر DNA آناپلوئید بودند در حالی که در stage‌های بالاتر همه تومورها آناپلوئید بودند. از نظر گریدینگ کلیه تومورهای گرید I در این تحقیق دیپلوئید و تمامی تومورهای گرید III آناپلوئید بودند. در حالیکه ۲/۳ تومورهای گرید II دیپلوئید و ۱/۴ 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 ۶۷٪ که گرید IIa بودند دیپلوئید گزارش شدند در حالیکه همه تومورهای گرید III به جز یک مورد آناپلوئید و کلیه تومورهای گرید I دیپلوئید بودند (۱۷).

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

آل‌آبادی و همکاران در سال ۱۹۹۴ ارتباط مستقیمی را بین گرید و Stage تومور و DNA ploidy 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 ۴۲٪ آنها آناپلوئید و ۵۸٪ دیپلوئید یا تراپلوئید 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 ۶۴٪ در

(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 (۸,۲۰,۲۱) در مقایسه‌ای که بین stage هیستوپاتولوژیک تومور و DNA ploidy انجام شد در stage Ta ۱۰۰٪ موارد دیپلوئید و در Stageهای T1, T2, T3, T4 به ترتیب ۱۷/۶٪، ۱۰۰٪، ۶۰٪ و ۱۰۰٪ تومورها آناپلوئید بودند. در مطالعه Tribukait ارقام اخیر به ترتیب ۳/۶٪، ۱۰۰٪، ۶۰٪ و ۱۰۰٪ ذکر شدند (۲۱).

نتیجه‌گیری

همچنانکه در این مطالعه مشخص شد DNA ploidy یکی از شاخص‌هایی 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 I, DNA 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 هیستومورفولوژیک در زیر گروه b قرار می‌گرفتند عمدتاً آناپلوئید بودند. ولی به طور کلی در مراکزی که دستگاه‌های مخصوص اندازه‌گیری DNA وجود ندارد بهره‌گرفتن صحیح و دقیق از معیارهای هیستومورفولوژیک 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 عروق 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.

stage T2 و ۸۵٪ در T3 stage DNA 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 مطالعه حاضر با استفاده از معیارهای پذیرفته شده توسط WHO نمونه‌ها گرید بندی و بر اساس نظریه پاول تومورهای گرید II به دو زیر گروه IIa, IIb تقسیم شدند. بیشترین تعداد نمونه‌ها در گرید IIa (۴۶٪) و کمترین تعداد مربوط به گرید I (۶/۷٪) بود. سپس با استفاده از سیستم AJCC/UICC تومورها stage بندی شدند. نتایج نشان می‌دهد بالا رفتن stage همیشه با بالا رفتن گرید همراه است (P < ۰/۰۰۳). همانطور که مشهود است تمامی بیماران گرید III در T4 stage قرار داشتند و هیچکدام از بیماران گرید I در T3 stage و T4 قرار نمی‌گرفتند. در مورد بیماران گرید II، ۸۰٪ موارد گرید IIa در T1 stage بودند در حالی که فقط ۵۰٪ از موارد گرید IIb در T1 stage قرار ۲۵٪ آنها در T3 stage قرار داشتند. بین گرید تومور و تهاجم به عروق خونی تهاجم به عروق 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 < ۰/۰۰۶)، 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 ۱۴/۳٪ نمونه‌ها و در گرید IIb ۴۲/۹٪ 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

Summary

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

Torabinejad S, MD¹. and Sohrabi SZ, MD².

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 unpredictable biological behavior. Morphologic methods of grading this tumor are insufficient 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.

Key words: Transitional cell carcinoma, Bladder, Grading, DNA content

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2002; 9(3): 114-121

References

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Bell JT, Burney SW and Friedell GH. Blood vessel invasion in human bladder cancer. *J Urol* 1971; 105(5): 675-678.
5. Blomjous EC, Schipper NW, Baak JP, Vos W, De Voegt HJ and Meijer CJ. The value of morphometry and DNA flow cytometry in addition to classic prognosticators in superficial urinary bladder carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1989; 91(3): 243-8.
6. Cotran SR, Kumar V and Robbins LS: Robbins pathologic basis of disease. 5th ed., WB Sanders Co. 1993; PP997.
7. 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.

8. Goulandris N, Karakitsos P, Georgoulakis J, Bellos C, Deliveliotis C and Legaki S. Deoxyribonucleic acid measurements in transitional cell carcinomas: Comparison of flow and image cytometry techniques. *J Urol* 1996; 156(3): 958-60.
9. Grace DA and Winter CC. Mixed differentiation of primary carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 1968; 21(6): 1239-1243.
10. Grigone DJ. Neoplasm of the urinary bladder. In: Bosuick DG (ed.) Urologic surgical pathology. 1st ed., Mosby year book, 1997; P215.
11. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, et al. Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *J Urol* 1983; 130(6): 1083-1086.
12. Koss LG, Czerniak B, Herz F and Wersto RP. Flow cytometric measurements of DNA and other cell components in human tumors: a critical appraisal. *Hum Pathol* 1989; 20(6): 528-48.
13. 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.
14. Mostofi FK, Sobin LH and Toriani H. Histologic typing of urinary bladder tumors. Geneva 1973; World Health Organization.
15. 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.
16. 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.
17. Pauwels RP, Schapers RF, Smeets AW, Debruyne FM and Geraedts JP. Grading in superficial bladder cancer. (1). Morphological criteria. *Br J Urol* 1988; 61(2): 129-134.
18. Rosai J: Ackermans's surgical pathology. 8th ed., mosby year book, 1996; PP1195-1204.
19. 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.
20. Terz JJ, Curutchet HP and Lawrence W jr. Analysis of the cell kinetics of human solid tumors. *Cancer* 1971; 28(5): 1100-1110.
21. 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.
22. 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.