

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ, 3

Μέρος Πρώτο

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ, 7

- α • ΚΑΚΟΗΘΗ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ, 9
- α2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ, 11
- α3 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ, 13
- α4 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ, 16
- α5 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ, 18
- α6 ΠΡΟΓΝΩΣΗ, 21
- α7 ΘΕΡΑΠΕΙΑ, 30
- β • ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ, 35
- β1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ, 35
- β2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ, 38
- β3 Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΗΣ, 40
- β3.1 Ογκοι οριακής κακοήθειας, 40
- β3.2 Αρχικά στάδια καρκίνου ωοθηκών, 41
- β3.3 Προχωρημένοι ωοθηκικοί καρκίνοι, 41
- β4 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ, 42
- β4.1 Μετρήσεις σε κύτταρα ή σε σχηματισμούς με περιορισμένο σχήμα, 42
- β4.1.1 Μέτρηση Περιμέτρου, 42
- β4.1.2 Μέτρηση Εμβαδού, 42
- β4.1.3 Σύγκριση σχημάτων, 43
- β4.2 Μέτρηση όγκων, 44
- β4.2.1 Ο όγκος των όγκων, 46
- β4.3 Μετρήσεις αριθμού κυττάρων, 46
- β4.3.1 Έλεγχος Κυτταροβρίθειας, 47
- β4.4 Μέτρηση Επιφάνειας, 48
- β5 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ, 50

Μέρος Δεύτερο

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ, 55

- γ • ΥΛΙΚΟ, 55
- δ • ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ, 58
- ε • ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ, 61

Μέρος Τρίτο

- στ • ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ, 65
- στ1 ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ, 65
- στ2 ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ, 69
- στ2.1 Μεταξύ των ασθενών που επέζησαν ή όχι στην 5-ετία, 69
- στ2.2 Ανάλυση επιβίωσης, 70
- στ3 ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΚΑΡΛΑΝ-ΜΕΙΕΡ, 73
- στ4 ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ, 81

- ζ • ΣΥΖΗΤΗΣΗ, 85

- η • ΠΕΡΙΛΗΨΗ, 91
- θ • ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ, 95

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα κακοήθη νεοπλασμάτα των ωθηκών κυμαίνονται στο 20% όλων των κακοηθειών των γυναικείων γεννητικών οργάνων και η μέση συχνότητα όλων των τύπων μαζί, είναι 15 νέες περιπτώσεις το χρόνο σε 100.000 γυναίκειο πληθυσμό. Συχνότερα όλων είναι τα επιθηλιακά που αφορούν το 85% - 90% των ωθηκικών νεοπλασμάτων (DiSaia και Creasman 1993).

Οι όγκοι των ωθηκών καθώς βρίσκονται στο βάθος της περιτοναϊκής κοιλότητας, αναπτύσσονται ύπουλα, φθάνοντας συχνά σε μεγάλα μεγέθη πριν γίνουν αντιληπτοί από τις ασθενείς. Η ανάπτυξη του πρωτοπαθούς όγκου ακολουθείται από διήθηση των παρακειμένων ιστών και οργάνων και δημιουργία εμφυτεύσεων στην περιτοναϊκή κοιλότητα (Copeland 1991).

Η χειρουργική είναι η θεραπεία εκλογής και έχει τριπλό σκοπό, τη διάγνωση και σταδιοποίηση, τη μείωση του όγκου της νόσου και την ανακούφιση των ασθενών (Heintz 1991). Το δεύτερο βήμα του θεραπευτικού πρωτοκόλλου είναι η χημειοθεραπεία. Η γνωστή ευαισθησία του καρκίνου των ωθηκών σε συνδυασμούς χημειοθεραπευτικών οδηγεί κατά μέσο όρο σε πλήρη υποχώρηση της νόσου στο 30% - 40% και σε μερική υποχώρηση στο 20% - 40% των ασθενών (Petru E. και συν 1989, Hoskins 1991).

Η συνολική 5-ετής επιβίωση ανέρχεται για όλα τα στάδια στο 31% (70% για το Ia και 13% για το III) και παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια μία στατιστικά σημαντική αύξηση που οφείλεται κυρίως στις καλύτερες γνώσεις για τη νόσο και στην εφαρμογή νέων θεραπευτικών μεθόδων, που στηρίζονται κυρίως στη χρήση του cisplatin. Η αύξηση αυτή αφορά κυρίως τις ασθενείς με καλά διαφοροποιημένους όγκους, στις οποίες αφαιρέθηκε χειρουργικά όλη η νόσος ή το μεγαλύτερο τμήμα της έτσι ώστε η υπολειπόμενη νόσος να μη ξεπερνά τα 2 εκ. και οι οποίες υποβλήθηκαν σε μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία ή/και χημειοθεραπεία (DiSaia και Creasman 1993).

Μπροστά σε αυτά τα βιβλιογραφικά δεδομένα φαίνεται ότι είναι σημαντική η αναζήτηση αντικειμενικών παραγόντων για την ασφαλέστερη πρόγνωση και την ορθολογικότερη και πιο αποτελεσματική αντιμετώπιση των ασθενών με αυτή την κακοήθεια.

Κατά καιρούς έχει μελετηθεί η προγνωστική αξία διάφορων παραμέτρων, που σχετίζονται με τη βιολογική συμπεριφορά των όγκων αυτών και τον κίνδυνο θανάτου συνεπεία της νόσου. Σε αυτές περιλαμβάνονται η ηλικία, το

στάδιο της νόσου, ο βαθμός της κυτταρικής διαφοροποίησης, ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (grade), ο ιστολογικός τύπος, το μέγεθος της μάζας του όγκου που απέμεινε μετά την αρχική χειρουργική επέμβαση, η ανάλυση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης, η πλοειδικότητα και η μορφομετρία (Rollanson 1992).

Από όσα γνωρίζουμε έχουν εφαρμοστεί διάφορες μορφομετρικές μέθοδοι για την πρόγνωση των διαφόρων κακοήθων νεοπλασιών. Στο πλαίσιο των δραστηριοτήτων της μορφομετρίας περιλαμβάνεται οτιδήποτε αφορά μετρήσεις, από τον αριθμό των πυρηνοκινησιών μέχρι τις πυκνομετρικές μετρήσεις του DNA. Ειδικά για την ωθήκη, πρώτος ο Baak από το 1981 ασχολήθηκε μορφομετρικά με τη μελέτη της συμπεριφοράς των όγκων της (Baak 1991). Ο ίδιος συγγραφέας το 1985, το 1988 και το 1991 καθώς και ο Haapasalo το 1989 δημοσίευσαν τις παρατηρήσεις τους που αφορούσαν την πρόγνωση των όγκων οριακής κακοήθειας ή χαμηλής δυναμικής κακοήθειας (borderline ή low malignant potential) καθώς και των καρκίνων σταδίου I (Baak 1991). Όσον αφορά τους προχωρημένους καρκίνους (FIGO III, IV), οι λίγες έρευνες, που έχουν γίνει, περιορίζονται κυρίως στη διερεύνηση των δυνατοτήτων της μεθόδου (Baak 1991, Rollanson 1992).

Η διατριβή αυτή έχει σαν σκοπό τη διερεύνηση ορισμένων μορφομετρικών παραμέτρων σε σχέση με τα κλινικά χαρακτηριστικά των καρκινωμάτων της ωθήκης προχωρημένων σταδίων, ώστε να είναι δυνατή η ανεύρεση αντικειμενικών κριτηρίων για την πρόγνωση και την επιλογή των ασθενών για θεραπεία. Ανάλογη μελέτη δεν έχει γίνει στον ελληνικό χώρο.

Για την πληρέστερη μελέτη του αντικείμενου, στο πρώτο μέρος γίνεται αναφορά στη σύγχρονη βιβλιογραφία so ότι αφορά τους κακοήθεις επιθηλιακούς όγκους της ωθήκης και γενικά περί μορφομετρίας. Γίνεται επίσης αναφορά στην επιδημιολογία, στην αιτιολογία, στη σταδιοποίηση, στην πρόγνωση και στις σύγχρονες θεραπευτικές αντιλήψεις της νόσου και αναλύεται διεξοδικά η μεθοδολογία της μορφομετρίας, παράλληλα προς τη γενική αναφορά στο γνωστικό αντικείμενο της μορφομετρίας.

Στο δεύτερο μέρος παρουσιάζεται το υλικό της μελέτης, η μέθοδος της έρευνας και η μεθοδολογία της στατιστικής εκτίμησης των αποτελεσμάτων.

Στο τρίτο μέρος αναφέρονται τα αποτελέσματα και ακολουθεί η αξιολόγηση τους και η συζήτηση. Το μέρος αυτό συμπληρώνει η περίληψη και η βιβλιογραφία.

Οφείλω να εκφράσω στο σημείο αυτό, τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της προσπάθειας μου αυτής.

- Κατ' αρχή στον Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης, κ. Γεώργιο Σ. Δελίδη για την ανάθεση της Διατριβής και τις χρήσιμες υποδείξεις και παρατηρήσεις του σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της. Χωρίς τη δική του συμπαράσταση και ενθάρρυνση η διατριβή αυτή δεν θα είχε ολοκληρωθεί.
- Επίσης στην Παθολογοανατόμο κ. Ιωάννα Λέκκα, Επιμελήτρια Α στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Νοσοκομείου Μεταξά, για την πολύτιμη βοήθεια της στο σχεδιασμό και τη συλλογή των στοιχείων της μελέτης.
- Στον Αναπληρωτή Καθηγητή Βιοστατιστικής του τμήματος Κοινωνικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης, κ. Ιωάννη Βλαχονικολή, για τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της μελέτης.
- Στον Διευθυντή του Γυναικολογικού τμήματος του Νοσοκομείου Μεταξά κ. Ιωάννη Ζή, για την ενθάρρυνση και τη βοήθεια του σε όλη τη διάρκεια της πραγματοποίησης της μελέτης.
- Στην Παθολογοανατόμο κ. Ευφροσύνη Πρωτοπαπά Επιμελήτρια Α, αναπληρώτρια Διευθύντρια στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Νοσοκομείου Μεταξά, για τη βοήθεια της στην εκμάθηση και εξοικείωση με το υπολογιστικό πρόγραμμα της μορφομετρίας.
- Στον Αναπληρωτή Καθηγητή της Μαιευτικής και Γυναικολογικής κλινικής του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Ευγένιο Κουμαντάκη για την ενθάρρυνση και τη συμμετοχή του στην παρακολούθηση της εργασίας.
- Στον Επίκουρο Καθηγητή του τμήματος Ογκολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Γεώργιο Σαμώνη για τη συμμετοχή του στην παρακολούθηση της εργασίας.
- Στο νοσηλευτικό προσωπικό του νοσοκομείου Μεταξά και ιδιαίτερα της γυναικολογικής κλινικής, που με τόση επιμέλεια και υπομονή νοσήλευσαν τις ασθενείς οι οποίες αποτέλεσαν το υλικό της εργασίας αυτής.

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

- α. Κακοήθη επιθηλιακά νεοπλάσματα των ωθηκών
- β. Μορφομετρία

ΚΑΚΟΗΘΗ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ
ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ
ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ
ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ
ΠΡΟΓΝΩΣΗ
ΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ
Η ΗΛΙΚΙΑ
Ο ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ
Η ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ
ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗΣ ΝΟΣΟΥ
Η ΕΓΧΕΙΡΗΣΗ ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΥ
ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ
ΤΟ ΑΝΤΙΓΟΝΟ CA 125
ΟΙ ΟΓΚΟΙ ΟΡΙΑΚΗΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ
ΟΙ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ
Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΩΝ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ

α1. Εισαγωγή

Τα κακοήθη νεοπλάσματα της ωοθήκης είναι νόσος των αναπτυσσόμενων κοινωνιών και συγκαταλέγεται μεταξύ των συχνότερων εντοπίσεων όσον αφορά την επίπτωση και τη θνησιμότητα στις περισσότερες βιομηχανικές χώρες (La Vecchia και συν 1992).

Οι όγκοι των ωοθηκών καθώς βρίσκονται στο βάθος της περιτοναϊκής κοιλότητας, αναπτύσσονται ύπουλα, φθάνοντας συχνά σε μεγάλα μεγέθη πριν γί-

νουν αντιληπτοί από τις ασθενείς. Η ανυπαρξία αυτή χαρακτηριστικών συμπτωμάτων της νόσου και αποτελεσματικής διαγνωστικής μεθόδου σε αρχικά στάδια καθιστούν την έγκαιρη διάγνωση της νόσου καθαρά τυχαίο γεγονός (Piver και συν 1991, Nagell 1993).

Η ανάπτυξη του πρωτοπαθούς όγκου ακολουθείται από διήθηση των παρακείμενων ιστών και οργάνων και δημιουργία εμφυτεύσεων στην περιτοναϊκή κοιλότητα (Correland 1991).

Οι περισσότερες περιπτώσεις αφορούν ηλικίες μεταξύ 55 και 59 ετών.

Τα τελευταία χρόνια ο αριθμός των ασθενών που επιβιώνουν για 5 χρόνια έχει αυξηθεί. Ο ρυθμός όμως αύξησης παραμένει βραδύς. Η αύξηση αυτή της επιβίωσης οφείλεται κυρίως στην εφαρμογή νέων θεραπευτικών πρωτοκόλλων στα οποία παράλληλα προς την ογκομειωτική επέμβαση έχουν προστεθεί νέες δραστικότερες φαρμακευτικές ουσίες.

Οι μελέτες που αφορούν τα μονοκλωνικά αντισώματα βρίσκονται σε εξέλιξη και πιστεύεται ότι θα βοηθήσουν στη διάγνωση και τη θεραπεία των ασθενών με μικρή υπολειπόμενη νόσο. Παράλληλα, το carboplatin και ορισμένα παράγωγα του λευκόχρυσου καθώς και παράγοντες που αντιμετωπίζουν τις παρενέργειες των χημειοθεραπευτικών βρίσκονται σε κλινική εφαρμογή, ενώ πλέον ελπιδοφόρο φάρμακο φαίνεται ότι είναι το taxol (Hoskins 1991).

Το πεδίο όμως με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον έχει η έγκαιρη διάγνωση. Στον τομέα αυτό η ανάπτυξη των εφαρμογών του αντιγόνου Ca 125 είναι σημαντική. Μελλοντικό στόχο αποτελεί η ανακάλυψη μίας δοκιμασίας που θα επιτρέπει τη διάγνωση της νόσου στο στάδιο της αρχικής ανάπτυξης, όπου τα ποσοστά επιτυχίας της θεραπείας πλησιάζουν το 80% (Hoskins 1991).

α2. Επιδημιολογία

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία τα κακοήγη νεοπλάσματα της ωοθήκης είναι η δεύτερη σε συχνότητα κακοήθεια στο γυναικείο γεννητικό σύστημα (Silverberg 1989, Nagell 1993), η 6η πιο συχνή κακοήθεια της γυναίκας (4%), η 4η πιο κοινή αιτία θανάτου των γυναικών από κακοήθεια (5%), μετά τον καρκίνο του μαστού, του εντέρου και του πνεύμονα και η πιο συχνή αιτία θανάτου από γυναικολογική κακοήθεια (5%). Επίσης θεωρείται η πιο συχνή κακοήθεια που εμφανίζεται σε προχωρημένο στάδιο (67%) (Tomatis και συν 1990, Piver και συν 1991).

Στην Ελλάδα, αναφέρεται επίπτωση 2.5 για ηλικίες ≤ 44 ετών, 13.5 για 45-64 ετών και 13.3 για ≥ 65 ετών. Μεταξύ όλων των κακοηθειών, οι κακοήθειες της ωοθήκης αφορούν το 2.6%, ενώ ο σχετικός κίνδυνος να αναπτυχθεί κακοήθεια σε ηλικία μικρότερη των 75 ετών είναι 0.5 (πίνακας 1) (Jensen και συν 1990).

Όσον αφορά τη θνησιμότητα στη χώρα μας αυξήθηκε τα τελευταία 30 χρόνια, με ετήσιο ρυθμό περίπου 2%. Στα τέλη της 10ετίας του 1980 αναφέρεται θνησιμότητα 3 γυναίκες ανά 10^5 γυναίκες/χρόνια (Κατσουγιάννη και συν 1990).

Πίνακας 1

Επίπτωση και Θνησιμότητα στην Ελλάδα των κακοήθων όγκων της ωοθήκης		
	Επίπτωση	Θνησιμότητα
Σύνολο	6.6	4.1
0 - 44	2.5	0.6
45 - 64	13.5	8.2
≥ 65	13.3	11.8
Σχετ. Κίνδυνος	0.5	0.3
% όλων των κακοηθειών	2.6	3.0

Η επίπτωση της νόσου παρέμεινε σταθερή κατά τα τελευταία 20 χρόνια στις περισσότερες χώρες της Βορείου Ευρώπης και Αμερικής, ενώ αυξήθηκε

αντίστοιχα στον Κινέζικο πληθυσμό της Σιγκαπούρης, στην Ιαπωνία και στις Ινδίες (Tomatis και συν 1990, Parazzini και συν 1991). Σε ότι αφορά τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, αναφέρεται μία τάση μείωσης της επίπτωσης και της θνησιμότητας περισσότερο εμφανής σε ηλικίες 20-44 ετών, ιδιαίτερα στις γυναίκες των Βορείων χωρών. Στη Νότιο Ευρώπη, όπου τα ποσοστά ήταν αρχικά χαμηλά, διαπιστώθηκαν αυξητικές τάσεις. Οι αλλαγές αυτές οφείλονται πιθανά σε διάφορους παράγοντες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται αλλαγές στην επίδραση διαφόρων παραγόντων κινδύνου, βελτίωση των διαγνωστικών και θεραπευτικών μέσων, εφαρμογή της ωθηκεκτομής και για τις νεαρές ηλικίες η προστατευτική δράση των ευρέως χρησιμοποιούμενων αντισυλληπτικών (La Vecchia και συν 1992).

α3. Αιτιολογία

Η ανατομική θέση του οργάνου, η ανυπαρξία χαρακτηριστικών συμπτωμάτων της νόσου και αποτελεσματικής διαγνωστικής μεθόδου σε αρχικά στάδια καθιστούν την έγκαιρη διάγνωση της νόσου καθαρά τυχαίο γεγονός (Piver και συν 1991, Silverberg και συν 1990, Myers και συν 1989, Nagell 1993). Επίσης, 4%-20% των ασθενών αναφέρουν προηγούμενη συντηρητική επέμβαση, όπως υστερεκτομή με διατήρηση της μίας ή και των δύο ωοθηκών. Δεν έχει όμως τεκμηριωθεί αν οι γυναίκες αυτές κατατάσσονται σε ομάδα αυξημένου κινδύνου (Αραβαντινός 1985, Barber 1993).

Αντίθετα με ότι πιστεύαμε μέχρι το 1970, ο οικογενής αιτιολογικός παράγοντας δεν είναι σπάνιος (Lugain and Piver 1979, Piver και συν 1982, Piver και συν 1993). Φαίνεται ότι μεταβιβάζεται κατά τα πρότυπα της κληρονομικότητας με επικρατούντα παθολογικά γονίδια, με ποικίλη διεισδυτικότητα (Piver και συν 1993). Έτσι, αναμένεται να νοσήσουν γυναίκες με βεβαρημένο ιστορικό σε ποσοστό που φθάνει το 50%. Στις περιπτώσεις αυτές η νόσος εμφανίζεται 10 - 15 χρόνια νωρίτερα απ' ότι στις γυναίκες χωρίς κληρονομική επιβάρυνση (Yancik και συν 1986), οι οποίες αναμένεται να νοσήσουν σε ποσοστό 1,4 % (1:70). Για το λόγο αυτό πολλοί συστήνουν σε γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο να υποβάλλονται, από την ηλικία των 20 ετών, σε έλεγχο κάθε 6 μήνες που να περιλαμβάνει εκτός από γυναικολογική εξέταση, υπερηχογράφημα και προσδιορισμό του Ca 125 και στην ηλικία των 35 ετών σε προφυλακτική ωοθηκεκτομή εφ' όσον συμπλήρωσαν την οικογένειά τους (Piver και συν 1991, 1993, Barber 1993). Η μέθοδος όμως αυτή δεν αποδείχτηκε απόλυτα ασφαλής. Ορισμένες υψηλού κινδύνου γυναίκες ανέπτυξαν ενδοκοιλιακή καρκινωμάτωση που δεν διέφερε ιστολογικά από τον ωοθηκικό καρκίνο λίγα χρόνια μετά την προφυλακτική ωοθηκεκτομή, πιθανά λόγω της κοινής εμβρυολογικής προέλευσης του μεσοθηλίου της ωοθήκης και του περιτοναίου (DiSaia και Creasman 1993).

Έχει αναφερθεί επίσης η οικογενής συσχέτιση του καρκίνου των ωοθηκών με τον καρκίνο του μαστού (Lynch και συν 1978, 1993).

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες που έχουν συνδεθεί με τον καρκίνο των ωοθηκών εντοπίζονται στα χρωμοσώματα 1, 3, 6 και 11. Συχνά πρόκειται για απώλεια ειδικών περιοχών όπως τμήματα των χρωμοσωμάτων 3p και 6q καθώς και των 11p και 17 (Piver και συν 1991).

Από επιδημιολογικές μελέτες δε διαπιστώθηκαν σαφείς αιτιολογικοί παράγοντες για την ανάπτυξη των όγκων της ωοθήκης. Το 50% όλων των γυναικών με ωοθηκικό καρκίνο είναι μεταεμμηνοπαυσιακές, ενώ το 25% έχουν φυσιολογικό γεννητικό κύκλο και το 25% παρουσιάζουν διαταραχές της εμμήνου ρύσεως.

Αυξημένη αναλογία παρουσιάζεται σε γυναίκες άτοκες ή που έμειναν έγκυες σε μεγάλη ηλικία καθώς και σε γυναίκες με ιστορικό επανειλημμένων αυτομάτων εκτρώσεων. Επίσης διαπιστώθηκε αυξημένη επίπτωση σε ασθενείς που παρουσίασαν παλαιότερα καρκίνο του μαστού ή του ενδομητρίου. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι σημαντικό ρόλο διαδραματίζει ο αριθμός των ωοθυλακιορρηξιών. Ετσι, αναφέρεται αυξημένος κίνδυνος στις άτοκες, ενώ η κύηση, η χρήση αντισυλληπτικών, η καθυστερημένη εμμηναρχή και η εμμηνόπαυση σε μικρή ηλικία έχουν προστατευτική δράση (Silverberg 1990, Whitmore και συν 1989, Kvale και συν 1989, Hakama 1991, Whittemore 1993, Barber 1993).

Κατά ορισμένους ερευνητές δύο κύριες χημικές ουσίες που εμπλέκονται σαν αιτιολογικοί παράγοντες στην ανάπτυξη των κακοηθειών αυτών είναι ο άσβεστος και η σκόνη talc, η οποία επηρεάζει τις ωοθήκες με σχετικό κίνδυνο 1.9 όταν τοποθετείται στο περίνεο και απορροφάται μέσω του κόλπου και του τραχήλου (Cramer και συν 1982). Κατ' άλλους δε διαπιστώθηκε ανάλογη συσχέτιση (Whittmore και συν 1988).

Όσον αφορά τους διαιτητικούς παράγοντες ενοχοποιείται η μεγάλη κατανάλωση κρέατος, ζωικού λίπους (Cramer και συν 1984, Piver και Mettlin 1990), λακτόζης (Cramer και συν 1989), η μειωμένη κατανάλωση λαχανικών και β-καροτίνης (Whittmore και συν 1989) ενώ οι απόψεις δίστανται αναφορικά με την κατανάλωση καφέ, αλκοόλ ή τσιγάρων (Piver και συν 1991, Parazzini και συν 1990). Στους πίνακες 2 και 3 αναφέρεται ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης ωοθηκικής κακοήθειας σε σχέση με την κατανάλωση καφέ και λίπους αντίστοιχα και με όρια αξιοπιστίας 95% (Parazzini και συν 1990).

Οι μελέτες που αναφέρονται στην αιτιολογική σχέση των ιώσεων και ειδικότερα του ιού της παρωτίτιδας και της ερυθράς δεν παρέχουν στοιχεία αξιόλογα (Cramer και συν 1983).

Εχει τέλος διαπιστωθεί, χωρίς να είναι απόλυτα παραδεκτό, αυξημένη επίπτωση ωοθηκικού καρκίνου και ομάδας αίματος A (Bjorkholm 1984).

Πίνακας 2

Σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης κακοήθειας στην ωθήκη σε σχέση με την κατανάλωση καφέ		
Ερευνητής (έτος)	Κατανάλωση καφέ (φλυτζ./ημ.)	Σχετικός κίνδυνος
Τζώνου & συν (1984)	0.5-1	0.9
	1.5-2	1.6
	2.5-3	0.9
	≥ 3.5	1.5
Miller & συν (1987)	1	1.3
	2	1.2
	3	1.3
	4	1.7
	≥ 5	1.1
Whittemore & συν (1988)	1	2.4
	2-3	2.3
	≥ 4	2.1

Πίνακας 3

Σχετικός κίνδυνος για ανάπτυξη ωθηκικής κακοήθειας σε σχέση με την κατανάλωση λίπους				
Ερευνητής (έτος)	Κατανάλωση λίπους			
	1	2	3	4
Byers & συν (1983)	1	1.3	1.2	-
Cramer & συν (1984)	1	1.4	1.9	1.8
La Vecchia & συν (1987)	1	1.2	2.1	-
Shu & συν (1989)	1	1.1	1.8	1.9

α4. Ταξινόμηση

- Για την ταξινόμηση των όγκων της ωοθήκης έχουν προταθεί κατά καιρούς διάφορες κατατάξεις, που αναφέρονται στα κλασσικά συγγράμματα. Στη μελέτη αυτή ακολουθείται η ιστολογική ταξινόμηση που έχει προταθεί από τη Διεθνή Ομοσπονδία Μαιευτήρων και Γυναικολόγων (FIGO) το 1973 :

Ταξινόμηση των όγκων της ωοθήκης	
I. ΚΟΙΝΟΙ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΙ ΟΓΚΟΙ	V. ΟΓΚΟΙ ΑΠΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ
α) Ορώδεις όγκοι.	α) Δυσγονίωμα.
β) Βλεννώδεις όγκοι	β) Ογκοί του ενδοδερμικού κόλπου.
γ) Ενδομητριοειδείς όγκοι.	γ) Εμβρυϊκό καρκίνωμα.
δ) Διαυγοκυτταρικοί ή Μεσονεφρικοί όγκοι.	δ) Πολυεμβρύωμα.
στ) Μικτοί Επιθηλιακοί όγκοι.	ε) Χοριοκαρκίνωμα.
ζ) Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα.	στ) Τεράτωμα (άωρο, ώριμο).
η) Αταξινόμητοι επιθηλιακοί όγκοι.	VI. ΟΓΚΟΙ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΟΓΕΝΕΙΣ ΜΗ ΕΙΔΙΚΟΙ ΣΤΗΝ ΩΟΘΗΚΗ.
II. ΟΓΚΟΙ ΓΕΝΝΗΤΙΚΗΣ ΤΑΙΝΙΑΣ	VII. ΑΤΑΞΙΝΟΜΗΤΟΙ.
α) Ογκοί κοκκιδώδους στιβάδας και στρώματος	VIII. ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟΙ.
β) Αρρενοβλάστωμα (Sertoli - Leydig)	IX. ΟΓΚΟΜΟΡΦΕΣ ΜΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΕΣ.
γ) Γυνανδροβλάστωμα.	α) Ορώδης κύστη εξ εγκλεισμού.
δ) Αταξινόμητοι όγκοι.	β) Κύστη ωχρού σωματίου.
III. ΟΓΚΟΙ ΑΠΟ ΛΙΠΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ	γ) Κύστη λευκού σωματίου.
IV. ΟΓΚΟΙ ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΝΝΗΤΙΚΗΣ ΤΑΙΝΙΑΣ	δ) Ωχρινοποιημένη κύστη της ωοθήκης.
α) Γοναδοβλάστωμα.	ε) Ενδομητρίωση.
β) Μικτό.	στ) Κύστη ωοθυλακίου.
	ζ) Ωχρίνωμα της κνήσεως.

- Τα επιθηλιακά νεοπλάσματα των ωοθηκών αντιπροσωπεύουν πάνω από το 80% των κακοήθων όγκων του οργάνου. Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται οι συχνότητες των ιστολογικών τύπων σύμφωνα με τις αναφορές διάφορων ερευνητών (Berek 1989, Czernobilsky και συν 1987, Hernandez και Rosenheim 1989, DiSaia και Creasman 1993).

Πίνακας 4

Συχνότητα ιστολογικών τύπων				
	Czernobilsky και συν 1987	Berek 1989	Hernandez και Rosenheim 1989	DiSaia και Creasman 1993
Ορώδη	40%	75%	50%	42%
Βλεννώδη	6% - 10%	20%	13%	12%
Ενδομητριοειδή		2%	}	15%
Διαυγοκυτταρικά		< 1%		10%
όγκοι Brenner		< 1%		
Αδιαφοροποίητα		< 1%		17%

α5. Σταδιοποίηση

Μετά τη διάγνωση ενός καρκίνου οι προσπάθειες στρέφονται στην εκτίμηση της ανατομικής έκτασης και στην αξιολόγηση προγνωστικών παραμέτρων. Έτσι καθορίζεται το στάδιο της νόσου που είναι χρήσιμο για πολλούς λόγους. Το στάδιο χαρακτηρίζει διάφορες προγνωστικές ομάδες ασθενών και καθορίζει διαφορετικές θεραπευτικές προσεγγίσεις. Είναι με λίγα λόγια μία κοινή γλώσσα για τους ασχολούμενους με τον καρκίνο σε όλο τον κόσμο και επιτρέπει την εξαγωγή συγκριτικών συμπερασμάτων.

Τα πλέον χρησιμοποιούμενα συστήματα σταδιοποίησης για τους γυναικολογικούς όγκους προτάθηκαν από τη Διεθνή Ένωση Μαιευτικής και Γυναικολογίας (FIGO) (πίνακας 5).

Οι γυναικολογικοί όγκοι σταδιοποιούνται με κλινικές και χειρουργικές πληροφορίες.

Ο καρκίνος της ωθήκης έχει την τάση να επεκτείνεται σε περιτοναϊκές επιφάνειες με εμφύτευση των κακοήθων κυττάρων που είτε αποφολιδώνονται από την επιφάνεια του πρωτοπαθούς ωθηκικού όγκου, είτε διασπείρονται μετά τη ρήξη ενός κυστικού ωθηκικού νεοπλάσματος (Larry και Copeland 1991, DiSaia και Creasman 1993). Στις περιπτώσεις αυτές, τα πιο συχνά σημεία εμφύτευσης είναι η κυστεομητρική πτυχή, ο δουλάσειος, το επίπλου, οι παρακολικές αύλακες, ο ορογόνος του εντέρου, το μεσεντέριο και το διάφραγμα.

Η αιματογενής διασπορά της νόσου είναι σπάνια και η διήθηση παρεγχυματικών οργάνων συνιστά πολύ προχωρημένη εκδήλωση της νόσου (Heintz 1991).

Η διασπορά των καρκινικών κυττάρων γίνεται με τη μεταφορά τους από το περιτοναϊκό ή το ασκτικό υγρό. Η διασπορά αυτή υποβοηθείται από την αρνητική ενδοκοιλιακή πίεση. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες το 80% του περιτοναϊκού υγρού παροχετεύεται μέσω των άφθονων λεμφαγγείων του διαφράγματος προς τα λεμφαγγεία και τους λεμφαδένες του οπισθίου μεσοθωρακίου, ενώ σε μικρότερες ποσότητες (20%) μέσω των διαφραγματικών λεμφαγγείων που εισέρχονται στη χυλοφόρο δεξαμενή και ακολούθως στο μείζονα θωρακικό πόρο (Williams και Warwick 1980). Η απόφραξη των λεμφαγγείων αυτών από τα καρκινικά κύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία του ασκτικού υγρού, το οποίο επίσης παράγεται συνεπεία περιτοναϊκής αντιδράσεως (Averette 1983, Young και συν 1983).

Ο καρκίνος της ωοθήκης επεκτείνεται ακόμη και μέσω των λεμφικών αγγείων του οργάνου. Η κύρια οδός λεμφικής διασποράς ακολουθεί τα λεμφαγγεία που πορεύονται κατά μήκος των ωοθηκικών αγγείων. Από τα δεξιά, αυτή η οδός οδηγεί πρώτα στους παραορτικούς λεμφαδένες στο ύψος του κάτω πόλου του δεξιού νεφρού, ενώ από τα αριστερά στο ύψος της πύλης του αριστερού νεφρού (Williams και Warwick 1980). Ένας δεύτερος λεμφικός δρόμος ακολουθεί τον πλατύ σύνδεσμο και καταλήγει στους λαγόνιους λεμφαδένες, ενώ τρίτος δρόμος καταλήγει κατά μήκος του στρογγύλου συνδέσμου στους βουβωνικούς λεμφαδένες (Burghardt και συν 1986, Barber 1986, Fuks 1980).

Πίνακας 5

Κατά FIGO σταδιοποίηση του ωοθηκικού καρκίνου (FIGO 1986, 1988).

ΣΤΑΔΙΟ	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ
I	Ο όγκος περιορίζεται στις ωοθήκες.
Ia	Ανάπτυξη στη μία μόνο ωοθήκη. Όχι ασκίτης με κακοήθη κύτταρα, Όχι διήθηση της κάψας, Όχι ρήξη της κάψας.
Ib	Όγκος και στις δύο ωοθήκες. Όχι ασκίτης με κακοήθη κύτταρα, Όχι διήθηση της κάψας, Όχι ρήξη της κάψας.
Ic	Όγκος στη μία ή και στις δύο ωοθήκες και ασκίτης με κακοήθη κύτταρα, θετικές περιτοναϊκές εκπλύσεις ή διήθηση της κάψας ή ρήξη της κάψας.
II	Ο όγκος προσβάλλει τη μία ή και τις δύο ωοθήκες και έχει επεκταθεί και στην ελάσσονα πύελο.
IIa	Επέκταση ή/και μετάσταση στη μήτρα ή/και στις σάλπιγγες.
IIb	Επέκταση σε άλλους πυελικούς ιστούς.
IIc	Όγκος σταδίου IIa ή IIb με διήθηση της επιφάνειας μίας ή και των δύο ωοθηκών, ή με ρήξη της κάψας, ή με ασκίτη που περιέχει καρκινικά κύτταρα ή με θετικές περιτοναϊκές εκπλύσεις.
III	Όγκος προσβάλλει τη μία ή και τις δύο ωοθήκες και έχει δώσει μετάσταση στην περιτοναϊκή κοιλότητα, έξω από την ελάσσονα πύελο ή/και με θετικούς παραορτικούς ή λαγόνιους λεμφαδένες. Επιφανειακή μετάσταση στο ήπαρ Όγκος περιορισμένος στην ελάσσονα πύελο, αλλά με μετάσταση στο λεπτό έντερο ή το επίπλουον.
IIIa	Όγκος που περιορίζεται στην ελάσσονα πύελο, με αρνητικούς λεμφαδένες, αλλά μικροσκοπική διήθηση των περιτοναϊκών επιφανειών.
IIIb	Όγκος της μίας ή και των δύο ωοθηκών με αρνητικούς λεμφαδένες, αλλά οι διηθήσεις των περιτοναϊκών επιφανειών δεν ξεπερνούν τα 2 εκ.
IIIc	Ενδοκοιλιακές εμφυτεύσεις μεγαλύτερες των 2 εκ ή/και μετάσταση στους λεμφαδένες.
IV	Εξωπεριτοναϊκές μεταστάσεις ή μετάσταση στο παρέγχυμα του ήπατος ή πλευρικό υγρό με θετική κυτταρολογική εξέταση.

Η εμφάνιση της νόσου στις περιτοναϊκές επιφάνειες είναι δυνατόν να μην οφείλεται σε εμφύτευση ή μετάσταση από την πρωτοπαθή εστία αλλά να παριστά πολλαπλούς πρωτοπαθείς καρκίνους ενός κοινού αιτιολογικού παράγοντα. Οι όγκοι δηλαδή δυνατόν να εμφανίζονται de novo πολυεστιακά, ιδιαίτερα στο περιτόναιο της ελάσσονος πυέλου και ιστολογικά να μη ξεχωρίζουν από τον καρκίνο που αναπτύσσεται στην ίδια την ωοθήκη. Αυτές οι μορφές καρκίνου μπορεί να προέρχονται από το επιθήλιο των πόρων του Müller που παραμένει σαν εμβρυϊκό υπόλειμμα σε ορισμένες περιτοναϊκές περιοχές και υπό την επίδραση ογκογόνων παραγόντων υφίσταται κακοήγη εξαλλαγή. Όπως είναι γνωστό εμβρυολογικά ο πόρος του Müller προέρχεται από το εμβρυϊκό σπλαχνικό επιθήλιο (embryonal coelomic epithelium). Ο ίδιος μηχανισμός καρκινογένεσης ίσως είναι υπεύθυνος και για την πρωτοπαθή εστία (August και συν 1985, Pickel και συν 1989).

- Η σταδιοποίηση της νόσου είναι χειρουργική και πρέπει να γίνεται με μεθοδικότητα (Young και συν 1983, Hoskins 1993, Averette 1993).

Τεχνική χειρουργικής σταδιοποίησης

- Τομή μέση, κάθετος, υπερυπομφάλιος.
- Συλλογή του ασκτικού υγρού ή περιτοναϊκές πλύσεις (ημιδιαφράγματα, παρακολικές αύλακες, δουλγάσειος, κυστεομητρική πτυχή) για κυτταρολογική εξέταση.
- Προσεκτική επισκόπηση και ψηλάφηση των ενδοκοιλιακών οργάνων.
- Αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου καθώς και κάθε άλλης μάζας που μπορεί να αφαιρεθεί.
- Αμφοτερόπλευρος σαλπινγο-ωοθηκεκτομή, ολική υστερεκτομή.
- Επιπλοεκτομή.
- Εκλεκτική λήψη πτυελικών και παραορτικών λεμφαδένων.
- Σκωληκοειδεκτομή, αν και δεν είναι απαραίτητη, συνιστάτε σε βλενωδεις όγκους (Copeland 1991).
- Λήψη τυχαίων βιοψιών από πτυελικό περιτόναιο, κυστεομητρική πτυχή, δουλγάσειο, παρακολικές αύλακες, διάφραγμα, περιοχές με συμφύσεις, κάψα ήπατος.

Η ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ
ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ
Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ
ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΗΣ
ΟΓΚΟΙ ΟΡΙΑΚΗΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ
ΑΡΧΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΩΟΘΗΚΩΝ
ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΟΙ ΩΟΘΗΚΙΚΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΙ
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ Η ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΜΕ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΟ
ΣΧΗΜΑ
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΓΚΩΝ
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΡΙΘΜΟΥ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑΣ

β1. Εισαγωγή

Η πρόγνωση του ωοθηκικού καρκίνου δεν μπορεί να καθοριστεί απόλυτα όταν η διάγνωση δε συνοδεύεται από τις διάφορες παραμέτρους που ήδη αναφέρθηκαν (στάδιο νόσου, κυτταρική διαφοροποίηση κλπ). Το πρακτικό όμως πρόβλημα είναι η υποκειμενικότητα ως προς την εκτίμηση ορισμένων από τις παραμέτρους αυτές. Η μεγάλη αξία της μορφομετρίας έγκειται στη μετατροπή μίας απόλυτης και υποκειμενικής διάγνωσης σε αντικειμενική και αναπαραγώγιμη. Είναι συνεπώς, εμφανής η συμβολή της τόσο στη διαγνωστική των κακοήθων νεοπλασμάτων, όσο και στην ανεύρεση νέων προγνωστικών παραμέτρων (Δελίδης 1990, Baak και συν 1992).

Στον πίνακα 6, που ακολουθεί παρουσιάζονται οι μορφομετρικοί όροι σε αντιστοιχία με τους περιγραφικούς.

Πίνακας 6

Αντιστοιχία μορφομετρικών και περιγραφικών όρων	
<i>Περιγραφικοί όροι</i>	<i>Μορφομετρικοί όροι</i>
1. Κυτταρική πολυμορφία 2. Πυρηνική πολυμορφία	Μεταβολή της περιφέρειας των κυττάρων ή πυρήνων (roundness)
3. Ανισομεγέθεις ή ποικιλομεγέθεις πυρήνες	Αυξημένη σταθερή απόκλιση μεγέθους πυρήνων
4. Μεγεθυσμένα κύτταρα ή πυρήνια	Αυξημένη κυτταροπλασματική επιφάνεια Αυξημένη επιφάνεια πυρήνων Αυξημένη επιφάνεια πυρήνιων
5. Αυξημένη πυρηνοκυτταροπλασματική σχέση	Αυξημένη σχέση επιφάνειας πυρήνα προς επιφάνεια κυτταροπλάσματος
6. Αλλαγή κατανομής χρωματίνης	Μεταβολή παραμέτρων δομής πυρήνα (nuclear texture)
7. Ελαττωμένη κυτταρική συνοχή	Μικρό μέγεθος βλαστών και λίγα κύτταρα βλαστών

Οι Aherne και Dunhill (1982) την αναφέρουν σαν κλάδο των μαθηματικών ενώ ο Weibel (1969) τη χαρακτηρίζει σαν την ποσοτική περιγραφή ενός συνθέτου στερεού.

Υπό τον όρο Μορφομετρία περιλαμβάνονται όλες οι μέθοδοι μέτρησης, που χρησιμοποιούνται στην Ανατομική, την Ιστολογία και την Παθολογική Ανατομική, όπως η Επιπεδομετρία/Στερεολογία, η Κυτταρομετρία (ροής ή στατική), η Μικροσκοπία Σαρώσεως με laser (Laser Scanning Microscopy), οι εφαρμογές Τεχνητής Νοημοσύνης (Artificial Intelligence) και η Βιομετρία (Baak και συν 1991). Από το 1985, με πρόταση της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής (E.S.P.), ο όρος «μορφομετρία» αντικαταστάθηκε, χωρίς να υπάρχει πλήρης συμφωνία από τους ειδικούς, από τον όρο «Υπολογιστική Παθολογική Ανατομική» (Quantitative Pathology) (Δελίδης 1990).

Η μορφομετρία διακρίνεται σε :

α) *Μακροσκοπική*, όπου βασιζόμενοι στην αξιολόγηση των διαστάσεων ή/και του βάρους ενός χειρουργικού παρασκευάσματος προσπαθούμε να εκτιμήσουμε τις πιθανότητες που έχουμε για να εντοπίσουμε μία εσωτερική αλλοίωση. Η μακροσκοπική μορφομετρία διακρίνεται σε κυτταρομορφομετρία και ιστομορφομετρία.

β) *Μικροσκοπική* με την οποία μπορούμε να υπολογίσουμε παραμέτρους πυρήνων, κυττάρων, αριθμό πυρηνοκινησιών κλπ. Είναι δυνατόν να εφαρμοστεί σε τομές ιστών, σε βιοψίες δια βελόνης, σε κυτταρολογικά επιχρίσματα, σε κυτταρολογικά παρασκευάσματα ασκτικού ή άλλου υγρού.

Πλανιμετρία είναι το τμήμα εκείνο της μορφομετρίας που αναφέρεται σε εκτίμηση δισδιάστατων όγκων, ενώ το τμήμα της μορφομετρίας που ανάγει τα δεδομένα της δισδιάστατης ανάλυσης σε τρεις διαστάσεις ονομάζεται *στερεομετρία*.

Οι παράμετροι που μελετώνται με μορφομετρικές μεθόδους παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί :

Παράμετροι που μελετώνται με μορφομετρικές μεθόδους

- Πυρηνική επιφάνεια
- Κυτταροπλασματική επιφάνεια
- Επιφάνεια πυρήνιων
- Περιφέρεια, άξονες και σχέσεις αξόνων - πυρήνων
- Μορφή περιφέρειας πυρήνων
- Σταθερή απόκλιση μεγέθους πυρήνων
- Πυρηνοκυτταροπλασματική σχέση
- Κατανομή χρωματίνης πυρήνων
- Μιτωτικός δείκτης
- Μέγεθος νεοπλασματικών σχηματισμών (π.χ. καρκινωμάτων βλαστών)
- Ποσοστό συστατικών στοιχείων νεοπλάσματος (π.χ. ποσοστό επιθηλιακών στοιχείων) και κυτταροβρίθεια
- Μέγεθος κυττάρων και δομών του νεοπλάσματος
- Καθορισμός δείκτη ευπλοειδικότητας (τυκνομετρική ανάλυση του DNA)

β2. Ιστορική ανασκόπηση

Το ενδιαφέρον των γιατρών για την ανεύρεση ποσοτικών κριτηρίων κακοήθειας χρονολογείται από τα τέλη του περασμένου αιώνα, ενώ ήδη το 1932 οι Roessle και Roulet δημοσίευσαν το πρώτο εγχειρίδιο Μορφομετρίας.

Από το 1890 ο Hansemann διατύπωσε την υπόθεση ότι όλοι οι καρκίνοι χαρακτηρίζονται από ασύμμετρη διαίρεση κυττάρων, ενώ το 1892 ο Stroebe διαφώνησε καθώς παρατήρησε ασύμμετρες μιτώσεις σε αναγεννώμενους ιστούς και μη κακοήθεις όγκους. Σε αντίθεση προς τον Hansemann, ο Boveri το 1914 αναφέρει ότι οι ποιοτικές αλλαγές αφορούν τα χρωμοσώματα των καρκινικών κυττάρων (Baak και Tosi 1991).

Τη δεκαετία του 1930 ο Caspersen και οι συνεργάτες του στη Στοκχόλμη έβαλαν τα θεμέλια της σύγχρονης κυτταρομετρίας. Το έργο τους επιβεβαιώθηκε αργότερα από πολλούς ερευνητές και το 1954 από τον Mellors (Baak και Tosi 1991).

Τη δεκαετία του 1950 και 1960, με την πρόοδο της ηλεκτρονικής και των ψηφιακών υπολογιστών επιτεύχθηκε σε ευρεία κλίμακα η μελέτη του DNA των κυττάρων (Kamentsky 1965, Wied 1968, Atkin 1971, Bohm και Sandritter 1975). Το 1955 ο Tolles περιγράφει τον αναλυτή εικόνας, ενώ αργότερα διάφοροι ερευνητές (Tanaka 1979 από την Ιαπωνία, Reinhart 1979, Zahniser 1980 από τη Γερμανία, Tucker και Shippey 1983 από την Αγγλία, Brugal 1984 από τη Γαλλία, Ploem 1986 από την Ολλανδία) ασχολούνται με συστήματα αυτόματης ανάλυσης της εικόνας (computerised image analysis) (Baak και Tosi 1991).

Με την πάροδο των ετών η κυτταρομετρία και η ανάλυση των γεωμετρικών στοιχείων των κυττάρων αναπτύχθηκαν ανεξάρτητα. Οσον αφορά τη μορφομετρία, από το 1925 (Greenhough) αναφέρεται σημαντική προγνωστική αξία του αριθμού των μιτώσεων σε καρκίνο μαστού, ενώ σχεδόν παράλληλα ορισμένοι ερευνητές άρχισαν να ασχολούνται με τη μέτρηση του μεγέθους του πυρήνα του καρκινικού κυττάρου (Jacobs 1925, Heiberg και Kemp 1929, Haumeder 1933, Baak και Tosi 1991).

Ο Chalkley πρώτος το 1943 εφάρμοσε μορφομετρική μέθοδο (μέθοδο μέτρησης σημείων) στην Παθολογική Ανατομική, με βάση τη γνωστή από την Ορυκτολογία αρχή του Delesse (1842) και την εφαρμογή της σε μικροσκόπιο

με ειδικούς προσοφθάλμιους φακούς από το μεταλλειολόγο Glagoleff (1933) σε μία ογκομετρική ανάλυση (Glagoleff 1933, Chalkley 1943, Delesse 1847).

Η αρχή του Delesse αποτελεί τη βάση της ογκομετρικής ανάλυσης των ιστών με τη μέθοδο της μορφομετρίας : «Εάν πάρουμε μία τομή από μία μάζα, που περιλαμβάνει δεδομένα συστατικά, το τμήμα της τομής που καλύπτεται από τις διατομές των συστατικών είναι ανάλογο προς το τμήμα της συνολικής μάζας που καταλαμβάνεται από τα συστατικά».

Η ιδιαίτερη άνθηση που γνώρισε τη δεκαετία του 1950 και 1960 η μορφομετρική και στερεολογική ανάλυση των ιστών οφείλεται κυρίως στις προσπάθειες του Ελβετού Weibel (Weibel 1963). Τις επόμενες δεκαετίες 1970 και 1980, η μέθοδος αυτή διαδόθηκε ευρέως, εφαρμόστηκε δε και σε μη ογκολογικά περιστατικά (Oberholzer 1983, Baak και Oort 1983, Baak και Tosi 1991).

β3. Η μέθοδος της μορφομετρίας για τη μελέτη των νεοπλασμάτων της ωοθήκης.

Ειδικά για την ωοθήκη, ο Baak από το 1981 χρησιμοποίησε μορφομετρικές μεθόδους για την προγνωστική μελέτη των όγκων της. Ο ίδιος συγγραφέας το 1985 και το 1988 όσο και ο Haapasalo το 1989 αναφέρουν μεγάλη ακρίβεια των μορφομετρικών μεθόδων για την πρόγνωση των όγκων οριακής κακοήθειας (borderline) καθώς και για τους καρκίνους σταδίου I και II (Baak 1991, Haapasalo και συν 1989).

Όσον αφορά τους προχωρημένους καρκίνους (FIGO III, IV), λίγοι ερευνητές και μόνο σχετικά πρόσφατα έχουν ασχοληθεί και οι μελέτες τους είναι ακόμη περιορισμένης αξίας, γιατί μελετήθηκε μικρός αριθμός περιπτώσεων, με σκοπό κυρίως τη διερεύνηση των δυνατοτήτων της μεθόδου (Baak 1988, Haapasalo και συν 1989, Ludescher 1990, Rollanson 1992).

β3.1 Ογκοι Οριακής κακοήθειας

Ο αριθμός των όγκων οριακής κακοήθειας που πιθανόν έχουν δυσμενή εξέλιξη είναι εξαιρετικά μικρός. Είναι λοιπόν απαραίτητο οι προγνωστικές μέθοδοι που εφαρμόζονται να έχουν μεγάλη ευαισθησία και προγνωστική αξία.

Μεταξύ των μορφομετρικών χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν διαπιστώθηκε ότι ο μιτωτικός δείκτης και η κυτταροβρίθεια σχετίζονται κυρίως με κακή πρόγνωση και υπερτερούν σε προγνωστική αξία έναντι του ιστολογικού τύπου, της κυτταρικής διαφοροποίησης του όγκου και της έκτασης της νόσου (Baak και συν 1981, 1985). Η μελέτη του DNA εκτιμάται ως περιορισμένης προγνωστικής αξίας. Διαπιστώθηκε ανευπλοειδικότητα σε 16% των ασθενών μίας μελέτης, χωρίς καμία από αυτές να καταλήξει σε θάνατο (Klemi 1988).

Παραμένει λοιπόν σαν το κυριότερο κριτήριο κακοήθειας η διηθητική ανάπτυξη ιδίως για τους ορώδεις και ενδομητριοειδείς όγκους. Για τους βλενώδεις όγκους κάποιο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει ο βαθμός της πυρηνικής ατυπίας, όταν απουσιάζει η διηθητική ανάπτυξη (Baak και van Diest 1991).

β3.2 Αρχικά στάδια καρκίνου ωοθηκών (FIGO I)

Το ποσοστό των ασθενών σταδίου I, όλων των ιστολογικών τύπων καρκίνου ωθηκών που επιβιώνουν την πρώτη πενταετία από την αρχική διάγνωση, ανέρχεται κατά μέσο όρο σε 70% (Baak 1991).

Στο στάδιο αυτό διαπιστώθηκε ότι το μέγεθος του πυρήνα και η περιεκτικότητα σε DNA συνιστούν αξιόλογους προγνωστικούς παράγοντες. Ετσι, αναφέρεται επιλογή των ασθενών αυτών σε 3 προγνωστικές ομάδες ανάλογα με τις τιμές του μιτωτικού δείκτη (ΜΔ) και της κυτταροβρίθειας (ΚΥ) :

Ομάδα Α : ΜΔ < 30 - ΚΥ < 65, ομάδα Β : ΜΔ < 30 - ΚΥ > 65, ομάδα Γ : ΜΔ > 30 - ΚΥ > 65 (Baak 1991).

Η πενταετής επιβίωση των ασθενών με διπλοειδικούς όγκους ανέρχεται σε 68%, ενώ σε ασθενείς με ανευπλοειδικούς όγκους φθάνει στο 37% (Baak 1991).

Από το συσχετισμό μορφομετρικών και κυτταρομετρικών παραμέτρων διαπιστώθηκε ότι για τους διπλοειδικούς όγκους, οι μορφομετρικοί παράμετροι έχουν επιπρόσθετη προγνωστική αξία (αναφέρεται επιβίωση 91% για τις περιπτώσεις της ομάδας Α, 63% για αυτές της Β και 50% για τις Γ). Όσον αφορά τους ανευπλοειδικούς όγκους, καμία από τις ασθενείς που μελετήθηκαν δεν ανήκε στην κατηγορία Α, ενώ η επιβίωση των ασθενών με ανευπλοειδικούς όγκους και μορφομετρικής κατηγορίας Γ ανήλθε στο 29% (Erhardt και συν 1984, Baak και συν 1986, 1987).

β3.3 Προχωρημένοι ωθηκικοί καρκίνοι (FIGO III και IV)

Στον προχωρημένο καρκίνο των ωθηκών λίγες μελέτες έχουν γίνει μέχρι σήμερα. Ετσι ο ακριβής καθορισμός των μορφομετρικών προγνωστικών παραμέτρων που θα μας βοηθήσουν στην επιλογή των ασθενών με καλή πορεία βρίσκεται ακόμη υπό έρευνα.

Σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα δεδομένα, ο χαμηλός ΜΔ και ΚΥ φαίνεται να σχετίζονται με την καλή πρόγνωση, ενώ η προγνωστική σημασία της πλοειδικότητας στους καρκίνους αυτούς είναι αμφισβητήσιμη (Baak 1988, Friedlander 1988, Kuhn 1988, Rodenburg 1988).

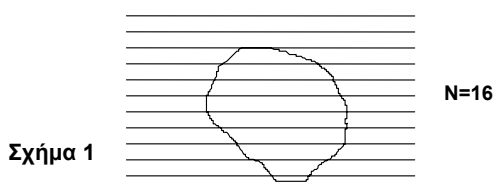
β4. Μεθοδολογία της μορφομετρίας

Η λέξη *μορφομετρία* σημαίνει "μέτρηση μορφών", ο Weibel όμως το 1969 την προσδιόρισε σαν "τον ποσοτικό προσδιορισμό μιας δομής" και αργότερα σαν "ποσοτική μορφολογία, μέτρηση των δομών με κάθε μέθοδο συμπεριλαμβανόμενης και της στερεολογίας" (Weibel 1969, 1979).

β4.1 Μετρήσεις σε κύτταρα ή σε σχηματισμούς με περιορισμένο σχήμα.

β4.1.1 Μέτρηση Περιμέτρου

Για τη μέτρηση της περιμέτρου ενός στοιχείου (κυττάρου ή πυρήνα) εφαρμόζουμε τη θεωρία του προβλήματος της βελόνας του Georges Louis Leclerc και προβάλλουμε το προς μέτρηση στοιχείο (κύτταρο, πυρήνα) σε ένα επίπεδο με παράλληλες γραμμές (σχήμα 1), σταθερής μεταξύ τους απόστασης d .



$$\text{Η εξίσωση μέτρησης είναι : } l = \frac{\pi d}{2} N,$$

όπου, l το μήκος της περιμέτρου, d η απόσταση μεταξύ των γραμμών, N ο αριθμός των σημείων στα οποία οι παράλληλες γραμμές τέμνουν την περίμετρο (Δελίδης 1990).

β4.1.2 Μέτρηση Εμβαδού

Ο υπολογισμός του εμβαδού ενός στοιχείου μπορεί να γίνει με :

1. τον πολλαπλασιασμό των δύο αξόνων (μεγαλύτερου \times μικρότερου).

2. το Εμβαδόμετρο (πλανίμετρο) : όργανο που χρησιμοποιούν οι μηχανικοί για τη μέτρηση επιφανειών.

Χαρτοκοπτική : η εικόνα προβάλλεται και ζωγραφίζεται σε χαρτί μέσω μίας camera lucida ή φωτογραφίζεται. Ακολούθως κόβονται όλα τα προς μέτρηση στοιχεία, ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας και με την εφαρμογή του τύπου :

$$E = \frac{B_a 100}{B_x}$$

(B_a : το βάρος του προς μέτρηση στοιχείου, B_x : το βάρος χαρτιού 10x10 εκ.) προκύπτει το εμβαδόν.

3. Μέτρηση στιγμών. Το οπτικό πεδίο καλύπτεται από στιγμές που βρίσκονται σε σταθερές μεταξύ τους αποστάσεις. Αν υπολογίσουμε τη σχέση του αριθμού των στιγμών που καλύπτουν την προς μέτρηση επιφάνεια προς το συνολικό αριθμό των στιγμών, προκύπτει η σχέση του εμβαδού των δύο επιφανειών. Ακολουθεί αναγωγή σε πραγματικές μονάδες. Η μέτρηση με τη μέθοδο αυτή είναι δύσκολη και εφαρμόζεται κυρίως σε τμήματα ιστών (Δελίδης 1990).

β4.1.3 Σύγκριση σχημάτων

Προκειμένου να συγκρίνουμε μεταξύ τους τα σχήματα κυττάρων ή πυρήνων, χρησιμοποιούμε τις τιμές παραγόντων που προκύπτουν από τη σχέση της επιφάνειας προς την περίμετρο ενός σχήματος. Η επιφάνεια όμως είναι μέγεθος δισδιάστατο, ενώ η περίμετρος μονοδιάστατο. Η μετατροπή και των δύο μεγεθών σε μόνο ή δισδιάστατα επιτυγχάνεται ή με την τετραγωνική ρίζα της επιφάνειας ή με το τετράγωνο της περιμέτρου.

Προκύπτουν λοιπόν :

- ο **σχηματικός παράγων (Shape factor) f** από την εξίσωση :

$$f = \frac{\sqrt{S}}{p}$$

(όπου S = επιφάνεια και p = περίμετρος). Σε ένα κύκλο f=0.28 και σε ένα τετράγωνο f=0.25, και

- ο **παράγων κυκλικότητας (Roundness) r** από την εξίσωση :

$$r = \frac{4\pi S}{p^2}, \text{ σε ένα κύκλο } r = 1.$$

Τους δύο αυτούς παράγοντες, που αφορούν επίπεδα σχήματα, χρησιμοποιούμε για να συγκρίνουμε μεταξύ τους τα σχήματα κυττάρων ή πυρήνων.

- η **σχηματική σταθερά (shape coefficient) β** από την εξίσωση :

$$Nv = \frac{k\bar{N}A \sqrt{\bar{N}A}}{\beta \sqrt{Vv}} \text{ και } \beta = \frac{k\bar{N}A \sqrt{\bar{N}A}}{Nv \sqrt{Vv}}$$

όπου N ο αριθμός των προς μέτρηση στοιχείων ανά μονάδα όγκου (αριθμός κυττάρων ανά χιλιοστά ιστού), $\bar{N}A$ η μέση τιμή του αριθμού των προς μέτρηση στοιχείων ανά μονάδα μέτρησης επιφάνειας (μέση τιμή κυττάρων ανά οπτικό πεδίο), Vv το ποσοστό του όγκου που καταλαμβάνεται από το προς μέτρηση στοιχείο (ποσοστό του όγκου του ιστού που καταλαμβάνεται από τα κύτταρα), k μία σταθερά που σε μετρήσεις κυττάρων είναι ίση με 1 και υπολογίζεται σε ειδικές περιπτώσεις (Δελίδης 1990).

β4.2 Μέτρηση όγκων

Ο Γάλλος γεωλόγος Delesse το 1874 διατύπωσε την αρχή που φέρει το όνομά του και αποτελεί τη βάση της ογκομετρικής ανάλυσης των ιστών με τη μέθοδο της μορφομετρίας : *Σε ένα πέτρωμα που αποτελείται από ένα αριθμό ορυκτών το εμβαδόν που καλύπτεται από ένα δεδομένο ορυκτό στην επιφάνεια μίας τυχαίας διατομής του πετρώματος είναι ανάλογο με τον όγκο του ορυκτού στο πέτρωμα.* Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή υπάρχει αναλογική σχέση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του όγκου ενός καρκίνου. Αρκεί λοιπόν να μετρήσουμε καρκινικά κύτταρα - σημεία - για να υπολογίσουμε τον όγκο ενός καρκίνου από μία τομή, σύμφωνα με τη μέθοδο που πρώτος ο Chalkley το 1943 εφάρμοσε (Δελίδης 1990).

Η μέτρηση όγκων μπορεί να γίνει λοιπόν με τη μέθοδο μέτρησης σημείων (point counting technique), η οποία είναι γρήγορη, απλή και ακριβής. Σε ιστικές τομές μίας αλλοίωσης επιπροβάλλεται πλέγμα στιγμών οπότε ο όγκος της (V_a) ισούται με το άθροισμα των λόγων των στιγμών που καλύπτουν την αλλοίωση σε κάθε οπτικό πεδίο (T_1, T_2, \dots, T_n) προς το σύνολο των στιγμών που καλύπτουν το σύνολο του ιστού στο οπτικό πεδίο (S_1, S_2, \dots, S_n) :

$$V_a = \frac{T_1}{S_1} + \frac{T_2}{S_2} + \dots + \frac{T_n}{S_n} \text{ ή } V_a = \frac{T}{S},$$

αν η μετρούμενη ιστική τομή καλύπτει όλο το οπτικό πεδίο (Δελίδης 1990).

Το ερώτημα είναι πόσες στιγμές πρέπει να μετρηθούν και αυτό εξαρτάται από τον υπολογισμό του σχετικού σταθερού σφάλματος, που πρέπει να είναι ίσο ή μικρότερο του 5% (0,05). Αν λοιπόν η ο αριθμός των στιγμών που πρέπει να μετρηθούν, RSE το σχετικό σταθερό σφάλμα και Vv ο σχετικός όγκος που προκύπτει από δοκιμαστική μέτρηση σε 100 στιγμές (αριθμός στιγμών επί του δοκιμαστικά μετρούμενου στοιχείου / 100) το RSE προκύπτει από την εξίσωση :

$$RSE = \frac{\sqrt{1 - Vv}}{\sqrt{\eta}}$$

Ο αριθμός των στιγμών η που προκύπτει, αντιστοιχεί στο σχετικό όγκο Vv.

Για να υπολογίσουμε λοιπόν το σύνολο των στιγμών που πρέπει να μετρηθούν βασιζόμαστε στο τύπο :

$$\Sigma = \eta \frac{1}{Vv}$$

και δεχόμαστε ότι το ιστικό δείγμα είναι ικανοποιητικό αν μετρήσουμε τόσα οπτικά πεδία όσα χρειάζονται ώστε το σύνολο των στιγμών που τα καλύπτουν να είναι Σ. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι έχει σημασία το σύνολο των Σ στιγμών που θα μετρηθούν και όχι ο αριθμός των οπτικών πεδίων. Είναι γενικά καλύτερα να μετρηθούν λίγες στιγμές σε πολλές ιστικές τομές, οι οποίες πρέπει να είναι τόσο περισσότερες όσο μικρότερος είναι ο όγκος του στοιχείου που μελετάται (Δελίδης 1990).

Το σταθερό σφάλμα του μετρούμενου όγκου υπολογίζεται από τον τύπο :

$$SE = \frac{\sqrt{P(100-P)}}{\sqrt{N}}$$

όπου P το ποσοστό % των στιγμών που καλύπτουν το στοιχείο που μελετάται στο σύνολο των οπτικών πεδίων μίας τομής και N ο αριθμός των στιγμών που καλύπτουν το σύνολο των ιστών στην τομή.

Το σταθερό σφάλμα στο σύνολο των μετρήσεων προκύπτει από τον τύπο :

$$SE_{\Sigma} = \frac{1}{N} \sqrt{\Sigma_i N_i P_i (100 - P_i)}$$

όπου Σ_i το άθροισμα των NP (100-P) όλων των τομών, N_i το σύνολο των

στιγμών που καλύπτουν την τομή 1 και P_1 το ποσοστό των στιγμών που καλύπτουν το προς μέτρηση στοιχείο στην τομή 1 (Δελίδης 1990).

β4.2.1 Ο όγκος των Ογκων

Από σειρά μελετών έχει αποδειχτεί η προγνωστική σημασία του συνολικού όγκου που καταλαμβάνουν τα νεοπλασματικά κύτταρα σε ένα νεόπλασμα (Δελίδης 1990). Το ποσοστό αυτό του όγκου προκύπτει από την εξίσωση :

$$V_v = \frac{T_1 (1^3 - 0^3) + T_2 (2^3 - 1^3) + \dots + T_n [N^3 - (N-1)^3]}{S_1 (1^3 - 0^3) + S_2 (2^3 - 1^3) + \dots + S_n [N^3 - (N-1)^3]} \text{ (Underwood 1972).}$$

β4.3 Μετρήσεις αριθμού κυττάρων

Ο πραγματικός αριθμός των κυττάρων, σε σχήματα που είναι ή τείνουν προς το σφαιρικό, υπολογίζεται από την εξίσωση :

$$N_v = NA \frac{NA}{D} \text{ (DeHoff και Rhines 1968),}$$

όπου : N_v ο αριθμός των κυττάρων στον όγκο, NA η μέση τιμή διατομών κυττάρων που μετρήθηκαν ανά οπτικό πεδίο και D ο μέσος όρος των διαμέτρων των διατομών των κυττάρων που μετρήθηκαν (Δελίδης 1990).

Το ερώτημα που τίθεται είναι πόσες στιγμές πρέπει να μετρήσουμε για να έχουμε μία αντιπροσωπευτική τιμή του όγκου. Θα πρέπει να έχουμε επίσης όρια αξιοπιστίας 95% ($SE \leq 0.05$). Έτσι κάνουμε μία δοκιμαστική μέτρηση 10 οπτικών πεδίων και βρίσκουμε τη μέση τιμή των κυττάρων στα 10 οπτικά πεδία (\bar{x}), τη σταθερή της απόκλιση (SD_x) και εφαρμόζουμε την εξίσωση :

$$n = \left(\frac{200}{y} \frac{SD_x}{\bar{x}} \right)^2 \text{ (DeHoff και Rhines 1968),}$$

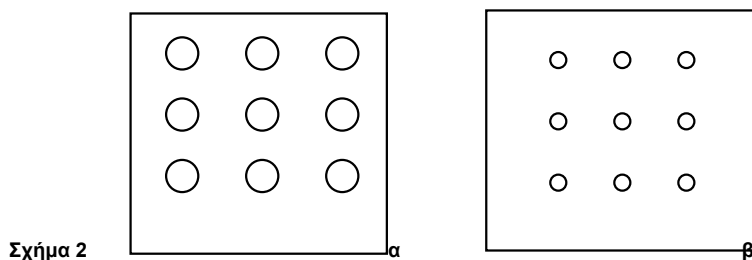
όπου : n ο αριθμός των οπτικών πεδίων που πρέπει να μετρηθούν, $y = SE$ και SD_x η σταθερή απόκλιση που προέκυψε από τη δοκιμαστική μέτρηση.

Είναι γενικά παραδεκτό ότι μεγαλύτερη σημασία για την αξιοπιστία μίας μέ-

τρησης έχει ο συνολικός αριθμός των σημείων σε πολλά οπτικά πεδία παρά η μέτρηση πολλών σημείων σε λίγα οπτικά πεδία (Δελίδης 1990).

β4.3.1 Ελεγχος Κυτταροβρίθειας

Η κυτταροβρίθεια είναι παράγων διαφορετικός από τον αριθμό των κυττάρων, εξαρτάται και από τον αριθμό τους και από τον όγκο τους. Στο σχήμα 2 είναι σαφές ότι ο ιστός α είναι πιο κυτταροβριθής έστω και αν έχει τον ίδιο αριθμό κυττάρων με το β.



Ο δείκτης κυτταροβρίθειας (ρ) ενός ιστού υπολογίζεται από την εξίσωση :

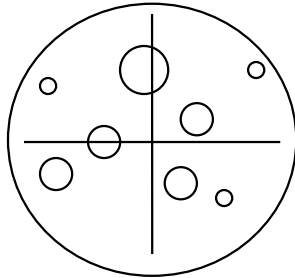
$$\rho = \frac{t}{\bar{D} + t} \rho'$$

όπου t το πάχος της ιστολογικής τομής, \bar{D} η μέση διάμετρος των κυττάρων και ρ' ο αριθμός των κυττάρων ανά οπτικό πεδίο (Δελίδης 1990).

Για τη συγκριτική μελέτη νεοπλασματικών ιστών έχει σημασία η αξιολόγηση και της κυτταροβρίθειας. Για το σκοπό αυτό επιπροβάλλεται ένα πλέγμα στιγμών με σταθερές μεταξύ τους αποστάσεις και μετρείται ο αριθμός των στιγμών που καλύπτουν τα ιστικά στοιχεία της τομής. Συνήθως χρησιμοποιούμε πλέγμα 16 τετραγώνων και μετράμε τους πυρήνες των κυττάρων σε μεγέθυνση 400x. Μετράμε τις πλέον κυτταροβριθείς περιοχές και όχι τα κύτταρα που βρίσκονται σε επαφή με τα όρια του πλέγματος. Ανάλογη μέθοδος έχει περιγραφεί από τους Baak και συνεργάτες (1982) για τη μέτρηση της κυτταροβρίθειας στον καρκίνο του μαστού, οι οποίοι χρησιμοποίησαν πλέγμα (6X6) 36 τετραγώνων με μεγέθυνση X1000 και 5 οπτικά πεδία (Δελίδης 1990).

β4.4 Μέτρηση επιφάνειας

Η μέτρηση επιφανειών είναι δυνατόν να γίνει με την εφαρμογή της αρχής της γραμμικής διατομής που βασίζεται στην ακόλουθη μέθοδο : Δύο ίσες γραμμές γνωστού μήκους L και κάθετες μεταξύ τους στο μέσο, επιπροβάλλονται στο οπτικό πεδίο (σχήμα 3).



Σχήμα 3

Σχήμα 3

Η μέση τιμή γραμμικής διατομής προκύπτει από την εξίσωση :

$$\bar{L} = \frac{n 2L}{I},$$

όπου n = ο αριθμός των οπτικών πεδίων και I = ο αριθμός που οι γραμμές θα κόψουν τα όρια του προς μέτρηση στοιχείου στο σύνολο των μετρήσεων (στο σχήμα 3 το κόβουν 4 φορές αλλά το I προκύπτει από το σύνολο των οπτικών πεδίων).

Επομένως η συνολική επιφάνεια του ιστού υπολογίζεται από τον τύπο :

$$S = \frac{2V}{\bar{L}},$$

όπου V είναι ο όγκος του προς μέτρηση στοιχείου (Aherne and Dunhill 1982).

Η θεωρητική απόδειξη της μεθόδου βασίζεται στο πρόβλημα της βελόνας του Buffon και χρειάζεται για να γίνει αντιληπτή γνώσεις ανωτέρων μαθηματικών (Δελίδης 1990).

Ακόμη μεγαλύτερης αξίας είναι η σχέση επιφάνειας προς τον όγκο. Μπορούμε να υπολογίσουμε τη σχέση αυτή, αν επιπροβάλλουμε ένα πλέγμα με γραμμές γνωστού ίσου μήκους l στην τομή, από τον τύπο :

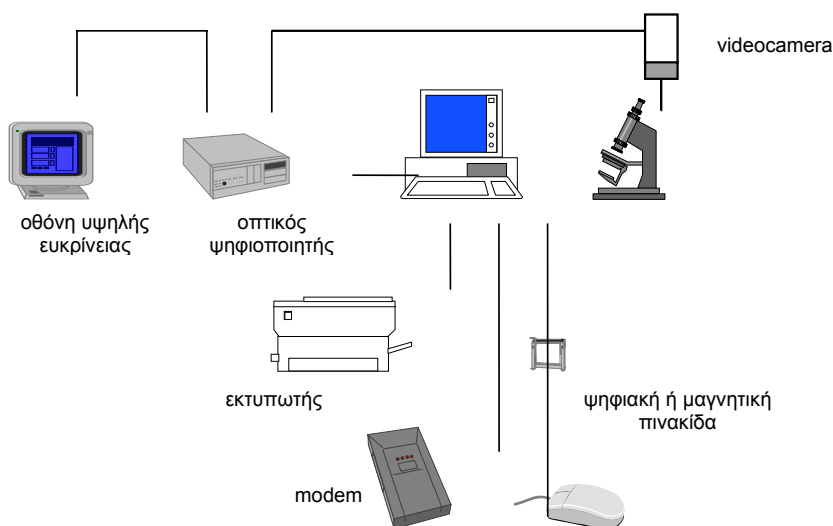
$$\frac{S}{V} = \frac{4c}{lh},$$

όπου c ο αριθμός των διατομών της επιφάνειας από τις γραμμές και h ο αριθμός των συμπτώσεων των άκρων των γραμμών με τον προς μέτρηση σχηματισμό (Δελίδης 1990).

β5. Συστήματα Μορφομετρίας

Σήμερα υπάρχουν διάφορα συστήματα ποσοτικής μελέτης ιστών και κυττάρων που βασίζονται στη χρήση των ηλεκτρονικών υπολογιστών, οι οποίοι έχουν διευκολύνει ριζικά τις μετρήσεις.

1. Η **κλασσική μορφομετρία** χρησιμοποιεί από απλά μορφομετρικά συστήματα όπως ο Βερνιέρος του μικροσκοπίου και τα πλέγματα, έως πλέον πολύπλοκα συστήματα που περιλαμβάνουν : ηλεκτρονικό υπολογιστή, εκτυπωτή, πρόγραμμα (software), μαγνητική πινακίδα (ΜΠ) (Digitizing tablet) και σύστημα επιπροβολής του οπτικού πεδίου του μικροσκοπίου στη ΜΠ, το οποίο μπορεί να είναι κλειστό σύστημα τηλεόρασης συνδεδεμένο με τον ηλεκτρονικό υπολογιστή, την ΜΠ και το μικροσκόπιο ή μία camera lucida (σχήμα 4).



Σχήμα 4 : Σχηματική απεικόνιση συστήματος μορφομετρίας.

Η μαγνητική πινακίδα αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό μαγνητικών στιγμών και το δείκτη ο οποίος συνδεδεμένος με το σύστημα φέρεται πάνω σ' αυτή και ενεργοποιείται από ένα διακόπτη. Διαδοχικές ενεργοποιήσεις του δείκτη έχουν σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μίας γραμμής, η οποία περι-

γράφει ένα στοιχείο (κύτταρο), το οποίο απομνημονεύεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή και εμφανίζεται στην οθόνη του (Δελίδης 1990).

2. Στατική, ψηφιακή ηλεκτρονική ανάλυση εικόνας (image analysis), αυτόματη ή ημιαυτόματη (interactive) :

Νέες επιστημονικές ανακαλύψεις έχουν σαν αποτέλεσμα την αναζήτηση περισσότερων πληροφοριών από την οπτική εικόνα. Η μετατροπή της αναλογικής εικόνας του μικροσκοπίου σε ψηφιακή ενός PC πραγματοποιείται από ένα φωτοευαίσθητο σύστημα (οπτικός ψηφιοποιητής) που παράγει κωδικοποιημένους αριθμούς σε μέτρο της έντασης του φωτός (αποκλίσεις από το μαύρο - grey scale analysis). Με τη μορφή αυτή η εικόνα αποθηκεύεται στη μνήμη του υπολογιστή και πραγματοποιούνται διάφορες μετρήσεις με βάση τη διαφορά έντασης της φωτεινότητας (σχήμα 5). Ένα τέτοιο σύστημα στην πιο απλή μορφή αποτελείται από το μικροσκόπιο, έναν υπολογιστή, μία videocamera και μία οθόνη. Υπάρχουν όμως και συστήματα ανάλυσης της εικόνας εξαιρετικά πολύπλοκα σε μηχανικό εξοπλισμό, τα οποία απαιτούν ειδικές γνώσεις του χειριστή (Δελίδης 1990).



Σχήμα 5 : Σχηματική παράσταση μετατροπής οπτικού σήματος σε ψηφιακή εικόνα.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

- γ1. Υλικό**
- γ2. Μορφομετρική Μέθοδος**
- γ3. Στατιστική Ανάλυση**

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

ΥΛΙΚΟ
ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

γ1. Υλικό

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 60 ασθενείς που χειρουργήθηκαν στη γυναικολογική κλινική του ΓΠΑΝΠ «Μεταξά» τη δωδεκαετία 1976 - 1988 για καρκίνο των ωθηκών.

Κριτήρια για την επιλογή των ασθενών, με σκοπό την ακριβέστερη μελέτη της επιβίωσης, αποτέλεσαν εκτός από τη διάγνωση της νόσου, η ηλικία να μην είναι μεγαλύτερη των 75 ετών ώστε να υπάρχει προσδόκιμος χρόνος

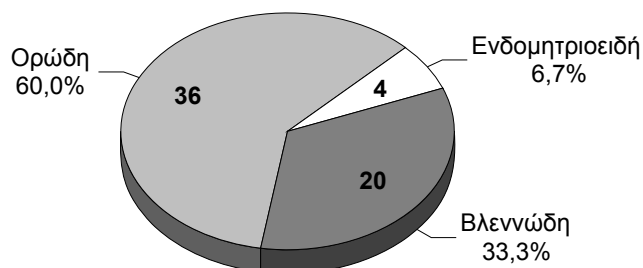
επιβίωσης, η καλή γενική κατάσταση, η καλή νεφρική και ηπατική λειτουργία και το ελεύθερο προηγούμενης χημειοθεραπευτικής ή ακτινοθεραπευτικής αγωγής ιστορικό.

Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε ενδελεχή σταδιοποίηση που περιελάμβανε μεταξύ άλλων αξονική τομογραφία κοιλίας, έλεγχο για πνευμονική ή ηπατική μετάσταση και λαπαροτομία. Κατά την επέμβαση αυτή, έγινε προσπάθεια μείωσης του φορτίου της νόσου σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο ποσοστό. Η επέμβαση περιελάμβανε ολική υστερεκτομή, αμφοτερόπλευρο σαλπινγγο-ωοθηκεκτομή, επιπλοεκτομή, αφαίρεση των μεταστάσεων, αορτολαγόνιο λεμφαδενικό καθαρισμό και σκωληκοειδεκτομή, έχοντας πάντα υπόψη την ασφάλεια της ασθενούς.

Ακολούθησε χημειοθεραπεία με συνδυασμό cisplatin (100 mg/m^2 σε συνδυασμό με προ και μετενυδάτωση των ασθενών) και κυκλοφωσφαμίδης (500 mg/m^2) κάθε 28 ημέρες για 6 περιόδους.

Μετά την ολοκλήρωση του θεραπευτικού αυτού σχήματος ακολούθησε εγχείρηση επανελέγχου.

Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 58 έτη (διακύμανση 44 - 75). Στη μελέτη αυτή περιελήφθησαν 36 ορώδη, 20 βλεννώδη και 4 ενδομητριοειδή καρκινώματα της ωοθήκης (σχήμα 6).



Σχήμα 6 : Ιστολογική ταξινόμηση των περιστατικών της μελέτης.

Σύμφωνα με τη σταδιοποίηση κατά FIGO, 47 ασθενείς (78.3%) κατατάχτηκαν στο στάδιο III ενώ οι υπόλοιπες 13 (21.7%) στο στάδιο IV. Στον πίνακα 7

παρουσιάζεται η 5-ετής επιβίωση σε σχέση με το στάδιο της νόσου, τον ιστολογικό τύπο και την κυτταρική διαφοροποίηση των περιστατικών της μελέτης. Οι ασθενείς παρακολουθήθηκαν τουλάχιστον για 5 χρόνια ή μέχρι του θανάτου τους.

Οι ασθενείς διακρίθηκαν με βάση το μέγεθος της υπολειπόμενης νόσου σε δύο ομάδες : η μία με υπολειπόμενη νόσο μεγαλύτερη από 2 εκ. και η άλλη με υπολειπόμενη νόσο μικρότερη ή ίση με 2 εκ.

Η ανταπόκριση στη θεραπεία χαρακτηρίστηκε σαν καλή στις περιπτώσεις που διαπιστώθηκε πλήρης ύφεση της νόσου (ΠΑ) και κακή για όλες τις υπόλοιπες περιπτώσεις, στις οποίες παρατηρήθηκαν όλα τα στάδια πορείας από τη μερική ανταπόκριση ως την προοδευτικά εξελισσόμενη νόσο (ΕΝ). Όσον αφορά την επιβίωση, χρησιμοποιήθηκε σαν πλέον αντικειμενικό κριτήριο το εάν οι ασθενείς επέζησαν στην πενταετία ή όχι.

Πίνακας 7

Η 5-ετής επιβίωση σε σχέση με το στάδιο της νόσου, τον ιστολογικό τύπο και την κυτταρική διαφοροποίηση					
	η	%	5-ετής επιβίωση		
Στάδιο (FIGO)					
III	47	78.3	22	(46.8%)	
IV	13	21.7	0	(0.0%)	
Ιστολογικός τύπος					
ορώδη	36	60.0	15	(41.6%)	
βλενώδη	20	33.3	6	(30.0%)	
ενδομητριοειδή	4	6.6	1	(25.0%)	
Διαφοροποίηση					
ανώτερη	9	15.0	5	(55.5%)	
μέτρια	36	60.0	13	(36.1%)	
χαμηλή	15	25.0	4	(26.6%)	

γ2. Μορφομετρική Μέθοδος

Οι μορφομετρικές μετρήσεις έγιναν σε ιστολογικές τομές αιματοξυλίνης-ηωσίνης, πάχους 5 μm, στις περιοχές του όγκου που παρουσίαζαν τη μεγαλύτερη ατυπία, αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα, αυξημένη κυτταροβρίθεια και βρίσκονταν πάντα μακριά από φλεγμονή, νέκρωση ή εξέλκωση. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε υλικό που προερχόταν από την πρωτοπαθή εστία και είχε μονιμοποιηθεί σε αλατούχο ουδέτερο υδατικό διάλυμα φορμαλδεΐδης 4%.

Στις επιλεγμένες αυτές περιοχές σε τυχαία καρκινικά κύτταρα με ανέπαφη πυρηνική μεμβράνη και χρωματίνη και με μεγέθυνση x787 (αντικειμενικός x63, προσοφθάλμιος x12.5) εκτιμήθηκε η πυρηνική επιφάνεια (ΠΕΠ), η πυρηνική περίμετρος (ΠΠΕ), ο μεγαλύτερος και μικρότερος πυρηνικός άξονας (ΜΕΠΑ - ΜΙΠΑ), η κυκλικότητα του πυρήνα (ΚΥΚΛ), η κυτταροβρίθεια (ΚΥ) και ο μιτωτικός δείκτης (ΜΔ).

Οι μετρήσεις έγιναν με τη βοήθεια συστήματος ανάλυσης εικόνας (Digital Image Analysis) αποτελούμενου από ηλεκτρονικό υπολογιστή βασιζόμενο σε ένα 80486 μικροϋπολογιστή, του εμπορικού προγράμματος Image Pro II processing system version 2.0, μικροσκόπιο Reichert Diavar και ψηφιακή κάμερα, η οποία εγκατεστημένη πάνω στο μικροσκόπιο παρουσίαζε την εικόνα του μικροσκοπίου σε μία υψηλής ευκρίνειας οθόνη (εικόνα 1).

Εικόνα 1

Τα υπό μελέτη κύτταρα αναγνωρίζοντο στην οθόνη και οριζόταν μηχανικά το περίγραμμα του πυρήνα τους (εικόνα 2). Το σύστημα χρησιμοποίησε σταθερές που εισήχθησαν με τη μορφή εξισώσεων για τον υπολογισμό των μορφομετρικών στοιχείων σε σχέση με τις οπτικές πληροφορίες. Έτσι προσδιοριζόταν η πυρηνική επιφάνεια, η πυρηνική περίμετρος, ο μεγαλύτερος και μικρότερος πυρηνικός άξονας και η κυκλικότητα του πυρήνα. Οι τιμές καταγράφηκαν στη μνήμη του ηλεκτρονικού υπολογιστή και υπολογίστηκε η μέση τιμή, η σταθερά απόκλιση και το σταθερό σφάλμα για κάθε περίπτωση.

Προκειμένου να εξασφαλιστεί ο αποκλεισμός από τις μετρήσεις των τυχόν μη νεοπλασματικών κυττάρων, προηγήθηκε σε κάθε περιστατικό εκτίμηση των προαναφερόμενων παραμέτρων σε 50 φυσιολογικά κύτταρα και τέθηκαν περιοριστικά όρια για τα κύτταρα που επρόκειτο να εξεταστούν. Ακολούθως μετρήθηκαν τουλάχιστον 100 πυρήνες σε κάθε περίπτωση και υπολογίστηκε η μέση τιμή και η σταθερά απόκλιση για κάθε παράμετρο.

Όσον αφορά την αξιολόγηση της κυτταροβρίθειας και του μιτωτικού δείκτη εφαρμόστηκε η μέθοδος μέτρησης σημείων (point counting technique), που πρώτος ο Chalkley χρησιμοποίησε και βασίζεται στην αρχή του Delesse ότι υπάρχει αναλογική σχέση μεταξύ των στοιχείων ενός όγκου (καρκινικών κυττάρων στην περίπτωση μας) και του όγκου (καρκίνος των ωσθηκών). Οι τομές μας λοιπόν που αποτελούν ένα δισδιάστατο δείγμα αντιπροσωπεύουν το τρισδιάστατο σύστημα από το οποίο προέρχονται. Συμπερασματικά είναι αρκετό να μετρήσουμε καρκινικά κύτταρα για να υπολογίσουμε τον όγκο ενός καρκίνου σε μία τομή.

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε μεγέθυνση x500 και εκτιμήθηκαν 20 συνεχή οπτικά πεδία. Για το σκοπό αυτό επιπροβλήθηκε στην ιστολογική εικόνα ένα πλέγμα με 63 τετράγωνα και μετρήθηκε ο αριθμός των τετραγώνων που αντιστοιχούσε σε πυρήνες κυττάρων (εικόνα 3). Οι τιμές που προέκυψαν για κάθε περίπτωση εξέφραζαν την εκατοστιαία περιεκτικότητα σε νεοπλασματικά κύτταρα. Παράλληλα σε κάθε οπτικό πεδίο μετρήθηκε ο αριθμός των πυρηνοκινησιών. Προκειμένου τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα, έγινε αναγωγή του συνολικού αριθμού των πυρηνοκινησιών στα 20 οπτικά πεδία, σε αριθμό που αντιστοιχούσε σε νεόπλασμα με κυτταροβρίθεια 100%.

Τα ευρήματα των μετρήσεων αυτών συσχετίστηκαν με τους κλινικούς προγνωστικούς παράγοντες.

Με την απλούστευση αυτή και απλοποίηση της μεθόδου, που βασίζεται σε διαχωριστικές μορφομετρικές παραμέτρους, τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά είναι δυνατόν να εκτιμηθούν από το γιατρό χειριστή του

προγράμματος, ο οποίος δεν είναι απαραίτητο να έχει εξειδικευμένες
διαγνωστικές ιστοπαθολογικές γνώσεις.

Εικόνα 2

Εικόνα 3

γ3. Στατιστική Ανάλυση

Οι μορφομετρικές μετρήσεις των όγκων μεταξύ των ασθενών που επέζησαν ή όχι στην 5-ετία εκτιμήθηκαν στατιστικά με τη βοήθεια του t-test και του Wilcoxon rank sum statistic. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 14. Η συσχέτιση της επιβίωσης με τα κλινικά χαρακτηριστικά (στάδιο της νόσου κατά FIGO, υπολειπόμενη νόσος μετά την αρχική επέμβαση, κυτταρική διαφοροποίηση) και τις μορφομετρικές παραμέτρους εκτιμήθηκαν με τη στατιστική δοκιμασία χ^2 ή εφαρμόζοντας το απλό γραμμικό λογιστικό πρότυπο (simple linear logistic model) στους αντίστοιχους πίνακες συνάφειας (Cox 1970). Για την ανάλυση αυτή, οι ποσοτικές μορφομετρικές παράμετροι, που μετρήθηκαν σε συνεχείς κλίμακες, χωρίστηκαν σε 3 κατηγορίες ίσου κατά προσέγγιση μεγέθους. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 9.

Προκειμένου να διακριθούν τα χαρακτηριστικά με ισχυρή προγνωστική αξία σε σχέση με την επιβίωση, σε ένα πολυπαραγοντικό περιβάλλον, ακολουθήθηκαν με το «κατά βήμα» (stepwise) πρότυπο δύο μέθοδοι : α) η Λογιστική ανάλυση παλινδρόμησης (logistic regression) (Cox 1970, Vlachonikolis και Marriott, 1982) και β) η Διακρίνουσα ανάλυση (Discriminant analysis) (Morrison 1976, Vlachonikolis και Marriott 1982).

Οι πραγματικοί χρόνοι επιβίωσης μελετήθηκαν ως εξής :

α) Για κάθε χαρακτηριστικό ή παράμετρο αναλύθηκαν οι καμπύλες επιβίωσης (Kaplan and Meier 1958) με τη στατιστική δοκιμασία Mantel - Cox, καλύτερα γνωστή σαν logrank statistic (Kalbfleisch και συν 1980). Στην ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκαν επίσης οι 3 κατηγορίες των μορφομετρικών χαρακτηριστικών. Οι καμπύλες Kaplan-Meier παρουσιάζονται στα διαγράμματα 1 - 14, οι τιμές Mantel-Cox στον πίνακα 9 και οι καμπύλες των συναρτήσεων κινδύνου στα διαγράμματα 15 - 20.

β) Με το πρότυπο του αναλογιστικού κινδύνου του Cox (Cox's proportional hazards model) για την πολυπαραγοντική ανάλυση της επιβίωσης. Στην ανάλυση αυτή οι μετεγχειρητικές περίοδοι των ασθενών που επέζησαν αλλά δεν είναι γνωστό αν έφθασαν την 5-ετία χαρακτηρίστηκαν σαν μη πλήρεις

ανταποκρίσεις ενώ οι μορφομετρικές ή κλινικές μεταβλητές σαν ανεξάρτητες μεταβλητές (Cox 1972, Kalbfleisch και συν 1980).

Όσον αφορά την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία, εφαρμόστηκε παρόμοια στατιστική δοκιμασία.

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν τα υπολογιστικά προγράμματα EGRET (Epidemiological Graphics, Estimation and Testing package - version 0.26.6) και SPSS (release 5.4).

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

- στ. Αποτελέσματα**
- ζ. Συζήτηση**
- η. Περίληψη**
- θ. Βιβλιογραφία**

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΠΟΥ ΕΠΕΖΗΣΑΝ Η ΟΧΙ ΣΤΟ ΤΕΛΟΣ
ΤΗΣ 5-ΕΤΙΑΣ
ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΚΑΡΛΑΝ-ΜΕΙΕΡ
ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

στ1. Μονοπαραγοντική ανάλυση

Στον πίνακα 8 παρουσιάζονται τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαπιστώθηκε ότι παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων επιβίωσης. Καμία από τις σταθερές αποκλίσεις των χαρακτηριστικών αυτών δεν είναι στατιστικά σημαντική. Αντίθετα, όλες οι μέσες τιμές, εκτός της κυκλικότητας, παρουσιάζουν στατιστική σημαντικότητα. Η συσχέτιση μεταξύ επιβίωσης και όλων των μορφομετρικών χαρακτηριστικών, με εξαίρεση τη κυκλικότητα, είναι στατιστικά σημαντική (πίνακας 9). Σημειωτέον ότι σε αυτή την ανάλυση η συσχέτιση εκτιμήθηκε σε κάθε μία από τις 3 κατηγορίες των χαρακτηριστικών με βάση τις αναλογίες των ασθενών που επιβίωσαν στο τέλος της 5-ετίας. Επίσης, τα κλινικά χαρακτηριστικά, όπως το στάδιο της νόσου, το φορτίο της υπολειπόμενης νόσου και η ανταπόκριση

στη θεραπεία, είναι ισχυροί προγνωστικοί παράγοντες όταν συσχετίζονται με την επιβίωση. Η κυτταρική όμως διαφοροποίηση διαπιστώθηκε ότι δεν αποτελεί ισχυρό προγνωστικό παράγοντα.

Η ανάλυση των χρόνων επιβίωσης εμφανίζει παρόμοια αποτελέσματα. Όλες οι μέσες τιμές των μορφομετρικών χαρακτηριστικών, εκτός της κυκλικότητας, παρουσιάζουν σημαντική θετική συσχέτιση με την επιβίωση (πίνακας 9). Σημειώτεον ότι για κάθε χαρακτηριστικό, μέση τιμή μεγαλύτερη από αυτήν που αντιστοιχεί στην 66.7 εκατοστιαία θέση της κατανομής τους σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση. Έτσι η συνάρτηση κινδύνου όταν συγκρίνεται με τιμές μικρότερες από αυτές που αντιστοιχούν στη 33.3 εκατοστιαία θέση κυμαίνεται μεταξύ 1.64 για τη μέση τιμή του μεγαλύτερου πυρηνικού άξονα (διάγραμμα 16) και 3.752 για την κυτταροβρίθεια (διάγραμμα 18). Γενικά παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις για τις μέσες τιμές της πυρηνικής περιμέτρου, της πυρηνικής επιφάνειας, της κυτταροβρίθειας, του μιτωτικού δείκτη καθώς και του σταδίου της νόσου, της ανταπόκρισης στη θεραπεία και του μεγέθους της μάζας της υπολειπόμενης νόσου.

Ο λόγος κινδύνου για το στάδιο IV όταν συγκρίνεται με το στάδιο III είναι 3.988. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το κλινικό ιστορικό γιατί καμία από τις ασθενείς σταδίου IV δεν επέζησε 5 χρόνια μετά το χειρουργείο και η διάμεση επιβίωση ήταν μόνο 19 μήνες.

Η εξελισσόμενη νόσος επίσης συνιστά όπως αναμένεται δυσμενή προγνωστικό παράγοντα και έχει συνάρτηση κινδύνου 3.654 όταν συγκρίνεται με την πλήρη υποχώρηση της νόσου (διάγραμμα 17). Μόνο οι 4 (14.8%) από τις 27 ασθενείς με εξελισσόμενη νόσο επιβίωσαν για 5 μετεγχειρητικά χρόνια (διάμεση επιβίωση 23 μήνες), συγκριτικά με το 54.5% των ασθενών με νόσο που υποχώρησε πλήρως.

Το μέγεθος της υπολειπόμενης νόσου, όταν είναι μεγαλύτερο από 2 εκ. συνιστά επίσης ένα δυσμενή προγνωστικό παράγοντα και εμφανίζει συνάρτηση κινδύνου 2.869, όταν συγκρίνεται με περιστατικά στα οποία η υπολειπόμενη νόσος είναι μικρότερη ή ίση με 2 εκ. (διάγραμμα 19). Από την πρώτη ομάδα των ασθενών επιβίωσε στο τέλος της 5-ετίας το 17.9% και η διάμεση επιβίωση τους ήταν 24.5 μήνες. Η αντίστοιχη επιβίωση της ομάδας των ασθενών με υπολειπόμενη νόσο μικρότερη ή ίση με 2 εκ. ήταν 53.1%.

Πίνακας 8

Διαφορές των μορφομετρικών παραμέτρων μεταξύ των ασθενών που επέζησαν ή όχι στην 5-ετία.

Μορφομετρική παράμετρος		η	Μέση τιμή	Μέσος όρος	p*	p**
Μεγαλύτερος πυρ. αξ.	Επιζώντες	22	85.12	86.15	0.011	0.02
	Μη επιζώντες	38	92.22	93.42		
Μικρότερος πυρ. αξ.	Επιζώντες	22	77.08	75.54	0.001	0.002
	Μη επιζώντες	38	86.63	86.35		
Πυρ. Περίμετρος	Επιζώντες	22	272.12	277.37	0.002	0.003
	Μη επιζώντες	38	298.93	301.09		
Πυρ. Επιφάνεια	Επιζώντες	22	5058.34	5232.42	0.000	0.002
	Μη επιζώντες	38	6216.21	6206.29		
Κυκλικότητα	Επιζώντες	22	0.8926	0.8891	0.324	0.180
	Μη επιζώντες	38	0.8991	0.9034		
Κυτταροβρίθεια	Επιζώντες	22	24.50	22.99	0.003	0.007
	Μη επιζώντες	38	35.62	35.32		
Μιτωτικός Δείκτης	Επιζώντες	22	18.28	14.15	0.021	0.003
	Μη επιζώντες	38	29.86	26.99		

* t - test,

** Wilcoxon rank sum test

Καμία από τις σταθερές αποκλίσεις των μορφομετρικών χαρακτηριστικών δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πίνακας 9

Ανεξάρτητη προγνωστική αξία των κλινικών και μορφομετρικών χαρακτηριστικών (στον πίνακα περιλαμβάνονται τα χαρακτηριστικά με σημαντική ανεξάρτητη προγνωστική αξία)							
Παράμετρος	η	Επιζώντες (%)	ρ	Μέση Επιβίωση (μήνες)	Mantel Cox	ρ	Συνάρτηση Κινδύνου
Στάδιο νόσου							
III	47	22 (46.8)	< 0.001	47	17.972	< 0.001	3.988
IV	13	0 (0.0)		19			
Υπολειπόμενη νόσος							
≤ 2 εκ.	32	17 (53.1)	0.004	Δ. Α.*	10.731	< 0.001	2.869
> 2 εκ.	28	5 (17.9)		24.5			
Ανταπόκριση στη θεραπεία							
καλή	33	18 (54.5)	0.001	Δ. Α.*	16.295	< 0.001	3.654
κακή	27	4 (14.8)		23			
Μεγαλύτερος πυρ. άξονας							
- 83.2	20	8 (40.0)	0.023	34	6.302	0.043	0.600
83.2 - 94.7	20	11 (55.0)		Δ. Α.*			
94.7 +	20	3 (15.0)		29.5			
Μικρότερος πυρην. άξονας							
- 77.8	20	12 (60.0)	0.027	Δ. Α.*	5.949	0.051	2.180
77.8 - 87.8	21	6 (28.6)		36			
87.8 +	19	4 (18.2)		28			
Πυρην. Περίμετρος							
- 275.6	20	10 (50.0)	0.035	53	6.812	0.033	0.974
274.6 - 303.7	20	9 (45.0)		48			
303.7 +	20	3 (15.0)		27.5			
Πυρην. Επιφάνεια							
- 5129.8	20	11 (55.0)	0.005	Δ. Α.*	13.821	< 0.001	1.219
5129.8 - 6393.9	20	9 (45.0)		50.5			
6393.9 +	20	2 (10.0)		24.5			
Κυτταροβρίθεια							
- 22.5	20	11 (55.0)	< 0.001	Δ. Α.*	15.065	< 0.001	1.247
22.5 - 36.0	21	10 (47.6)		47			
36.0 +	19	1 (5.3)		21			
Μιτωτικός Δείκτης							
- 14.0	20	11 (55.0)	0.023	Δ. Α.*	8.344	0.015	1.424
14.0 - 30.2	20	8 (40.0)		46.5			
30.2 +	20	3 (15.0)		26			

* Δεν Απεβίωσαν

στ2. Πολυπαραγοντική ανάλυση.

στ2.1 Μεταξύ των ασθενών που επέζησαν ή όχι στο τέλος της 5-ετίας.

Η διακρίνουσα ανάλυση (discriminant analysis) και η λογιστική ανάλυση παλινδρόμησης (logistic regression) ανέδειξαν τις ίδιες μεταβλητές με ισχυρή προγνωστική αξία, όπως τη μέση τιμή πυρηνικής επιφάνειας, τη μέση τιμή κυτταροβρίθειας, τη σταθερή απόκλιση της κυτταροβρίθειας, το στάδιο της νόσου και τη μέση τιμή της πυρηνικής περιμέτρου. Η γραμμική εξίσωση (διακρίνουσα ή παλινδρόμησης) που προέκυψε ή στην προκείμενη περίπτωση ο προγνωστικός δείκτης (ΠΔ) ήταν ο ακόλουθος :

$$\text{ΠΔ} = -16.999 + 1.361 * \mu. \tau. \text{ κυτταροβρίθειας} + 19.964 * \sigma. \alpha. \text{ κυτταροβρίθειας} + 0.026 * \mu. \tau. \text{ πυρ. επιφάνειας} + 18.897 * \text{FIGO (0 εάν FIGO III και 1 εάν FIGO IV)} - 0.736 * \mu. \tau. \text{ πυρ. περιμέτρου.}$$

Με βάση το δείκτη αυτό, είναι δυνατόν να καταταγεί μία παρατήρηση στην ομάδα των επιζώντων αν ο ΠΔ < 0 και στην ομάδα των μη επιζώντων αν ο ΠΔ > 0.

Η επαναταξινόμηση των περιστατικών της μελέτης δίνει τα ακόλουθα αποτελέσματα :

	<i>Προγνωστικός Δείκτης</i>	
	< 0.0	> 0.0
Επιζώντες (n = 22)	22 (100.0 %)	0 (0.0 %)
Μη επιζώντες (n = 38)	6 (15.8 %)	32 (84.2 %)

Ετσι η συνολική σωστή επαναταξινόμηση των παρατηρήσεων ήταν 90.0%.

Οι καμπύλες Kaplan-Meier για τη μελέτη της επιβίωσης μεταξύ των δύο ομάδων (ΠΔ < 0.0 και ΠΔ > 0.0) παρουσιάζονται στο διάγραμμα 14. Με τη στατιστική Mantel-Cox διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (p < 0.0001). Η διάμεση επιβίωση της ομάδος με δυσμενή πρόγνωση (ΠΔ > 0.0) ήταν 24 μήνες.

στ2.2 Ανάλυση επιβίωσης.

Η εφαρμογή του προτύπου αναλογιστικού κινδύνου του Cox (Cox's proportional hazards model) με την «κατά βήμα» μέθοδο παρείχε σαν καλύτερο συνδυασμό προγνωστικών παραγόντων : το στάδιο της νόσου (FIGO), το μιτωτικό δείκτη, τη μέση τιμή (μ.τ.) της κυτταροβρίθειας, τη σταθερή απόκλιση (σ.α.) του μεγαλύτερου πυρηνικού άξονα, τη σταθερή απόκλιση (σ.α.) της κυτταροβρίθειας και τη σταθερή απόκλιση (σ.α.) της πυρηνικής επιφάνειας. Οι συντελεστές παλινδρόμησης, τα σταθερά σφάλματα, οι τιμές της στατιστικής σημαντικότητας (p), και η συνάρτηση κινδύνου που αντιστοιχεί παρουσιάζονται στον πίνακα 10, που ακολουθεί.

Πίνακας10

Μεταβλητή	Συντελεστής Παλινδρόμησης	Σταθερό Σφάλμα	p	Συνάρτηση κινδύνου
Στάδιο νόσου (0 για III & 1 για IV)	2.110	0.414	< 0.001	8.247
Μιτωτικός Δείκτης	0.022	0.008	0.008	1.022
μ.τ. Κυτταροβρίθειας	0.077	0.017	< 0.001	1.080
σ.α. Μεγαλύτερου πυρ. άξονα	- 16.690	5.280	0.002	0.057
σ.α. Κυτταροβρίθειας	0.897	0.333	0.007	2.452
σ.α. πυρ. Επιφάνειας	4.560	2.190	0.037	95.570

Όσον αφορά την ανταπόκριση στη θεραπεία, τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαπιστώθηκε ότι παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών που ανταποκρίθηκαν και δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία παρουσιάζονται στους πίνακες 11 και 12.

Η μέθοδος της διακρίνουσας ανάλυσης και της λογιστικής ανάλυσης παλινδρόμησης ανέδειξαν σαν μεταβλητές με ισχυρή προγνωστική αξία, τη μέση τιμή (μ.τ.) της πυρηνικής επιφάνειας και τη μέση τιμή (μ.τ.) του μεγαλύτερου και μικρότερου πυρηνικού άξονα. Ο προγνωστικός δείκτης που προέκυψε είναι ο ακόλουθος :

$$\text{ΠΔ} = 292.9 + 0.076 * \mu.τ. \text{ επιφάνειας} - 4.722 * \mu.τ. \text{ μεγαλύτερου πυρ. άξονα} - 3.789 * \mu.τ. \text{ μικρότερου πυρ. άξονα.}$$

όπου ασθενείς με θετική τιμή ΠΔ αναμένεται να επωφεληθούν από το θεραπευτικό πρωτόκολλο.

Πίνακας 11

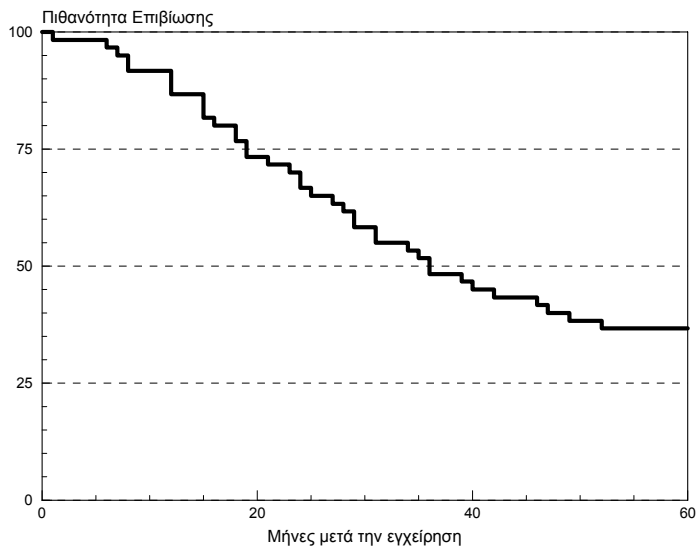
Διαφορές των μορφομετρικών παραμέτρων μεταξύ των ασθενών που ανταποκρίθηκαν ή όχι στη θεραπεία.						
Μορφομετρική παράμετρος	Ανταποκρίθηκαν	η	Μέση τιμή	Μέσος όρος	ρ*	ρ**
Μεγαλύτερος πυρ. αξ.	Ναι	33	88.43	87.15	0.0341	0.249
	Όχι	27	91.07	93.28		
Μικρότερος πυρ. αξ.	Ναι	33	80.44	78.82	0.034	0.012
	Όχι	27	86.40	87.30		
Πυρ. Περίμετρος	Ναι	33	281.53	278.43	0.049	0.028
	Όχι	27	298.36	303.29		
Πυρ. Επιφάνεια	Ναι	33	5325.46	5349.56	0.001	0.002
	Όχι	27	6361.45	6453.48		
Κυκλικότητα	Ναι	33	0.9010	0.907	0.136	0.141
	Όχι	27	0.8916	0.894		
Κυτταροβρίθεια	Ναι	33	32.708	30.096	0.489	0.323
	Όχι	27	30.120	23.939		
Μιτωτικός Δείκτης	Ναι	33	22.234	18.500	0.128	0.143
	Όχι	27	29.738	25.810		

* t - test
** Wilcoxon rank sum test

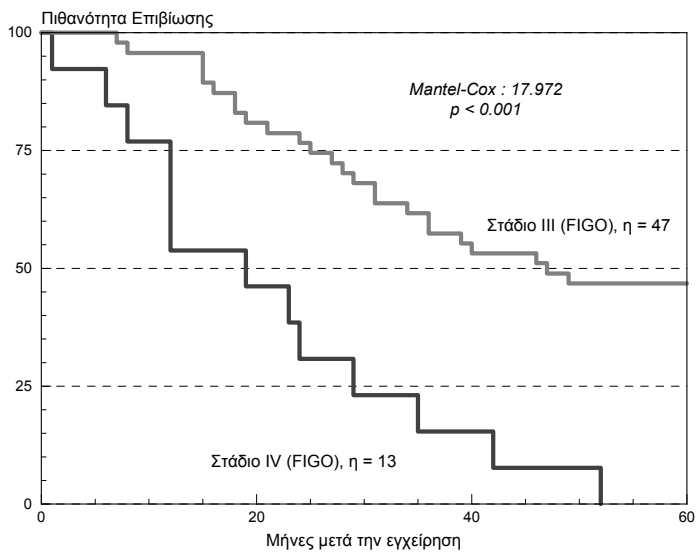
Πίνακας 12

Μεμονωμένα κλινικά και μορφομετρικά χαρακτηριστικά και η ανεξάρτητη προγνωστική τους αξία (στον πίνακα περιλαμβάνονται τα χαρακτηριστικά με σημαντική ανεξάρτητη προγνωστική αξία)			
Παράμετρος	η	Ανταποκρίθηκαν στη ΘΠ (%)	ρ
Υπολειπόμενη νόσος			
≤ 2 εκ.	32	23 (71.9)	0.01
> 2 εκ.	28	10 (35.7)	
Πυρην. Επιφάνεια			
- 5129	20	15 (75.0)	0.0006
5129.8 - 6393.9	20	14 (70.0)	
6393.9 +	20	4 (20.0)	
σ. α. Πυρ. Επιφάνειας			
- 1.241	20	17 (85.9)	0.0019
1.241 - 1.338	20	10 (50.0)	

1.338 + 20 6 (30.0)

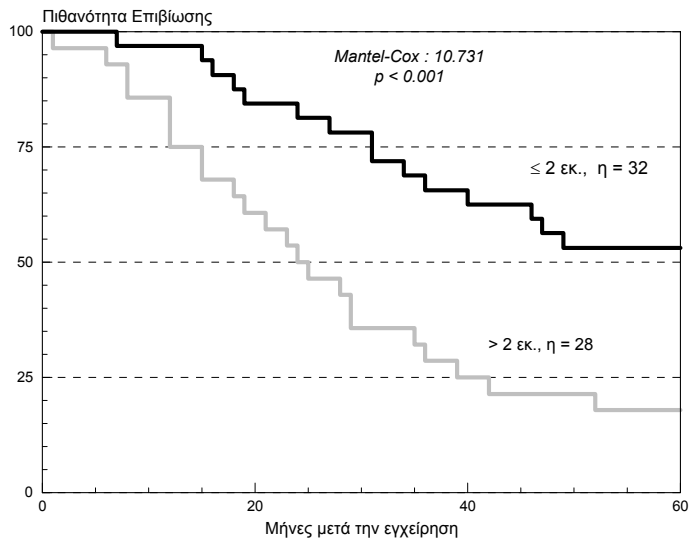


Διάγραμμα 1 :
Επιβίωση όλων των ασθενών της μελέτης (n=60).



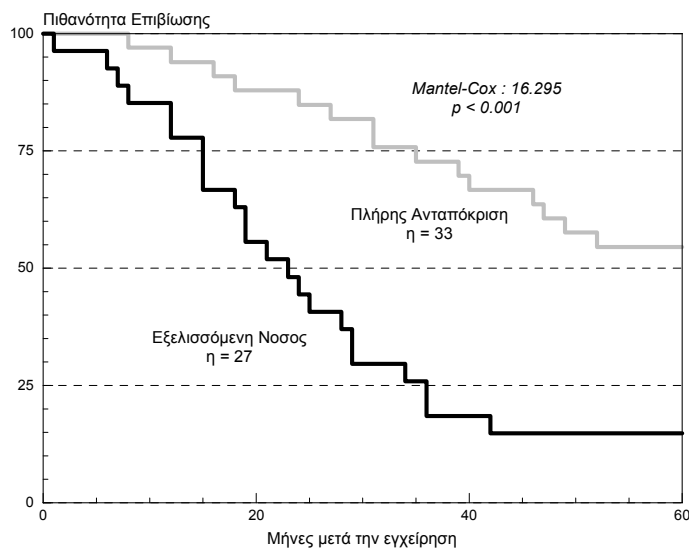
Διάγραμμα 2 :

Επιβίωση σε σχέση με το **στάδιο** της νόσου.



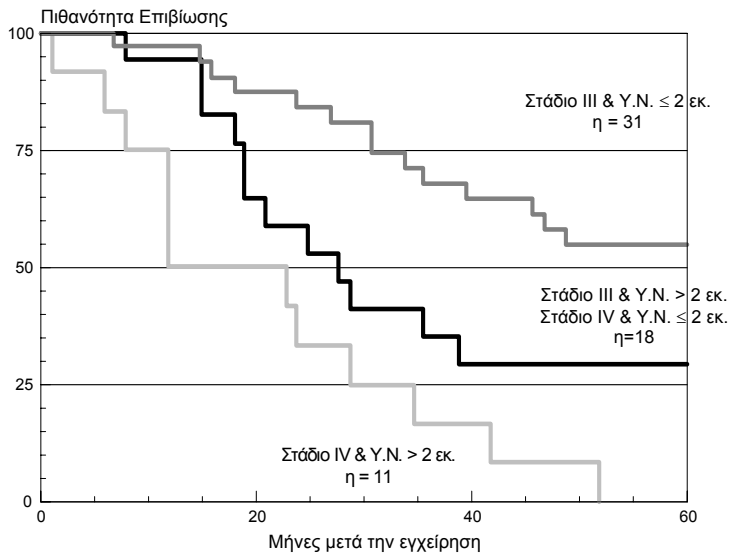
Διάγραμμα 3 :

Επιβίωση των ασθενών αναφορικά με το μέγεθος της υπολειπόμενης νόσου κατά την αρχική επέμβαση.



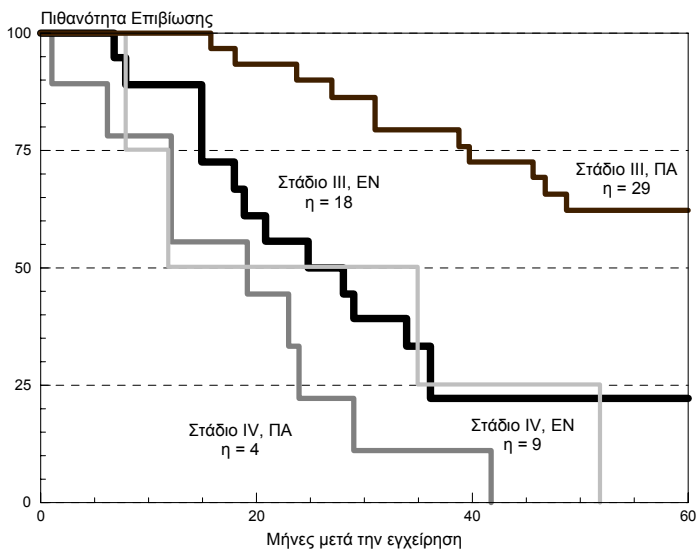
Διάγραμμα 4 :

Επιβίωση των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία (ΠΑ) και των ασθενών με εξελισσόμενη νόσο (ΕΝ).



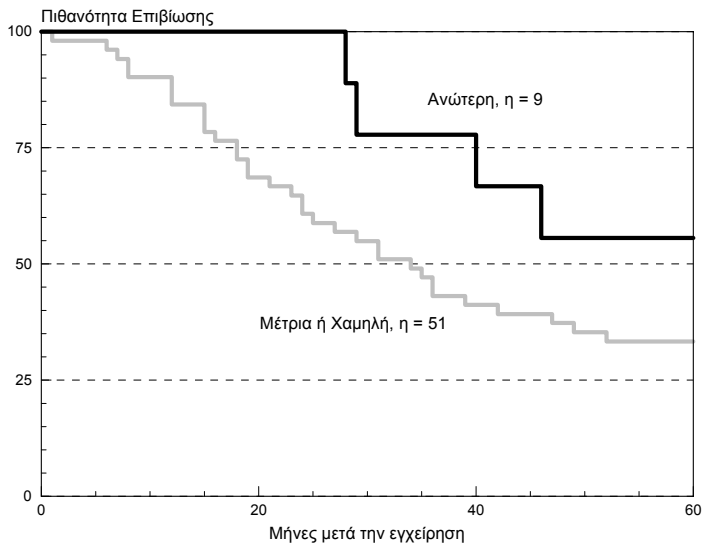
Διάγραμμα 5 :

Επιβίωση των ομάδων των ασθενών που καθορίζονται από το **στάδιο** και την **υπολειπόμενη νόσο**.



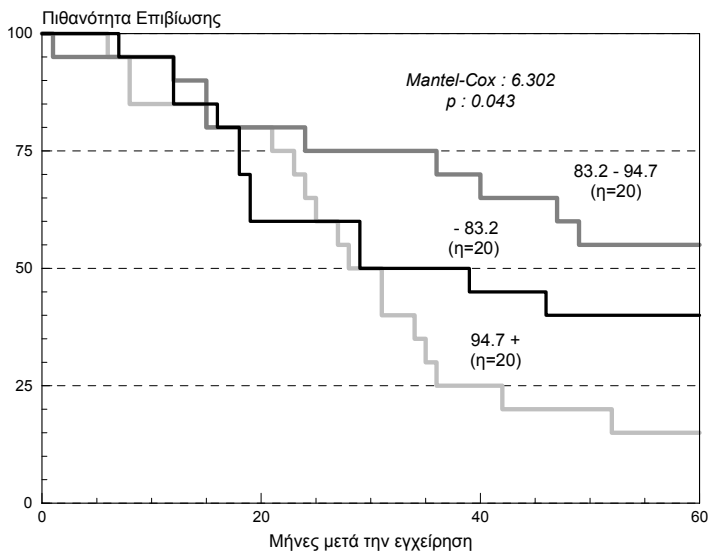
Διάγραμμα 6 :

Επιβίωση μεταξύ των ομάδων που καθορίζονται από το **στάδιο** της νόσου και την **ανταπόκριση στη θεραπεία**.



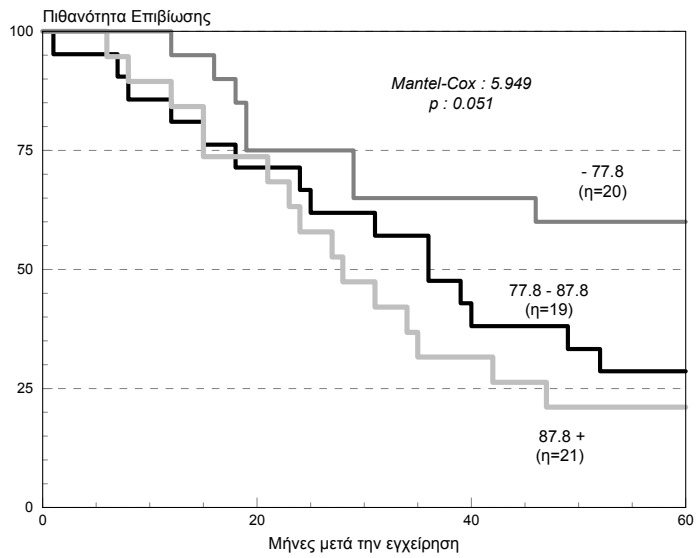
Διάγραμμα 7 :

Επιβίωση της ομάδας των ασθενών με ανώτερη και της ομάδας με μέτρια ή χαμηλή **κυτταρική διαφοροποίηση**.



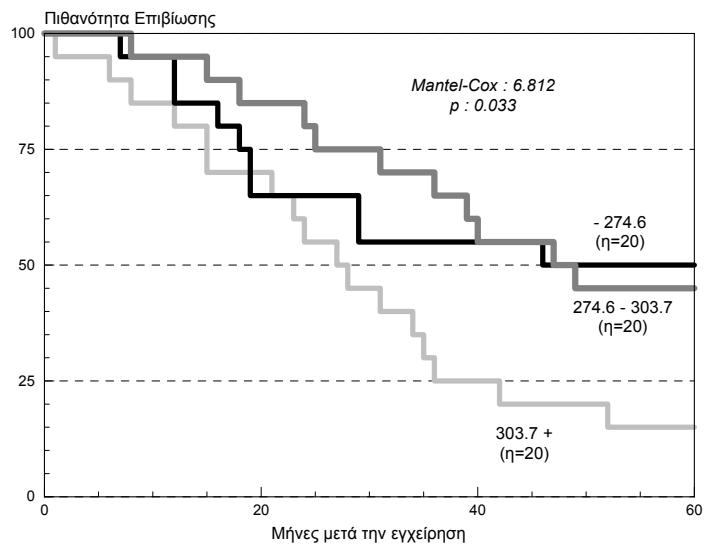
Διάγραμμα 8 :

Επιβίωση των τριών ομάδων ασθενών που καθορίζονται από τη μέση τιμή του **μεγαλύτερου πυρηνικού άξονα** των καρκινικών κυττάρων.



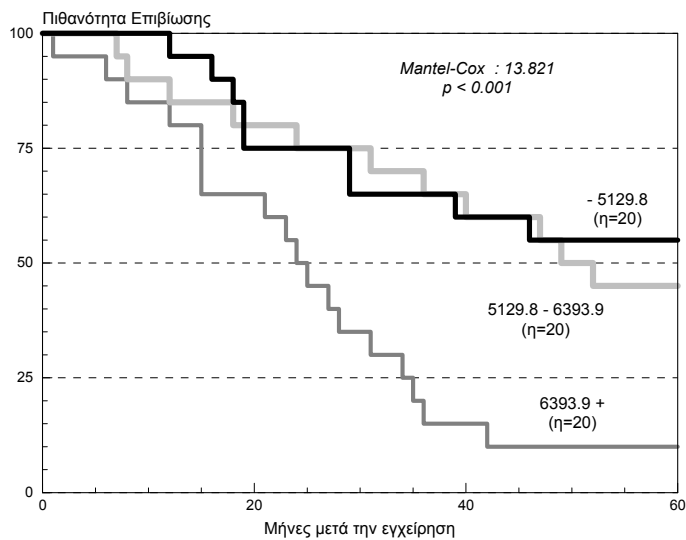
Διάγραμμα 9 :

Επιβίωση των τριών ομάδων ασθενών που καθορίζονται από τη μέση τιμή του **μικρότερου πυρηνικού άξονα** των καρκινικών κυττάρων.



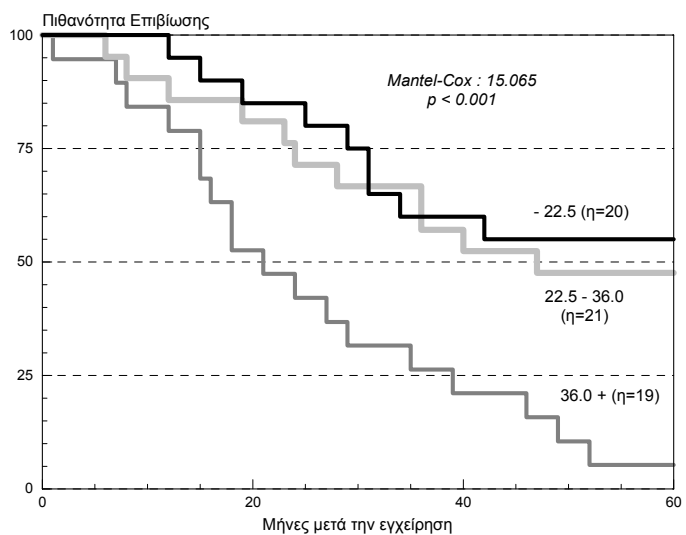
Διάγραμμα 10 :

Επιβίωση των τριών ομάδων ασθενών που καθορίζονται από τη μέση τιμή της **πυρηνικής περιμέτρου** των καρκινικών κυττάρων.



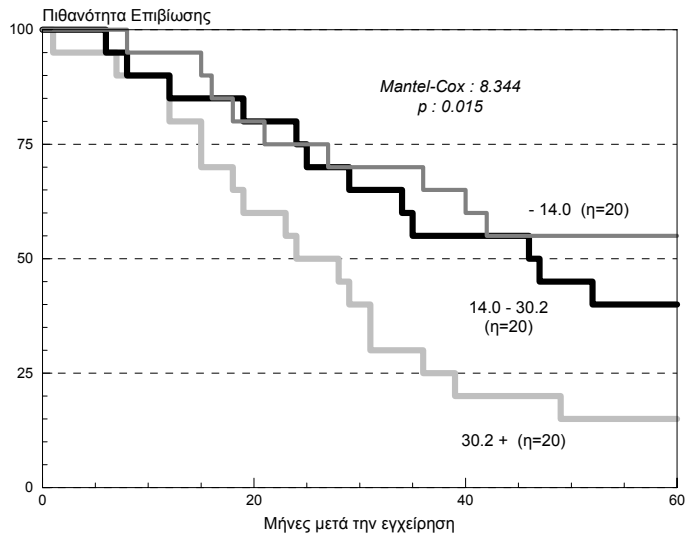
Διάγραμμα 11 :

Επιβίωση των τριών ομάδων ασθενών που καθορίζονται από τη μέση τιμή της **πυρηνικής επιφάνειας** των καρκινικών κυττάρων.



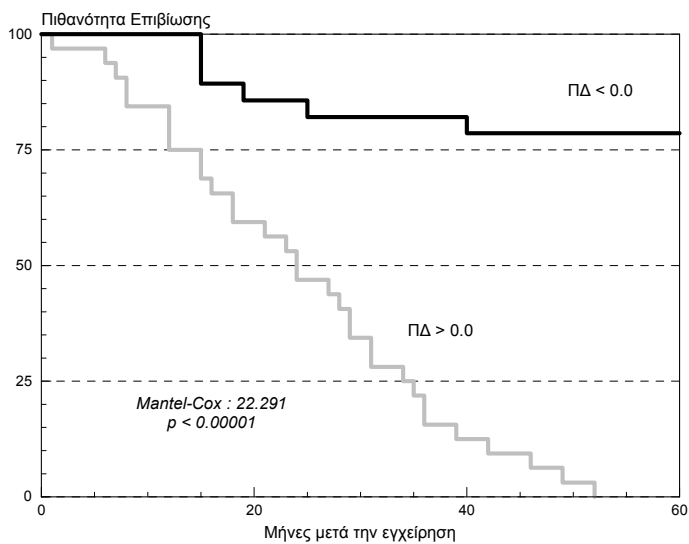
Διάγραμμα 12 :

Επιβίωση των τριών ομάδων ασθενών που καθορίζονται από τη μέση **κυτταροβρίθεια** του όγκου τους.



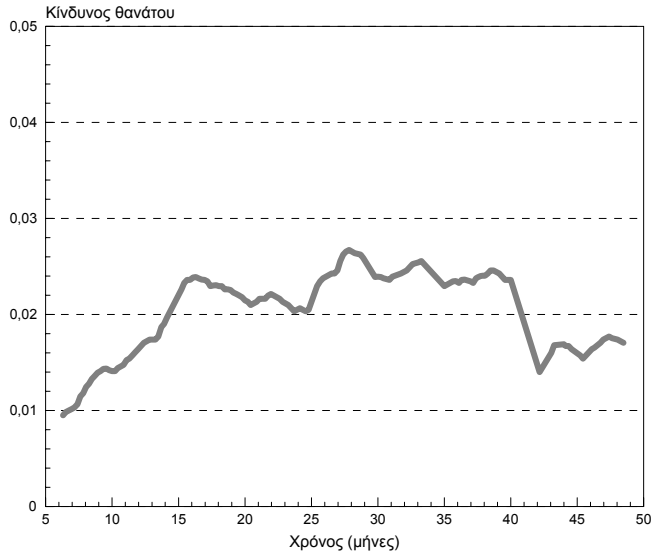
Διάγραμμα 13 :

Επιβίωση των τριών ομάδων ασθενών που καθορίζονται από τη μέση τιμή του **μιτωτικού δείκτη**.



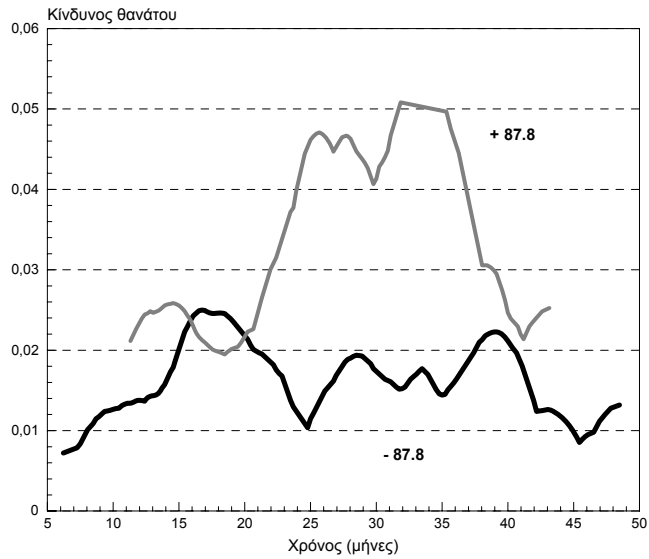
Διάγραμμα 14 :

Επιβίωση των ασθενών με ΠΔ < 0.00 (η=22) και ΠΔ > 0.00 (η=32).



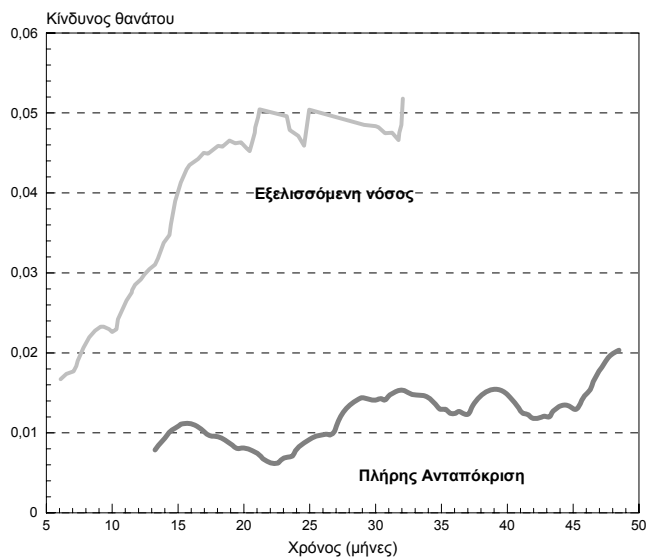
Διάγραμμα 15 :

Ο κίνδυνος θανάτου συνεπεία της νόσου, για όλες τις ασθενείς της μελέτης.



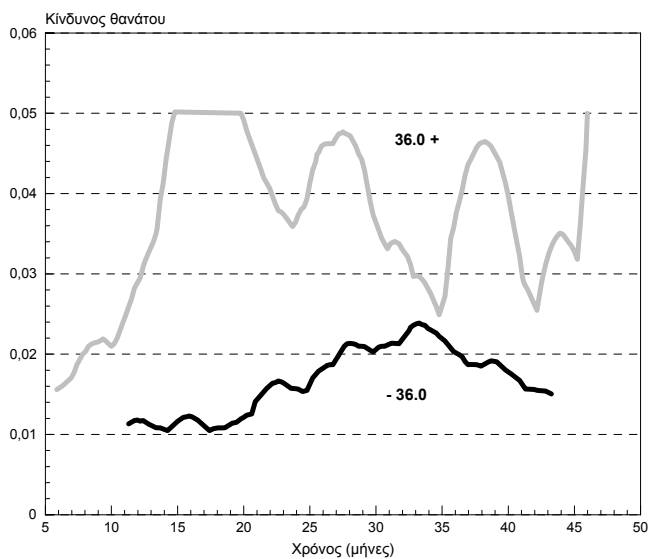
Διάγραμμα 16 :

Ο κίνδυνος θανάτου συνεπεία της νόσου, των ασθενών της μελέτης αναφορικά με το μέγεθος του **μεγαλύτερου πυρηνικού άξονα**.



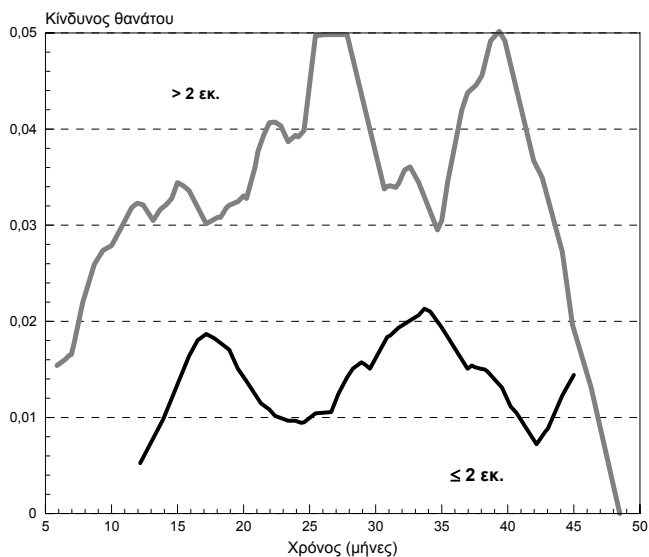
Διάγραμμα 17 :

Ο κίνδυνος θανάτου συνεπεία της νόσου, των ασθενών που παρουσίασαν **πλήρη ύφεση** της νόσου και των ασθενών στις οποίες παρατηρήθηκαν όλα τα στάδια της νόσου από τη μερική ανταπόκριση ως την προοδευτικά **εξελισσόμενη νόσο**.



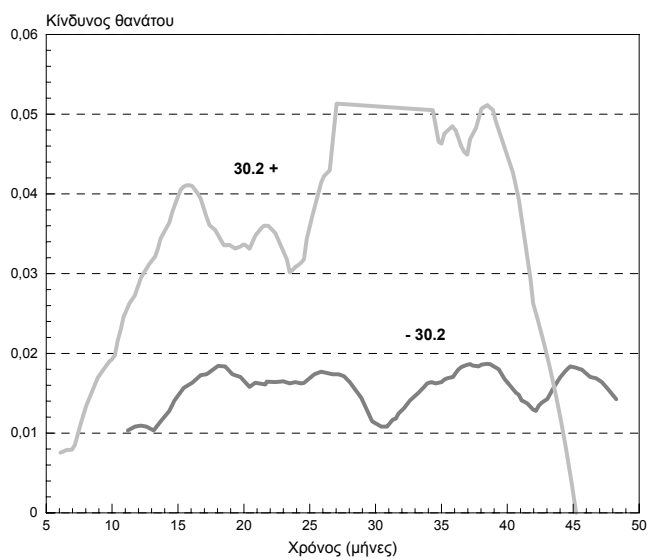
Διάγραμμα 18 :

Ο κίνδυνος θανάτου των ασθενών συνεπεία της νόσου, που καθορίζεται από την **κυτταροβρίθεια** του όγκου τους.



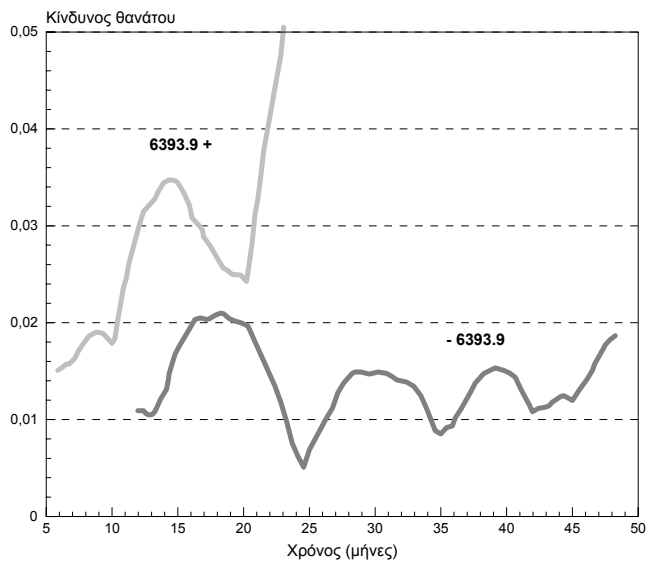
Διάγραμμα 19 :

Ο κίνδυνος θανάτου συνεπεία της νόσου, που καθορίζεται από **το μέγεθος της υπολειπόμενης νόσου** κατά την αρχική επέμβαση.



Διάγραμμα 20 :

Ο κίνδυνος θανάτου των ασθενών συνεπεία της νόσου, που καθορίζεται από την τιμή του **μιτωτικού δείκτη**.



Διάγραμμα 21 :

Ο κίνδυνος θανάτου συνεπεία της νόσου αναφορικά με την **πυρηνική επιφάνεια** των καρκινικών κυττάρων.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Την τελευταία δεκαετία έχει σημειωθεί σημαντική αύξηση της διάμεσης επιβίωσης των ασθενών με ωθηκικό καρκίνο σταδίου III και IV σαν αποτέλεσμα της ογκομειωτικής επέμβασης και της εισαγωγής στη χημειοθεραπευτική αγωγή του φαρμάκου cisplatin (Neijt και συν 1984, Piver 1984, Wills και συν 1986), το οποίο σύμφωνα με νεότερες μελέτες βελτίωσε την επιβίωση των ασθενών αυτών κατά 30% περίπου (Perez και συν 1993). Επίσης είναι γνωστό ότι έχουν καλύτερη πρόγνωση ασθενείς μικρού σταδίου, με βλεννώδη ή ενδομητριοειδή καρκίνο χαμηλού βαθμού κακοήθειας, με τη λιγότερη υπολειπόμενη νόσο και μικρότερης ηλικίας. Παραμένει όμως γεγονός ότι η πλειοψηφία των ασθενών πεθαίνουν συνεπεία της νόσου μέσα σε λίγα χρόνια, ενώ παράλληλα η χορήγηση του cisplatin έχει ορισμένες ανεπιθύμητες ενέργειες. Θεωρείται λοιπόν αναγκαίος ο καθορισμός και άλλων προγνωστικών παραμέτρων προκειμένου να αναγνωριστούν οι ασθενείς υψηλού κινδύνου που αναμένεται να ανταποκριθούν στο θεραπευτικό πρωτόκολλο. Ο καθορισμός των προγνωστικών αυτών παραμέτρων πρέπει να είναι αποτέλεσμα αντικειμενικών μετρήσεων και κριτηρίων και είναι δυνατόν να γίνει εφαρμόζοντας μορφομετρικές μεθόδους.

Με τη μορφομετρία του ωθηκικού καρκινώματος έχουν ασχοληθεί κυρίως δύο ομάδες ερευνητών, η ομάδα του Baak στην Ολλανδία και η ομάδα του Haapasalo στη Φινλανδία (Baak και συν 1981, 1985, 1986, 1988 και Haapasalo και συν 1989, 1991).

Το 1988 ο Baak με τους συνεργάτες του μελέτησαν σε 73 ωθηκικούς καρκίνους την προγνωστική σημασία των μορφομετρικών χαρακτηριστικών και της περιεκτικότητας των κυττάρων σε DNA σε σχέση με τον ιστολογικό τύπο, το βαθμό της κυτταρικής διαφοροποίησης και ορισμένα κλινικά χαρακτηριστικά. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τους την ισχυρότερη προγνωστική αξία είχαν με φθίνουσα σειρά : το στάδιο της νόσου κατά FIGO, ο όγκος της νόσου (bulky), η σταθερή απόκλιση και η μέση τιμή της πυρηνικής επιφάνειας, η περιεκτικότητα των κυττάρων σε DNA και ο μιτωτικός δείκτης. Η κυτταροβρίθεια των όγκων αυτών δεν αναφέρεται να

έχει σημαντική προγνωστική αξία. Η πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση ανέδειξε σαν μεγαλύτερης προγνωστικής αξίας το συνδυασμό, μέσης τιμής πυρηνικής επιφάνειας, όγκου της νόσου και σταδίου κατά FIGO. Συμπερασματικά αναφέρεται ότι : «το μέγεθος του πυρήνα συνιστά ένα σημαντικό προγνωστικό δείκτη της ευαισθησίας των κυττάρων του όγκου στη θεραπεία με cisplatin αν και δεν είναι απόλυτα γνωστός ο πιθανός κυτταρικός και βιολογικός μηχανισμός» .

Το 1989 ο Haapasalo με τους συνεργάτες του εκτίμησαν σε 105 ωθηκικά καρκινώματα ορισμένα μορφομετρικά χαρακτηριστικά όπως μιτωτικό δείκτη, διορθωμένο κατ' όγκο μιτωτικό δείκτη, κυτταροβρίθεια, πυρηνική επιφάνεια, πυρηνική περιμέτρο, μεγαλύτερο και μικρότερο πυρηνικό άξονα και σχηματικό παράγοντα του πυρήνα. Διαπίστωσαν ότι το στάδιο της νόσου ήταν ο καλύτερος προγνωστικός δείκτης ακολουθούμενος από το διορθωμένο κατ' όγκο μιτωτικό δείκτη, ο οποίος ήταν ο καλύτερος προγνωστικός παράγοντας σε όλες τις υποομάδες που μελετήθηκαν. Αναφορικά με την κυτταροβρίθεια, τα αποτελέσματα τους δε συμφώνησαν με την ομάδα Baak.

Στο υλικό του Haapasalo, μόνο ο διορθωμένος κατ' όγκο μιτωτικός δείκτης διαπιστώθηκε ότι παρουσίαζε ισχυρή προγνωστική αξία. Σαν πιθανή αιτία αναφέρεται το γεγονός ότι στο υλικό του Baak περίπου το $\frac{1}{3}$ των περιστατικών ήταν βλεννώδη, ενώ στο δικό τους μόνο τα 4.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν σημαντικές διαφορές ως προς τις αναλογίες των διαφόρων ιστολογικών τύπων. Ετσι αναφέρεται ότι τα ορώδη καρκινώματα συνιστούν το 40% των κοινών επιθηλιακών όγκων, ενώ τα βλεννώδη το 6% - 10% όλων των κακοήθων ωθηκικών νεοπλασμάτων (Czernobilsky και συν 1987). Επίσης, αναφέρεται ότι τα ορώδη συνιστούν το 75% των επιθηλιακών όγκων ενώ λιγότερο συχνοί τύποι είναι οι βλεννώδεις (20%), οι ενδομητριοειδείς (2%), οι διαυγοκυτταρικοί, οι όγκοι Brenner και τα αδιαφοροποίητα καρκινώματα που συνιστούν ο καθένας λιγότερο από 1% των επιθηλιακών νεοπλασμάτων των ωθηκών (Berek 1989). Είναι λοιπόν οι αναλογίες του Baak πιο αντιπροσωπευτικές.

Το υλικό της διατριβής αυτής εμφανίζει ανάλογη συχνότητα ιστολογικών τύπων συγκρινόμενη με τα δεδομένα που αναφέρθηκαν.

Είναι σημαντικό το ότι στη μελέτη αυτή περιλαμβάνονται μόνο ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο ωθηκών, που έχουν αντιμετωπιστεί κατά τρόπο

ομοιόμορφο. Για τις ασθενείς αυτές, η αξία της ύπαρξης μίας αξιόπιστης δοκιμασίας, η οποία θα επιτρέπει την ασφαλή πρόβλεψη της πρόγνωσης τους και τον προγραμματισμό ανάλογης θεραπευτικής αγωγής, είναι προφανής.

Τα αποτελέσματα ικανοποιούν σε σημαντικό βαθμό τις ανάγκες αυτές. Πράγματι, η επιβίωση των ασθενών σταδίου III, με χαμηλές τιμές κυτταροβρίθειας, πυρηνικής επιφάνειας και πυρηνικής περιμέτρου ήταν καλύτερη και μεγαλύτερη (διάγραμμα 14), ενώ η διάμεση επιβίωση των ασθενών με δυσμενή πρόγνωση ήταν 24 μήνες. Οι τιμές επίσης των υπολοίπων χαρακτηριστικών που δε διαπιστώθηκαν σαν ισχυροί προγνωστικοί παράμετροι από τη μέθοδο της διακρίνουσας ανάλυσης είναι χαρακτηριστικές. Όπως διαφαίνεται δεν απεβίωσαν στην 5-ετία ασθενείς με υπολειπόμενη νόσο ≤ 2 εκ., με τιμή μιτωτικού δείκτη < 14.00 , και με μικρότερο πυρηνικό άξονα < 77.8 .

Μεταξύ των παραγόντων που μελετήθηκαν, η πολυπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε την πυρηνική επιφάνεια σαν τον παράγοντα με τη μεγαλύτερη προγνωστική αξία. Ακολουθούν η κυτταροβρίθεια, το στάδιο της νόσου και η πυρηνική περίμετρος. Ο συνδυασμός των παραγόντων αυτών μας δίνει τον προγνωστικό δείκτη, ο οποίος αποδεικνύεται πλέον ισχυρός προγνωστικά. Έτσι ασθενείς με τιμή Π. Δ. < 0 αναμένεται να έχουν μεγαλύτερη και καλύτερη επιβίωση (διάγραμμα 14).

Είναι λοιπόν δυνατή η επιλογή των ασθενών σταδίου III και IV, των οποίων η νόσος θα εξελιχθεί ευνοϊκά σύμφωνα με τις μορφομετρικές παραμέτρους. Αλλαγές των παραμέτρων αυτών φαίνεται ότι αντανακλούν βασικές βιολογικές διεργασίες του όγκου που ενδεχομένως είναι κοινές σε όλο το φάσμα της νόσου, από τους όγκους χαμηλής κακοήθειας έως το στάδιο IV.

Ένα άλλο πεδίο στο οποίο αποδεικνύεται ότι οι παράμετροι αυτοί διαδραματίζουν σημαντικό προγνωστικό ρόλο, είναι η ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπευτική αγωγή. Διαπιστώθηκε ότι ασθενείς με τιμές πυρηνικής επιφάνειας < 5325.46 , με τιμές του μεγαλύτερου πυρηνικού άξονα < 88.43 , και με τιμές του μικρότερου πυρηνικού άξονα < 80.44 έχουν περισσότερες πιθανότητες να επωφεληθούν από το θεραπευτικό πρωτόκολλο, στο οποίο περιλαμβάνεται η ογκομειωτική επέμβαση και η χημειοθεραπεία με συνδυασμό cisplatin και cyclophosphamide.

Στις περιπτώσεις αυτές σημαντικό μέρος φαίνεται ότι διαδραματίζει το φορτίο της υπολειπόμενης νόσου.

Ο συνδυασμός της πυρηνικής επιφάνειας με το μεγαλύτερο και μικρότερο πυρηνικό άξονα διαπιστώθηκε στην προκειμένη περίπτωση ότι είναι πλέον ευαίσθητος για την αναζήτηση των ασθενών που θα ανταποκριθούν στο θεραπευτικό πρωτόκολλο. Έτσι ασθενείς με θετική τιμή Π. Δ. αναμένεται να επωφεληθούν από το σχήμα αυτό.

Στη μελέτη αυτή ασθενείς με χαμηλές τιμές κυτταροβρίθειας ή μιτωτικού δείκτη εμφανίζουν καλή πρόγνωση αναφορικά με την επιβίωση ή όχι στα 5 χρόνια (διαγράμματα 12, 13). Τα ευρήματα αυτά είναι σύμφωνα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας (Baak 1988, Haapasalo 1989).

Όσον αφορά όμως τη θεραπεία με cisplatin, τα χαρακτηριστικά αυτά δε διαπιστώθηκε ότι είναι ισχυροί προγνωστικοί δείκτες για την αναζήτηση των ασθενών που θα επωφεληθούν από το φάρμακο αυτό. Πολλές από τις ασθενείς είχαν διάμεση επιβίωση μεγαλύτερη, παρόλο ότι δεν ανταποκρίθηκαν στο θεραπευτικό σχήμα που χρησιμοποιήθηκε.

Το μέγεθος της νόσου που απέμεινε μετά τη χειρουργική επέμβαση είναι ένας προγνωστικός παράγοντας μεγάλης σημασίας (διαγράμματα 3, 5). Όπως αναμενόταν, η πρόγνωση ήταν ευνοϊκή όταν η διάμετρος της υπολειπόμενης νόσου δεν ξεπερνούσε τα 2 εκ., ανεξάρτητα από το φορτίο της αρχικής νόσου.

Τα αποτελέσματα ανέδειξαν επίσης το μέγεθος του πυρήνα (διαγράμματα 8, 9, 10, 11) σαν έναν ισχυρό προγνωστικό δείκτη της ανταπόκρισης της νόσου στο cisplatin. Από την άποψη αυτή υπάρχει συμφωνία με τα ευρήματα του Baak (1988), αν και χρησιμοποιήθηκε διαφορετικός συνδυασμός και δοσολογία φαρμάκων. Πολλοί ερευνητές έχουν συγκρίνει τα δύο διαφορετικά σχήματα, cisplatin - cyclophosphamide, που χρησιμοποιήθηκαν στις ασθενείς που περιλαμβάνονται στη μελέτη αυτή, προς cisplatin - cyclophosphamide - doxorubicin, που χρησιμοποίησε ο Baak. Ορισμένοι αναφέρουν υψηλότερα ποσοστά πλήρους ανταπόκρισης ή αύξησης της επιβίωσης όταν χρησιμοποιείται ο συνδυασμός των τριών φαρμάκων (Jakobsen και συν 1985, Bruzzone και συν 1990), ενώ άλλοι απέδειξαν ότι δεν υπάρχει καμία διαφορά στην κλινική ή παθολογοανατομική ανταπόκριση ή στην επιβίωση των ασθενών (Edmonson και συν 1985, Neijt και συν 1987, Omura και συν 1989). Από τις έρευνες αυτές διαπιστώθηκε ότι ο συνδυασμός cisplatin - cyclophosphamide ευνοεί εξίσου υψηλές ανταποκρίσεις με τους συνδυασμούς του cisplatin με άλλα φάρμακα (doxorubicin, hexamethylmelamine) χωρίς όμως τις πιθανές καρδιακές ή νευρολογικές τους παρενέργειες.

Στο σημείο αυτό αξίζει να επισημανθεί επίσης η μεγάλη σημασία της χαμηλής προγνωστικής αξίας της υψηλής τιμής της σταθερής απόκλισης της πυρηνικής επιφάνειας (Baak 1988). Ανταποκρίθηκαν στο θεραπευτικό πρωτόκολλο το 85.9% των ασθενών με τιμές σταθερής απόκλισης μικρότερες του 1.241, ενώ μόλις το 30% των ασθενών με τιμές μεγαλύτερες του 1.338.

Οι τιμές της παραμέτρου αυτής σχετίζονται με κύτταρα που έχουν ευμεγέθεις πυρήνες και εικάζεται ότι τα κύτταρα αυτά είναι υπεύθυνα σε μεγάλο βαθμό για τη κακή ανταπόκριση των ασθενών σε θεραπευτικά σχήματα που περιλαμβάνουν cisplatin (Baak 1988).

Με τη μορφομετρική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε έγινε προσπάθεια απλούστευσης και απλοποίησης της μεθόδου ώστε αυτή να βασίζεται σε διαχωριστικές μορφομετρικές παραμέτρους που να μπορούν να εκτιμηθούν από το γιατρό χειριστή του προγράμματος, ο οποίος όμως να μη χρειάζεται εξειδικευμένες διαγνωστικές ιστοπαθολογικές γνώσεις.

Συμπερασματικά, οι διαστάσεις του πυρήνα συνιστούν έναν ισχυρό προγνωστικό δείκτη ανεξάρτητα από το θεραπευτικό σχήμα ή τη δοσολογία που χρησιμοποιείται αρκεί να περιλαμβάνεται σε αυτό το cisplatin. Οι κυτταρικοί και βιολογικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένοι. Το μέγεθος του πυρήνα σχετίζεται στενά με τη μάζα της πυρηνικής πρωτεΐνης (Diamond και συν 1982). Αυτή η τρισδιάστατη πρωτεΐνη του πυρήνα δυνατόν να διαδραματίζει σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο μέσα στον πυρήνα καθώς βρέθηκε ότι αποτελεί τη θέση πρόσφυσης των ανδρογόνων στον πυρήνα των κυττάρων του προστάτη (Barrack και Coffey 1980) και αποδείχτηκε ότι στη μάζα αυτή υπάρχουν θέσεις σταθερές για τη σύνθεση του DNA (Pardoll και συν 1980). Είναι κατανοητό λοιπόν ότι οι αλλαγές του μεγέθους του πυρήνα αντιστοιχούν σε θεμελιώδη βιολογικά φαινόμενα που επηρεάζουν τις ιδιότητες των όγκων, που σχετίζονται με την κακοήθεια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Για τον καρκίνο των ωθηκών έχουν μελετηθεί κατά καιρούς διάφοροι προγνωστικοί παράμετροι που σχετίζονται με τη βιολογική συμπεριφορά των όγκων αυτών και τον κίνδυνο θανάτου συνεπεία της νόσου. Μεγαλύτερη σημασία έχει η αναζήτηση αντικειμενικών παραγόντων, που να εξασφαλίζουν ασφαλέστερη πρόγνωση και να παρέχουν τη δυνατότητα ορθολογικότερης και πιο αποτελεσματικής θεραπείας.

Στη μελέτη αυτή έγινε προσπάθεια διερεύνησης ορισμένων μορφομετρικών παραμέτρων σε σχέση με τα κλινικά χαρακτηριστικά των καρκινωμάτων της ωθήκης προχωρημένων σταδίων, ώστε να είναι δυνατή η ανεύρεση αντικειμενικών κριτηρίων για την πρόγνωση και την επιλογή των ασθενών για θεραπεία.

Το υλικό αφορούσε 60 ασθενείς που χειρουργήθηκαν στο γυναικολογικό τμήμα του ΓΓΑΝΠ «Μεταξά» λόγω καρκίνου ωθηκών σταδίου III και IV κατά FIGO. Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε ερευνητική λαπαροτομία κατά την οποία έγινε σταδιοποίηση και ογκομειωτική επέμβαση. Ακολούθησε χημειοθεραπεία με συνδυασμό cisplatin και cyclophosphamide και συστηματική παρακολούθηση τουλάχιστον για 5 χρόνια.

Με τη βοήθεια συστήματος ανάλυσης εικόνας (Digital Image Analysis) και σε αντιπροσωπευτικές ιστολογικές τομές των όγκων, έγιναν μορφομετρικές μετρήσεις που αφορούσαν την πυρηνική επιφάνεια, την πυρηνική περίμετρο, το μεγαλύτερο και μικρότερο πυρηνικό άξονα, την κυκλικότητα του πυρήνα, την κυτταροβρίθεια και το μιτωτικό δείκτη. Τα ευρήματα των μετρήσεων αυτών συσχετίστηκαν με κλινικούς προγνωστικούς παράγοντες όπως, στάδιο, κυτταρική διαφοροποίηση, υπολειπόμενη νόσος μετά την αρχική επέμβαση και ανταπόκριση στη θεραπεία.

Η μονοπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων ανέδειξε το στάδιο της νόσου κατά FIGO ($p < 0.001$), την κυτταροβρίθεια ($p < 0.001$), τη μέση τιμή της πυρηνικής επιφάνειας ($p < 0.001$) και το μέγεθος της υπολειπόμενης νόσου

($p < 0.001$) σαν ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες που σχετίζονται με την επιβίωση.

Η πολυπαραγοντική ανάλυση παρείχε σαν καλύτερο συνδυασμό προγνωστικών παραγόντων τη μέση τιμή της πυρηνικής επιφάνειας, τη μέση τιμή και τη σταθερά απόκλιση της κυτταροβρίθειας, το στάδιο της νόσου και τη μέση τιμή της πυρηνικής περιμέτρου.

Καταλήξαμε λοιπόν στο συμπέρασμα ότι οι μορφομετρικοί παράμετροι έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν σημαντικές και συγχρόνως αντικειμενικές πληροφορίες για την πρόγνωση των ασθενών με προχωρημένο ωθηκικό καρκίνο, που υποβάλλονται σε ογκομειωτική επέμβαση και χημειοθεραπεία με cisplatin.

SUMMARY

THE PROGNOSTIC VALUE OF MORPHOMETRY IN ADVANCED EPITHELIAL OVARIAN CANCERS

The relationship between morphometric and clinical data was assessed in a series of 60 advanced ovarian carcinomas.

Morphometric parameters included nuclear area, nuclear perimeter, shortest and longest nuclear axis, roundness coefficient, volume percentage of epithelium (VPE) and mitotic index. All patients had at least five years of follow up. Univariate survival analysis showed that FIGO stage ($p < 0.001$), volume percentage of epithelium ($p < 0.001$), mean nuclear area ($p < 0.001$) and size of residual tumour ($p < 0.001$) are significantly associated with survival.

When the response rate of these patients to cisplatin combination chemotherapy was evaluated, variables with good prognostic outcome were residual tumour size ($p = 0.01$), mean nuclear area ($p = 0.0006$) and s. d. of nuclear area ($p = 0.0019$).

Multivariate analysis revealed the statistically most significant combination of prognostic features consisted of mean nuclear area, mean and standard deviation of volume percentage of epithelium, FIGO stage and mean nuclear perimeter.

We conclude that morphometric parameters are able to support diagnostic and therapeutic decisions.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Α

ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ Α. *Επιθηλιακοί καρκίνοι της ωοθήκης* (1993).

ΑΡΑΒΑΝΤΙΝΟΣ Δ., *Παθολογία της Γυναίκας*. Αθήνα (1985).

ARMITAGE P, and BERRY G., *Statistical methods in Medical Research*, 2nd Ed., Blackwell Scientific Publications; (1990).

ATKIN NB, Modal DNA value and chromosome number in ovarian neoplasia : a clinical and histopathological assessment. *Cancer* 27:1064-1073, (1971).

AUGUST CZ, MURAD TM, NEWTON M, Multiple focal extra-ovarian serous carcinoma. *International Journal of Gynecological Pathology* 4 : 11-23, (1985).

AVERETTE HE, LOVECCHIO JL, TOWNSEND PA, SEVIN BV & GIRTANNER RE, Retroperitoneal lymphatic involvement by ovarian cancer. In Grundmann E (ed) *Cancer Campaign*, vol 7, *Carcinoma of the ovary*, Stuttgart: Fischer, (1983).

AVERETTE HE, HOSKINS W, NGUYEN HN, BOIKE G, FLESSA HC, CHMIEL JS, ZUBER K, C.T.R., KARNELL L AND WINCHESTER DP., National Survey of Ovarian Carcinoma. *Cancer* vol 71, 4, p 1629-1638, (Feb 1993).

Comment [MK1]:

Comment [MK2]:

Β

BAAK JPA, AGRAFOJO BLANCO A, KURVER PHJ, et al, Quantitation of borderline and malignant mucinous ovarian tumours. *Histopathology* 5:353-360, (1981)

BAAK JPA, FOX J, LANGLEY FA, BUCKLY H, The prognostic value of morphometry in ovarian epithelial tumours of borderline malignancy. *Int J Gynecol Path* 4:186-191, (1985).

BAAK JPA, WISSE-BREKELMANS ECM, LANGLEY FA, et al, Morphometric data to FIGO stage and histological type and grade for prognosis of ovarian tumours. *J Clin Pathol* 39:1340-1346, (1986).

Comment [MK3]:

- BAAK JP, LANGLEY FA, TALERMAN A, et al, Interpathology and intrapathologist disagreement in ovarian tumor grading and typing. *Anal Quant Cytol Histol* 8:354-357, (1986).
- BAAK JPA, STOLK JG, CHAN KK, KENEMANS P, Prognostic factors in borderline and invasive ovarian tumours of the common epithelial type. *Pathol Res Pract* 182:755-774, (1987).
- BAAK JPA, SCHIPPER NW, WISSE-BREKELMANS ECM, CEELLEN TH, BOSMAN FT, VAN GEUNS H, WILS J, The prognostic value of morphometrical features and cellular DNA content in cis-platin treated late ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 57:503-508, (1988).
- BAAK JPA, OORT J, FLEEGER JC, VAN DIEST PJ, PLOEM JS, Techniques in Quantitative Pathology In : *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*, Springer-Verlag, p 45-56, (1991).
- BAAK JPA, TOSI P, Historical Background of Quantitative Pathology In : *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*, Springer-Verlag, p 3-6, (1991).
- BAAK JPA, VAN DIEST PJ, The female reproductive tract In : *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*, Springer-Verlag, p 327-356, (1991).
- BAAK JPA *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*, pp 224-226, (1991).
- BAAK JPA, WALBOOMERS JMM, OUDEJANS CBM, Quantitative Pathology In : *Gynecologic Oncology* Malcolm Coppleson (ed) Churchill Livingstone vol 1, p 107-118, (1992).
- BARRACK ER & COFFEY DS, The specific binding of oestrogens and androgens to the nuclear matrix of sex hormone responsive tissues. *J Biol Chem*, 255, 7265, (1980).
- BARBER HRK, Ovarian Cancer, *CA - a Cancer Journal for Clinicians* 3L: 149, (1986).
- BARBER HRK, Prophylaxis in Ovarian Cancer *Cancer* vol 71, 4, p 1529-1533, Feb (1993).
- BAST RC, BOYER CM, JACOBS J, XU FJ, WU S, WIENER J, KOHLER M, BERCHUCK A, Cell Growth Regulation in Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer* vol 71, 4, p 1597-1601, (Feb 1993).
- BERCHUCK A, KOHLER MF, BOENTE MP, RODRIGUEZ GC, WHITAKER RS, BAST RC., Growth Regulation and Transformation of Ovarian Epithelium *Cancer* vol 71, 2, p 545-551, (Jan 1993).

- BEREK SJ, Epithelial Ovarian Cancer (p 327). In : *Practical Gynecologic Oncology* Williams & Wilkins (1989).
- BERTELSEN K, HANSEN MK, PEDERSEN PH, et al, The prognostic and therapeutic value of second look laparotomy in advanced ovarian cancer. *Br J Obstet Gynecol* 95:1231-1236, (1988).
- BIZZI A, CODEGONNI AM, LANDONI F, et al, Steroid receptors in epithelial ovarian carcinoma. Relation to clinical parameters and survival. *Cancer Res* 48:6222-6226, (1988).
- BJORKHOLM E, Blood Group distribution in women with Ovarian Cancer. *Int J Epidemiol* 13:15, (1984).
- BRALY PS, KLEVETCZ RR, Flow Cytometric Evaluation of Ovarian Cancer. *Cancer* vol 71, 4, p 1621-1628, (Feb 1993).
- BRUZZONE M, REPETTO L, CHIARA C, et al, A randomised trial comparing PC vs PAC chemotherapy in epithelial ovarian cancer : 7 years follow-up [Abstract] *Proc Am Soc Clin Oncol*; 9:157 (1990).
- BURGHARDT E, PICKEL H, LAHOUSEN M, et al, Pelvic Lymphadenectomy in operative treatment of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol*; 155:315-322, (1986)

C

Comment [MK4]:

- CHALKLEY HW, Methods for the quantitative morphologic analysis of tissues. *J Nat Cancer Inst*, 4:47, (1943)
- COLGAN TJ, NORRIS HJ, Ovarian epithelial tumours of low potential malignancy : A review, *Int J Gynecol Oncol* 1:367-382, (1983).
- CONTE PF, ALAMA A, RUBAGOTTE A, et al, Cell kinetics in ovarian cancer. Relationship to clinicopathologic features, responsiveness to chemotherapy and survival. *Cancer* 64:1188-1191, (1989).
- COPELAND J LARRY, Staging Laparotomy In : *Gynecologic Oncology*, BE Greer, JS Berek - Elsevier, (1991).
- COX D.R., *Analysis of Binary Data*, Chapman and Hall; (1970).
- COX D.R., Regression models and Life - Tables, *J of the Royal Statistical Society, Series B*, 34, 187 - 202 (1972).
- CRAMER DW, WELCH WR, SCULLY RE, et al, Ovarian Cancer and Talc. A Case-Control study. *Cancer* 50:372, (1982)
- CRAMER DW, WELCH WR, CASSELS S, et al, Mumps, Menarch, Menopause and Ovarian Cancer. *Am J Obstet Gynecol* 147:1, (1983)
- CRAMER DW, WELCH WR, HUTCHISON GB, et al, Dietary animal Fat in relation to Ovarian Cancer Risk. *Obstet Gynecol* 63:833, (1984)

CRAMER DW, Lactase persistence and milk consumption as determinants of ovarian cancer risk. *Am J Epidemiol* 130, 904-910, (1989).

CREASMAN WT, EDDY GL, Prognostic factors in relation to second look laparotomy in ovarian cancer. *Baillieres Clin Obstet and Gynecol* 3: 183-190, (1989).

CZERNOBILSKY B, Common Epithelial Tumors of the ovary. In : Kurman JR (editor), *Blaustein's Pathology of the Female Genital Track*, (p 571, 575). Third Edition, Springer-Verlag, (1987).

D

Comment [MK5]: D

DELESSE MA, Procédé Mécanique pour déterminer la composition des roches. *C. R. Acad Sci (par)* 25:544, (1847)

ΔΕΛΙΔΗΣ ΓΣ : Στοιχεία Μορφομετρίας, Εκδ Αργυριάδη, (1990).

DEMBO AJ, DAVY M, STENWIG AE, et al, Prognostic factors in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 75:263-273, (1990).

DIAMOND DA, BERRY SJ, JEWETT HJ, EGGLESTON JC & COFFEY DS, A new method to assess metastatic potential of human prostate cancer : relative nuclear roundness. *J Urol*, 128, 729, (1982).

DISAIA PJ AND CREASMAN WT, Epithelial ovarian cancer In : *Clinical gynecologic Oncology*. Mosby Year Book, St Louis, p 333-425, (1993).

E

EDMONSON JH, MCCORMICK GW, FLEMING TR, et al, Comparison of cyclophosphamide plus cisplatin versus hexamethylmelamine, cyclophosphamide and cisplatin in combination as initial chemotherapy for stage III and IV ovarian carcinomas. *Cancer Treat Rep*; 69:1243 (1985).

EGRET (version 0.26.06), Statistics and Epidemiology Research Corporation, Seattle, Washington, 1993.

ERHARDT K, AUERG, FORSSLUND G, et al, Prognostic significance of nuclear DNA content in serous ovarian tumours. *Cancer Research* 44:2198-2202, (1984).

ERHARDT K, AUER G, BJORKHOLM E, et al, Prognostic significance of nuclear DNA content in serous ovarian tumours. *Cancer Res* 44:2198-2202, (1984).

F

Comment [MK6]:

FIGO - The International Federation of Obstetrics and Gynecology Staging Classification for Primary Ovarian Carcinoma. *Gynecol Oncol*; 23:383, (1986).

- FIGO stages - 1988 revisions : vulva, ovary, corpus. *Gynecol Oncol*; 35:125 (1989).
- FRIEDLANDER ML, TAYLOR IW, RUSSELL P, et al, Ploidy as a prognostic factor in ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 1:55-62, (1983).
- FRIEDLANDER ML, RUSSEL P, TAYLOR IW et al, Flow cytometric analysis of cellular DNA content as an adjunct to the diagnosis of tumours of borderline malignancy. *Pathology* 16:301-306, (1984).
- FRIEDLANDER ML, Prognostic variables in ovarian cancer. *Aust NZ J Obstet Gynecol* 24:256-260, (1984).
- FRIEDLANDER ML, HEDLEY DW, SWANSON C, RUSSEL P, Prediction of long term survival by flow cytometric analysis of cellular DNA content in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 6:282-290, (1988).
- FRIEDLANDER ML, QUINN MA, FORTUNE D, et al, The relationship of steroid receptor expression to nuclear DNA distribution and clinicopathological characteristics in epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 32:184-190, (1989).
- FRIEDLANDER ML, DEMBO AJ, Prognostic factors in Ovarian Cancer, *Seminars in Oncology*, vol 18, p 205-212, (June 1991).
- FUKS Z, Patterns of spread of ovarian carcinoma : relation to therapeutic strategies. In : Newman CE, Ford CHJ, Jordan JH (eds) *Ovarian Cancer* p 39-51, New York, Pergamon Press, (1980).

G

- GERSHENSON DM, MITTCHELL MF, ATKINSON N, SILVA EG, BURKE TW, MORRIS M, KAVANAGH JJ, WARNER D, WHARTON JT., Age contrasts in patients with Advanced Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer* vol 71, 2, p 638-643, (Jan 1993).
- GLAGOLEFF AA, On the geometrical methods of quantitative mineralogic analysis of rocks. *Trans Inst Econ Mineral* (Moscow), 59, (1933).
- GLOECKLER RIES LA : Ovarian cancer. *Cancer* vol 71, 2, p 524-529, (Jan 1993).
- GRIFFITHS CT, Surgical resection of tumour bulk in the primary treatment of ovarian carcinoma. *Natl Cancer Inst Monogr* 42:101-104, (1975).

Comment [MK7]:

H

- HAAPASALO H, COLLAN Y, ATKIN NB, et al, Prognosis of ovarian carcinomas : prediction by histoquantitative methods. *Histopathology* 15:167-178, (1989).

Comment [MK8]:

- HAAPASALO H, ATKIN NB, COLLAN Y, PESONEN E, PALJARVI L, Tumour ploidy, morphometry, histological grading and clinical features in ovarian carcinoma : mutual relations. *Anal Cell Pathol*, 3(5), 261-71, (Sep. 1991).
- HAAPASALO H, Prognostic factors in ovarian carcinoma. A clinicopathologic study with special reference to mitotic counts, nuclear morphometry and DNA cytometry. *Acta Obst Gynecol Scand*, 70 (4-5), 397, (1991).
- HACKER NF, BEREK JS, LAGASSE LD, et al, Primary cytoreductive surgery for epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 61:413-420, (1983).
- HAINSWORTH JD, GROSH WW, BURNETT LS, et al, Advanced ovarian cancer: Long term results of treatment with intensive cisplatin-based chemotherapy of brief duration. *Annals of Int Med* 108:165-170, (1988).
- HAKAMA MATTI, Epidemiology of Gynecologic malignancies. *European School of Oncology*, (June 1991).
- HACKER F. NEVILLE, Controversial aspects of cytoreductive surgery in epithelial ovarian cancer. Εκδόσεις ESO (1993).
- HEINTZ APM, Cytoreductive surgery for ovarian cancer. In : Berek JS, Greer BE *Gynecologic Oncology* p 135 - 148, (1991).
- HERNANDEZ E, ROSENSHEIN N, Ovarian Cancer In : *Manual of Gynecologic Oncology*, Churchill Livingstone, p 57, (1989).
- HOSKINS WJ, The influence of cytoreductive surgery on progression-free interval and survival in epithelial ovarian cancer. *Baillieres Clin Obstet and Gynecol* 3: 59-71, (1989).
- HOSKINS WJ, The influence of cytoreductive surgery on progression-free interval and survival in epithelial ovarian cancer. *Baillieres Clin Obstet and Gynecol* 3: 59-71, (1989).
- HOSKINS WJ, Treatment strategies for advanced ovarian cancer In : *Gynecologic Oncology* Berek JS, Greer BE (ed) p 149-166, (1991).
- HOSKINS WJ, Surgical staging and cytoreductive surgery of Epithelial Ovarian Cancer *Cancer* vol 71, 4, p 1534-1540, (1993).

J

- JACOBS AJ, DELIGDISCH L, DEPPE G, et al, Histologic correlations of virulence in ovarian adenocarcinoma. 1. Effects of differentiation. *Am J Obstet Gynecol* 143:574-580, (1982).
- JACOBSEN A, BERTELSEN K, SELL A, et al, Advantage of CAP over CP in terms of survival in advanced ovarian carcinoma. [Abstract] *Proc Am Soc Clin Oncol*, 4:113 (1985).

Comment [MK9]:

JENSEN OM, ESTEVE J, MOLLER H, RENARD H., Cancer in the European Community and its member States. *Eur J Cancer* 26 : 1167-1256, (1990).

K

Comment [MK10]:

KALLIONEMI OP, PUNNONEN R, MATTILA J, et al, Prognostic significance of DNA index, multiploidy and S-phase fraction in ovarian cancer. *Cancer* 61:334-339, (1988).

KALBFLEISCH JD AND PRENTICE RL, *The Statistical Analysis of Failure Time Data*, Wiley; (1980).

KAPLAN E.L. AND MEIER P., Nonparametric Estimation from incomplete Observations, *J of American Statistical Association*, 53, 457-481 (1958).

KATSOUYANNI K, KOGEVINAW M, DONTAS N, MAISONNEUVE P, BOYLE P, TRICHOPOULOS D, Mortality from malignant neoplasms in Greece 1960-1985, pp. 1-125, *Greek Cancer Society*, Athens (1990).

KLEMI PJ, JOENSUU H, KIILHOLMA P, et al, Clinical significance of abnormal nuclear DNA content in serous ovarian tumours. *Cancer* 62:2005-2010, (1988).

KUHN W, KAUFMANN M, FEICHTER GE, et al, Psammoma body content and DNA flow cytometric results as prognostic factors in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 9:234-241, (1988).

KVALE G, HEUCH I, NILSSEN S, et al, Reproductive Factors and risk of Ovarian Cancer : A Prospective study. *Int J Cancer* 42:246, (1989).

L

Comment [MK11]:

LA VECCHIA C, LEVI F, LUCCHINI F, NEGRI E, AND FRANCESCHI S, Descriptive Epidemiology of Ovarian Cancer in Europe. *Gynecologic Oncol* 46, 208-215 (1992).

LIPPMAN SM, ALBERTS DS, SLYMEN DJ, et al, Second look laparotomy in epithelial ovarian cancer. Prognostic factors associated with survival duration. *Cancer* 61:2571-2577, (1988).

LUDESCHER C, et al, Prognostic significance of tumor cell morphometry and clinical parameters in advanced ovarian carcinoma. *Int J of Gynec Path* 9:343-351, (1990).

LUESLEY D, BLACKEDGE G, KELLY K, et al, Failure of second look laparotomy to influence survival in epithelial ovarian cancer. *Lancet* 2:599-603, (1988).

LURAIN JR AND PIVER MS : Familial Ovarian Cancer, *Gynecol Oncol* 8 : 185-192, (1979).

LYNCH HT, HARRIS RE, GUIRGIS HA, et al, Familial association of Breast/Ovarian Carcinoma. *Cancer* 41:1543, (1978).

LYNCH HT, WATSON P, LYNCH JF, CONWAY TA, FILI M, Hereditary ovarian Cancer, Heterogeneity in Age at Onset. *Cancer* vol 71, 2, p 573-581, (Jan 1993).

M

Comment [MK12]:

MAURI F, BARBARESSI M, SCAMPINI S, et al : Nucleolar organiser regions in mucinous tumours of the ovary. *Histopathology* 16:396-398, (1990).

MCGUIRE WP: Primary treatment of epithelial ovarian malignancies. *Cancer* vol 71,4 p 1541-1550, (1993).

MCGUIRE WP, Paclitaxel in the treatment of ovarian cancer. In : *Educational Book - ASCO*, p 204-213, (1994).

MORISSON DF, *Multivariate Statistical methods*, 2nd ed., McGraw-Hill; (1976).

MYERS MH et al : Cancer patient survival rates : SEER program results for 10 years of follow up, *CA* 39, 21-32, (1989).

N

NEIJT JP, van der BURG MEL & VRIESENDORP R, Randomized trial comparing two combination chemotherapy regimens (Hexa-CAF vs CHAP-5) in advanced ovarian carcinoma. *Lancet*, ii, 594, (1984).

Comment [MK13]:

NEIJT JP, ten BOKKEL HUININK WW, van der BURG MEL, et al, Randomised trial comparing two combination chemotherapy regimens (CHAP-S vs CP) in advanced ovarian carcinoma. *J Clin Oncol*; 1157-1168 (1987).

NEIJT JP, Ovarian cancer : Rethinking prognostic factors and chemotherapy In : *Educational Book - ASCO*, p 214-220, (1994).

O

OMURA GA, BUNDY BN, BEREK JS, et al, Randomised trial of cyclophosphamide plus cisplatin with or without doxorubicin in ovarian carcinoma : A Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol*; 7:457-465 (1989).

Comment [MK14]:

OMURA GA, BRADY M, HOMESLEY H, YORDAN E, MAJOR F, BUCHSBAUMH, PARK R. Long term follow up and prognostic factor analysis in advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 9 : 1138-1150, (1991).

P

Comment [MK15]:

PARAZZINI F, FRANCESCHI S, LA VECCHIA C AND FASOLI M. The epidemiology of ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 43, 9-23, (1991).

- PARDOLL DM, VOGELSTEIN B & COFFEY DS. A fixed site of DNA replication in eukariotic cells. *Cell* 19, 527, (1980).
- PEREZ RP, HAMILTON TC, OZOLS RF, YOUNG RC, Mechanisms and Modulation of Resistance to chemotherapy in ovarian cancer. *Cancer Supplement* Feb. 15, vol. 71, No 4, (1993).
- PETERSON F, KOLSTAD P, LUDWIG H, et al : Annual report on the results of treatment in gynecological cancer. *International Federation of Gynecology and Obstetrics*, vol 20, Stockholm, Sweden, (1988).
- PETRU E, LAHOUSEN M, TAMUSSINO K, PICKEL H, STETTNER H : Prognostic implications of residual tumour volume in stage III ovarian cancer patients undergoing adjuvant cytotoxic chemotherapy p109-117 in : *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynecology*, vol 3, n 1, (March 1989).
- PICKEL H, LAHOUSEN M, STETTNER H, GIRARDI F : The spread of ovarian cancer In : *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynecology*, vol 3, n 1, (March 1989).
- PIVER MS, BARLOW JJ, SAWYER D : Familial Ovarian Cancer. Increasing in Frequency? *Obstet Gynecol* 60:397-399, (1982).
- PIVER MS : Importance of proper staging in ovarian cancer. *Clin Obstet Gynecol* 10 : 223-234, (1983).
- PIVER MS, Ovarian Carcinoma. A decade of progress. *Cancer*, 54, 2706, (1984).
- PIVER MS, METTLIN C : A case-control study of Milk Drinking and Ovary Cancer Risk. *Am J Epidemiol* 132:871-876, (1990).
- PIVER MS, BAKER TR, PIEDMONTE MARION, SANDECKI M ANNITA : Epidemiology and Etiology of Ovarian Cancer In : *Seminars in Oncology*, vol 18, n 3 - (June 1991).
- PIVER MS, BAKER TR, JISHI MF, SANDECKI AM, TSUKADA Y, NATARAJAN N, METTLIN CJ, BLAKE CA : Familial Ovarian Cancer, a report of 658 families from the Gilda Radner Familial Ovarian Cancer Registry 1981-1991. *Cancer* vol 71, 2 - p 582-588, (Jan 1993).
- PODRATZ KC, KINNEY WK : Second-Look operation in ovarian cancer. *Cancer* vol 71, 4, p 1551-1558, (1993).
- PUNNONEM R, KALLIONIEMI OP, MATTILA J, et al : Prognostic assessment in stage I ovarian cancer using a discriminant analysis with clinicopathological and DNA flow cytometric data. *Gynecol Obstet Invest* 27:213-216, (1989).

R|

Comment [MK16]:

REEDMAN JR, PETRONI GR, SAIGO PE, et al : Prognostic factors in advanced ovarian carcinoma, *J Clin Oncol*, 4:515-523 (1986).

RODENBURG CJ, CORNELISSE CJ, HEINTZ PAM, et al : tumour ploidy as a major prognostic factor in advanced ovarian cancer. *Cancer* 59:317-323, (1987).

RODENBURG CJ, CORNELISSE CJ, HERMANS J, et al : DNA flow cytometry and morphometry as prognostic indicators in advanced ovarian cancer; a step forward in predicting the clinical outcome. *Gynecol Oncol* 29:176-187, (1988).

ROLLANSON TP : Prognostic factors in ovarian cancer, In Aspects of ovarian pathology. *Recent Advances in Histopathology*. p200-201, (1992).

ROSE PG, REALE FR, LONGCOPE C et al : Prognostic significance of oestrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer. *Obstetrics and Gynecology* 76:258-263, (1990).

RUSSELL P : The pathological assessment of ovarian neoplasms. III The malignant epithelial tumours. *Pathology* 11:493-532, (1979).

RUSSELL P : Borderline epithelial tumours of the ovary. *Clin Obstet Gynecol* 11:259-277, (1984).

RUSTIN GJS, GENNINGS JN, NELSTROP AE, et al : Use of Ca 125 to predict survival of patients with ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 7:1667-1671, (1989).

S

Comment [MK17]:

SEVELDA P, SCHEMPER M, SPONA J : Ca 125 as an independent prognostic factor for survival in patients with ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 161:1213-1216, (1989).

SILVERBERG E : Cancer Statistics 1989 *CA* 39(1), (1989).

SILVERBERG E, BORING CC, SQUIRES TS : Cancer Statistics 1990 *CA* 40, 9-26, (1990).

SLOTMAN BJ, NAUTA JJP, RAO BR : Survival of patients with ovarian cancer. Apart from stage and grade, tumor progesterone receptor content is a prognostic indicator. *Cancer* 66:740-744, (1990).

SORBE B, FRANKENDAL BO, VERESS B : Importance of histologic grading in the prognosis of epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 59:576-582, (1982).

SPANDIDOS DA AND ANDERSON MLM : Oncogenes and onco-suppressor genes "Their involvement in cancer". *J Pathol*, 157: 1-10, (1989).

SPSS (release 5.4), SPSS INC. Chicago, 1992.

SWENERTON KD, HISLOP TG, SPINELLI J, et al : Ovarian carcinoma : A multivariate analysis of prognostic factors. *Obstet Gynecol* 65:264-269, (1985).

T

TOMATIS L, AITIO A, DAY NE, HESELTINE E, KALDOR J, MILLER AB, PARKIN DM AND RIBOLI E, *Cancer : causes, occurrence, and control. IARC Scientific publication 100*, pp. xci+352, IARC, Lyon (1990).

Comment [MK18]:

U

UNDERWOOD JCE : A morphometric analysis of human breast carcinoma. *Br J Cancer*, 26, 234, (1972).

Comment [MK19]:

V

VAN HOUWELINGEN JC, BOKKEL HUIJINK W, VAN DER BURG AT, et al : Predictability of the survival of patients with ovarian cancer, *J Clin Oncol* 7:769-773, (1989).

Comment [MK20]:

VAN NAGELL JR, DEPRIEST PD, GALLION HH, PAVLICK EJ : Ovarian Cancer Screening. *Cancer* vol 71, 4, p 1523-1528, (Feb 1993).

VERMORKEN J.B., Ovarian carcinoma, Chemotherapy in advanced disease and experimental approach. Εκδόσεις ESO (1993).

VLACHONIKOLIS I.G. AND MARRIOTT F.H.C., "Discrimination with Mixed Binary and Continuous Data", *Applied Statistics*, 31, 23-31 (1982).

VOEST EE, VAN HOUWELINGEN JC, NEIJT JP : A meta-analysis of prognostic factors in advanced ovarian cancer with median survival and overall survival measured with log (relative risk) as main objectives. *Eur J Cancer Clin Oncol* 27:711-720, (1989).

W

WEIBEL ER : Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest* 12:131-155, (1963).

WEIBEL ER : Stereological principles for morphometry in electron microscopy. *Int Rev Cytol* 26 : 235-302, (1969).

WEIBEL ER : Stereological methods, vol 1. *Practical methods for biological morphometry*. Academic, London, (1979).

WHITTEMORE AS, WU ML, PAFFENBARGER RS, et al : Personal and Environmental Characteristics Related to Epithelial Ovarian Cancer II. Exposure to talcum powder, Tobacco, Alcohol and Coffee. *Am J Epidemiol* 128 : 1228, (1988).

WHITTEMORE AS, WU KL, PAFFENBARGER RS, et al : Epithelial Ovarian Cancer and Ability to Conceive. *Cancer Res* 49:4047, (1989).

WHITTEMORE AS : Personal characteristics relating to risk of Invasive Epithelial Ovarian Cancer in older women in the United States. *Cancer* vol 71, 2, p 558-565, (Jan 1993).

WHILS J, BLIJHAM G & NAUS A, Primary or delayed debulking surgery and chemotherapy consisting of *cis*-platin, doxorubicin, and cyclophosphamide in stage III-IV epithelial ovarian carcinoma. *J Clin Oncol*, 4, 1068, (1986).

WILLIAMS PL, WARWICK R (eds) : *Grays Anatomy*, p798, Edinburg, Churchill, (1980).

Comment [MK21]:

Y

YANCIK R, RIES LG, YATES JW : Ovarian Cancer in the elderly : An Analysis of surveillance, Epidemiology and End Results Program Data. *Am J Obstet Gynecol* 154:639-647, (1986).

Comment [MK22]:

YOUNG RC, DECKER DG, WHARTON JT, et al : Staging laparotomy in early ovarian cancer *JAMA*, 250:3072-3077, (1983).

