

ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ARID1A ΚΑΙ SLC14A1 ΣΤΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΟΥΡΟΘΗΛΙΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΗΣ ΚΥΣΤΗΣ»

Υποψήφιος Διδάκτωρ: **Πλατανάς Μιχαήλ**

ΣΚΟΠΟΣ

Το 90% των καρκίνων της ουροδόχου κύστης είναι ιστολογικά όγκοι εκ μεταβατικού επιθηλίου γνωστοί και με τον όρο «ουροθηλιακός καρκίνος», εκ των οποίων το 80% χαρακτηρίζεται ως επιφανειακός. Παρά την αρχική αντιμετώπιση, που περιλαμβάνει διουρηθρική εκτομή του όγκου και πιθανώς συμπληρωματική ενδοκυστική χημειοθεραπεία ή ανοσοθεραπεία, ένα ποσοστό περίπου 70% των επιφανειακών όγκων θα υποτροπιάσει στην πενταετία, κάνοντας επιτακτική την ανάγκη ανεύρεσης αξιόπιστων δεικτών πρόγνωσης, αλλά και πρώιμης διάγνωσης των υποτροπών της νόσου.

Το γονίδιο AT-rich interactive domain 1A (ARID1A) εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1p. Σχετικά πρόσφατα, εντοπίστηκαν μεταλλάξεις απενεργοποίησης του ARID1A σε ένα μεγάλο αριθμό κακοήθων όγκων του ανθρώπινου σώματος. Αυτό υποδηλώνει ότι το ARID1A λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο σε πολλές διαφορετικές κατηγορίες κυττάρων, όπως αυτά της ωοθήκης και του ενδομητρίου. Ωστόσο, πολύ λίγα είναι γνωστά για το ρόλο του ARID1A στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Παρομοίως, το γονίδιο solute carrier family 14 member 1 (SLC14A1), έχει πολύ πρόσφατα συσχετιστεί σε επίπεδο βασικής έρευνας, με ανθρώπινες νεοπλασίες και ειδικά με τον καρκίνο της κύστης. Η τροποποιημένη έκφραση του SLC14A1 στα ανθρώπινα κύτταρα του ουροθηλιακού καρκίνου πιθανόν υποδηλώνει την εμπλοκή του στην ογκογενετική διαδικασία και το καθιστά δυνητικά προγνωστικό δείκτη της νόσου.

Η παρούσα ερευνητική εργασία έχει ως στόχο να μελετήσει την έκφραση των ARID1A και SLC14A1 στο φυσιολογικό ουροθήλιο και σε ασθενείς με ουροθηλιακό καρκίνο κύστης και να συσχετίσει αυτή την έκφραση με τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά της νόσου (στάδιο και βαθμό διαφοροποίησης).

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στη μελέτη θα εισαχθούν 30 ασθενείς με ουροθηλιακό καρκίνο κύστης, οι οποίοι πρόκειται να υποβληθούν σε διουρηθρική εκτομή του όγκου. Τα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη έχουν ως εξής:

- Ηλικία μεγαλύτερη των 80 ετών

- Παρουσία συνοδού νεοπλασίας σε άλλο όργανο
- Συνυπάρχουσα σοβαρή χρόνια συστηματική νόσος
- Ασθενείς με ανοσολογική ανεπάρκεια οποιασδήποτε αιτιολογίας (π.χ. HIV λοίμωξη, θεραπεία με ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, λήψη κορτιζόνης κλπ)
- Όγκος μεταβατικού επιθηλίου της αποχετευτικής μοίρας του ανώτερου ουροποιητικού
- Προηγθείσα ενδοκυστική /συστηματική χημειοθεραπεία ή ανοσοθεραπεία
- Προηγθείσα ακτινοβολία στην ελάσσονα πύελο
- Ασθενείς σε κατάσταση εγκυμοσύνης

Όλοι θα υποβληθούν σε προεγχειρητικό έλεγχο που θα περιλαμβάνει λήψη ιατρικού ιστορικού και φυσική εξέταση, πλήρη εργαστηριακό και απεικονιστικό έλεγχο. Ασθενείς με θετική καλλιέργεια ούρων θα υποβάλλονται αρχικά στην κατάλληλη αντιμικροβιακή αγωγή και θα εισάγονται στη μελέτη μόνο μετά την επιβεβαίωση της αρνητικοποίησης της καλλιέργειας. Οι ασθενείς θα υποβάλλονται σε διουρηθρική επέμβαση. Ο αριθμός, η θέση, το μέγεθος και η μορφολογία (θηλωματώδης ή συμπαγής) όλων των όγκων θα καταγράφονται συστηματικά. Πριν τη διουρηθρική εκτομή θα γίνει λήψη τυχαίων βιοψιών (cold cup biopsies) από απομακρυσμένες από τους ορατούς όγκους θέσεις, με μακροσκοπικά φυσιολογικό ουροθήλιο. Ακολούθως, με τη χρήση ρεζεκτοσκοπίου θα αφαιρούνται πλήρως όλοι οι ορατοί όγκοι. Τα ιστοτεμάχια των εξαιρεθέντων όγκων, καθώς και μερικές από τις βιοψίες που ελήφθησαν από φυσιολογικές, απομακρυσμένες από τους ορατούς όγκους θέσεις, θα αποστέλλονται για παθολογοανατομική εξέταση ρουτίνας, προκειμένου να αξιολογηθεί με ακρίβεια το στάδιο και grade της νόσου, καθώς και η παρουσία ή απουσία καρκινώματος in situ (CIS). Αντιπροσωπευτικά ιστοτεμάχια από τον όγκο και κάποια από τα ιστοτεμάχια που ελήφθησαν από φυσιολογικές θέσεις μακριά από τους ορατούς όγκους, θα διατηρηθούν σε βαθιά κατάψυξη (-70⁰ Κελσίου) για να ελεγχθούν ανοσοϊστοχημικά για την έκφραση των γονιδίων ARID1A και SLC14A1.

Στη μελέτη θα ενταχθούν και 15 ουρολογικοί ασθενείς χωρίς ουροθηλιακό καρκίνο οι οποίοι πρόκειται να υποβληθούν σε κάποια άλλη διουρηθρική επέμβαση (π.χ. διουρηθρική προστατεκτομή). Οι ασθενείς αυτοί θα αποτελέσουν την ομάδα ελέγχου. Από τους ασθενείς αυτούς θα ληφθούν τυχαίες βιοψίες κύστης και τα ιστοτεμάχια θα ελεγχθούν ανοσοϊστοχημικά για την έκφραση των γονιδίων ARID1A και SLC14A1.

Η Τριμελής Επιτροπή:

Γιαννακόπουλος Στυλιανός, Αναπληρωτής Καθηγητής Ουρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΔΠΘ
 Τουλουπίδης Σταύρος, Καθηγητής Ουρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΔΠΘ
 Καλαϊτζής Χρήστος, Καθηγητής Ουρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΔΠΘ

DEMOCRITUS UNIVERSITY OF THRACE

DEPARTMENT OF MEDICINE

PHD DISSERTATION

“A STUDY OF EXPRESSION OF ARID1A KAI SLC14A1 GENES IN NORMAL UROTHELIUM AND UROTHELIAL CANCER IN THE BLADDER”

PhD Candidate: **Platanas Michail**

AIM

Ninety per cent of bladder cancers are transitional cell in origin, also known as “urothelial tumors”, 80% of which are grouped as superficial. Despite the initial management which includes transurethral surgery and possibly adjuvant intravesical therapy or chemotherapy, some 70% of the superficial tumors will recur within 5 years, which leads to the necessity of finding prognostic markers and markers of early recurrence detection.

The AT-rich interactive domain 1A (ARID1A) gene is located in the 1p chromosome. Recently, deactivating mutations of the ARID1A gene have been found in a considerable amount of human tumors. This implies that ARID1A functions as an oncosuppressive gene in the cells of many tissues, such as ovary and endometrium. However, there is little knowledge about ARID1A' s role in bladder cancer. Likewise, the carrier family 14 member 1 (SLC14A1) gene has been very recently related to human tumors, especially bladder cancer, at least in primary studies. The changed expression of SLC14A1 in human cells of urothelial cancer may imply its role in the process of oncogenesis and could therefore be used as a prognostic marker.

This study aims to investigate the expression of ARID1A και SLC14A1 genes in the urothelium of normal bladder as well as the urothelium of bladder cancer and its correlation with the histological features of the tumor (stage and differentiation).

STUDY PROTOCOL

In this study 30 patients with urothelial bladder cancer will be included, who will be consequently treated with transurethral resection of the tumor. The criteria of exclusion from the study will be:

- Age over 80 years
- The presence of cancer elsewhere in the body
- Severe chronic systemic illness

- Immunocompromised patients due to any etiology (e.g. HIV infection, immunosuppressive or steroid therapy)
- Transitional cell tumor of the upper urinary tract
- Prior intravesical / systemic chemotherapy or immunotherapy
- Prior radiotherapy of the pelvis
- Pregnancy

Before surgery all patients will be enquired about their medical history and will be physically examined. Complete laboratory and imaging tests will be run. In case of positive urine culture proper antibiotic therapy will be prescribed and a subsequent negative urine culture will be required for the inclusion in the study. Patients will be treated with transurethral surgery. The number, the position, the size and the morphology (papillary or solid) of all tumors will be marked systematically. Prior to the transurethral resection random biopsies will be taken (cold cup biopsies) from distant to the visible tumors sites that seem to have normal urothelium. Subsequently, all visible tumors will be removed with the use of a resectoscope. The resected tumors and the tissues from the seemingly normal distant to the tumors sites will be sent for routine histologic examination so that the stage and grade of the tumor can be estimated as well as the presence or absence of in situ carcinoma (CIS). Some representative tissues from the tumor and some samples from the seemingly normal distant to the tumor sites will be stored in deep freeze (-70⁰ C) so that they can be examined by immunohistochemistry for the expression of the ARID1A and SLC14A1 genes.

In this study 15 patients that have an urological disease other than urothelial cancer and are assigned to another transurethral surgery (i.e., transurethral prostatectomy) will be also included. These patients will be the control group. Random bladder biopsies will be taken from these patients and the tissues will be examined by immunohistochemistry for the expression of the ARID1A and SLC14A1 genes.

The three- member committee:

Giannakopoulos Stylianos, Assoc. Professor of Urology, Department of Medicine, Democritus University of Thrace

Touloupides Stavros, Professor of Urology, Department of Medicine, Democritus University of Thrace

Kalaitzis Christos, Professor of Urology, Department of Medicine, Democritus University of Thrace