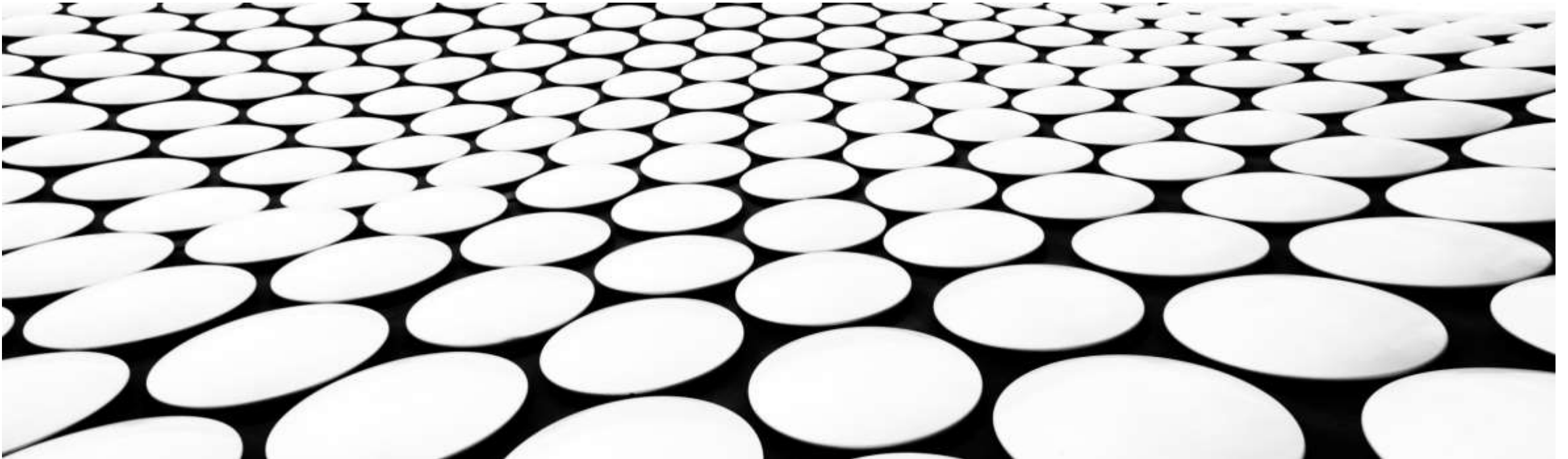
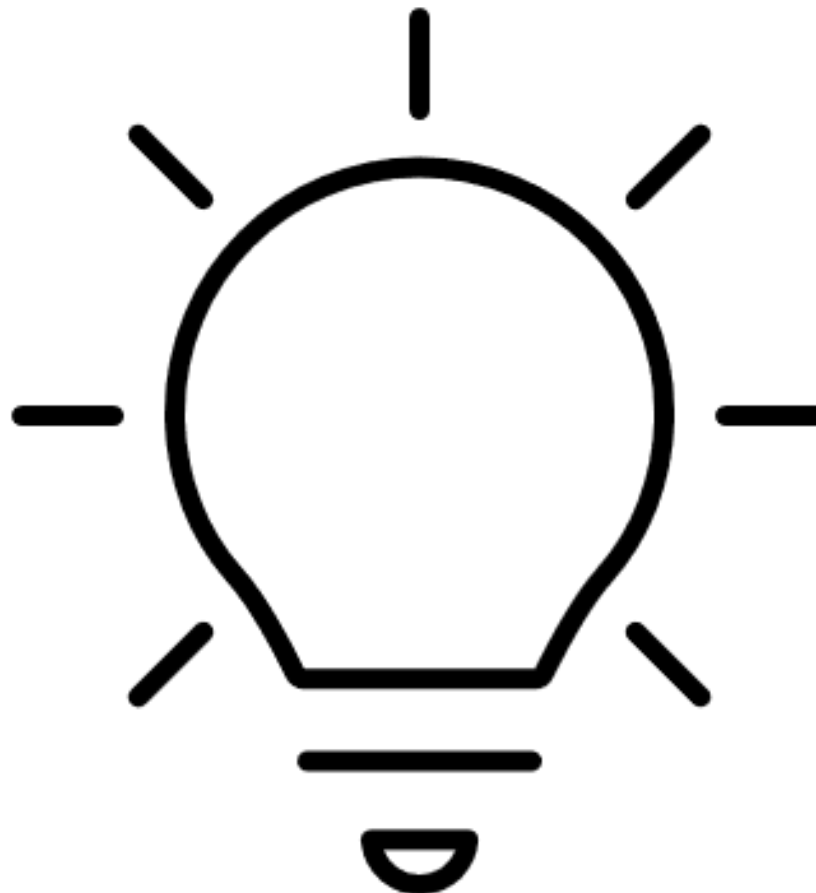

Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ (CELLULAR SENESENCE) ΣΤΟ ΚΛΑΣΙΚΟ ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN

ΕΚΠΟΝΗΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ: ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΤΣΟΛΑΣ



ΣΚΟΠΟΣ

Η ανίχνευση γηρασμένων κυττάρων (senescent cells) σε δείγματα ασθενών με κλασικό λέμφωμα Hodgkin με τη χρήση ενός νέου αντιδραστηρίου, του SenTraGor™, και η συσχέτιση των ευρημάτων με κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών



ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Κατάσταση στην οποία η ανάπτυξη του κυττάρου έχει σταματήσει και η διαίρεσή του έχει ανασταλεί μη αναστρέψιμα

- **Αντιγραφική γήρανση:** πυροδοτείται από τη μείωση του μήκους των τελομερών σε κάθε κυτταρική διαίρεση η οποία οφείλεται σε απενεργοποίηση του γονιδίου της τελομεράσης

- **Πρώιμη γήρανση:** προκαλείται από πολυάριθμα στρεσογόνα ερεθίσματα όπως η ιονίζουσα ακτινοβολία, το οξειδωτικό στρες ή η υπερέκφραση/ενεργοποίηση ογκογονιδίων η οποία θεωρείται μια σημαντική **αντι-ογκογόνος διαδικασία**

Η κυτταρική γήρανση εμπλέκει επιπρόσθετες διαδικασίες, όπως η ιστική επιδιόρθωση και η φλεγμονή που ενδέχεται να οδηγήσουν σε **ογκογένεση**, συνιστώντας έτσι ένα βιολογικό φαινόμενο με αντικρουόμενες συνέπειες (ανταγωνιστική πλειοτροπία)

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΗΡΑΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ

- Αύξηση μεγέθους κυττάρου
- Διακοπή κυτταρικού κύκλου στην G1 φάση
- Απουσία απόκρισης σε αυξητικά ερεθίσματα
- Αυξημένη ενεργότητα β-γαλακτοσιδάσης (SA-β-gal)
- Μεταβολές στην πρωτεϊνική έκφραση – SASP
- Αλλαγές στον πυρήνα (παρουσία πολλών πυρήνων, SAHF, DNA-SCARSs)
- Κατεστραμμένα μιτοχόνδρια, λυσοσώματα με δομικές αλλαγές, συσσώρευση λιποφουσκίνης στο κυτταρόπλασμα

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

- CDK αναστολείς (π.χ. p16, p21, p53)
- SASP παράγοντες και υποδοχείς (π.χ. IL-6, IL-8)
- Μείωση έκφρασης λαμίνης B1

SENESCENCE-ASSOCIATED SECRETORY PHENOTYPE (SASP)

- Πληθώρα παραγόντων που εκκρίνονται από τα γηρασμένα κύτταρα
- Περιλαμβάνουν
 - Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες
 - Χημειοκίνες
 - Ρυθμιστές της αύξησης
 - Αγγειογενετικούς παράγοντες
 - Μεταλλοπρωτεΐνες

Η
σύσταση
ποικίλλει

Ελέγχεται από ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων (NF-κB, C/EBPβ, GATA4) και σηματοδοτικών μονοπατιών (mTOR, p38MAPK)

- Διαμεσολαβεί πολλές διεργασίες
 - Ενισχύει και εξαπλώνει τη γήρανση με αυτοκρινή και παρακρινή δράση
 - Επούλωση πληγών και ιστική πλαστικότητα
 - Συμβάλλει στην εμμένουσα χρόνια φλεγμονή
 - Επαγωγή ογκογένεσης μέσω αγγειογένεσης και μετάστασης

Επικοινωνία με το μικροπεριβάλλον μέσω NOTCH σηματοδότησης, κυτταροπλασματικών γεφυρών και εξωκυττάρων κυστιδίων

Coppe, JP, et al (2010), Kuilman, P, Peeper, DS (2009), Acosta, JC, et al (2013), Demaria, M et al (2014), Mosteiro, L, et al (2016), Franceschi, C, Campisi, J (2014), Ito, Y, et al (2017), Salama, R, et al (2014)

DNA-SCARS

Μόνιμες πυρηνικές περιοχές με βλάβη του DNA

Διαφορές από παροδικές περιοχές βλάβης DNA

Αποτελούν δυναμικές δομές που ρυθμίζουν πολλαπλές πτυχές του γηρασμένου κυττάρου

Παρόλα ταύτα δεν αποτελούν γνώρισμα όλων των senescent cells καθώς δεν πυροδοτείται μόνιμη βλάβη του DNA από όλα τα ερεθίσματα που επάγουν γήρανση

Σχετίζονται ειδικώς με τα πυρηνικά σωμάτια PML

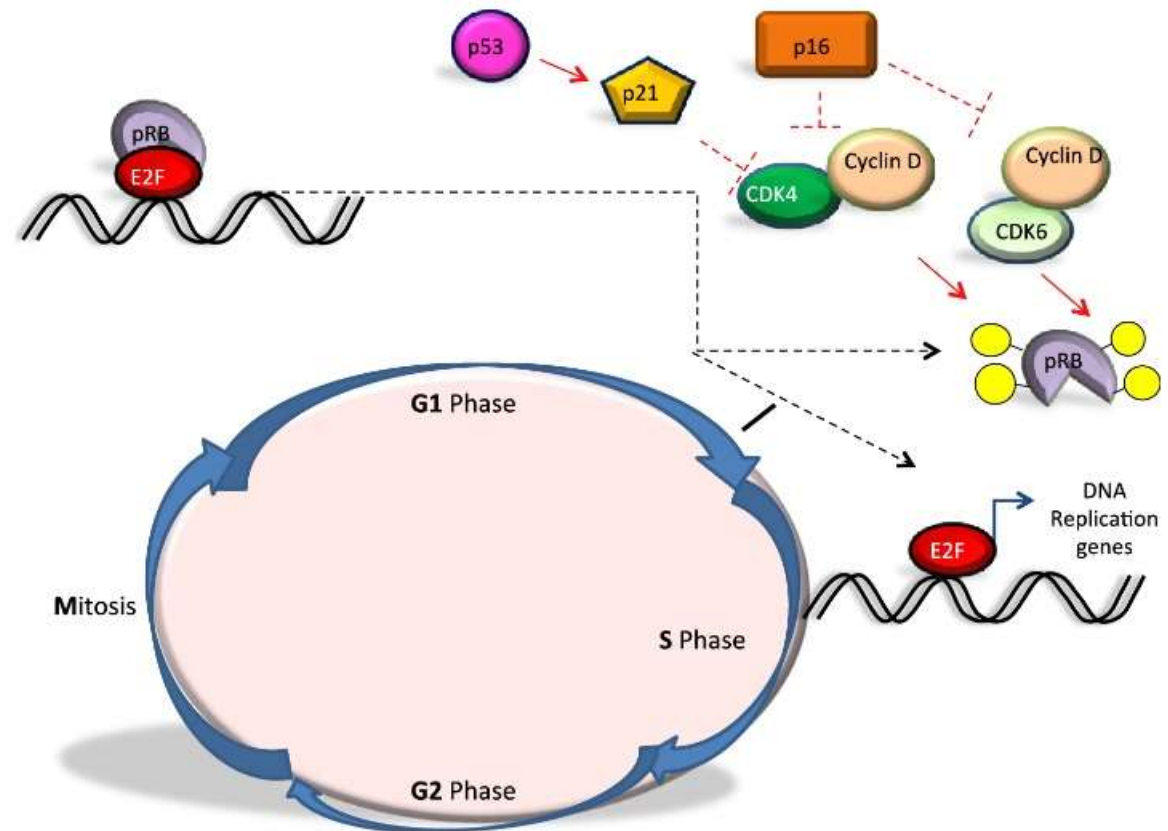
Όχι πρωτεΐνες επιδιόρθωσης RPA και RAD51

Περιέχουν ενεργοποιημένες μορφές των πρωτεϊνών ATM, ATR, CHK2 και p53

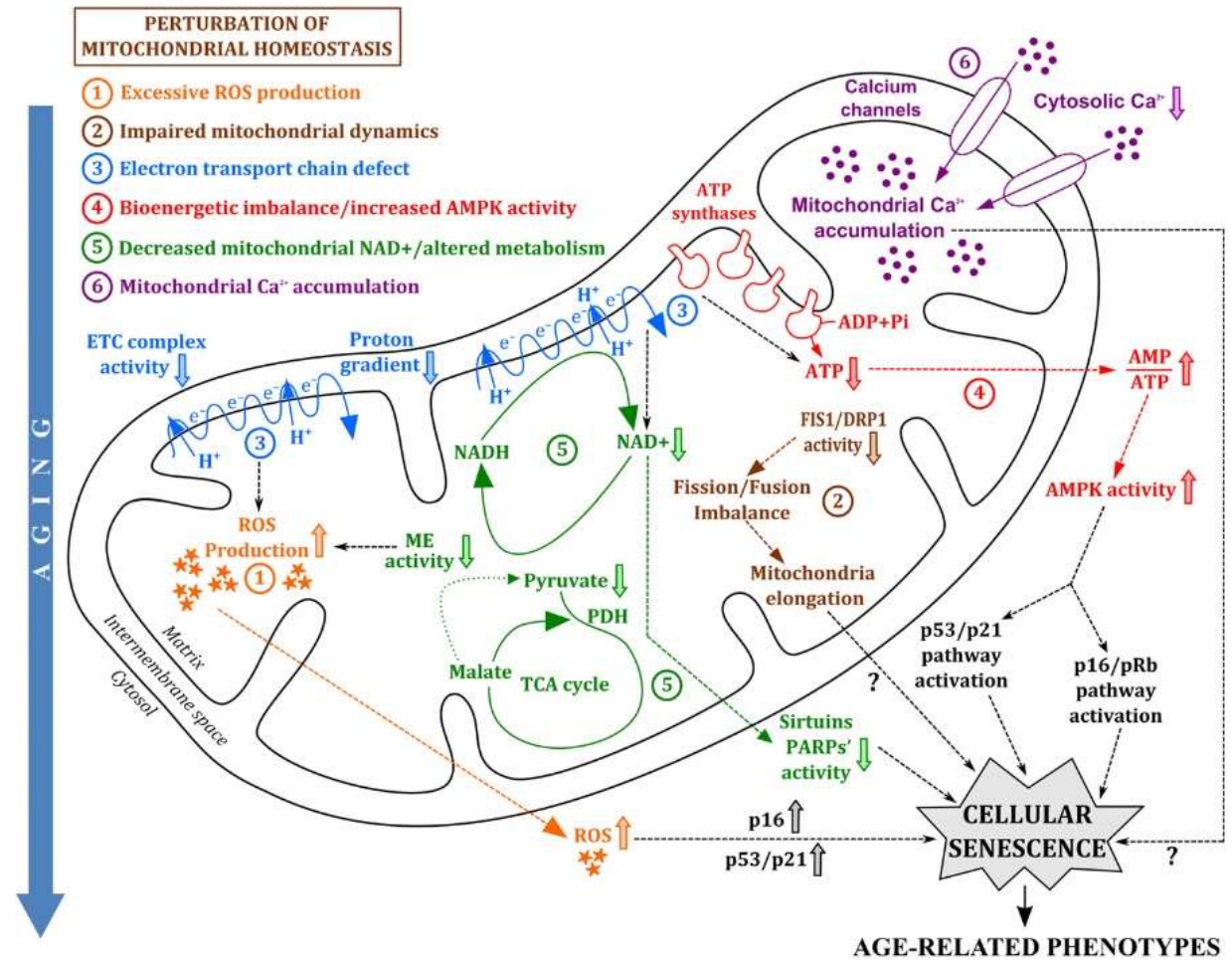
Π.χ. την αναστολή της αύξησης

Και τον SASP

ΚΥΡΙΟΙ ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ



ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ



ΛΥΣΟΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

01

Τα λυσοσώματα αυξάνονται σε αριθμό και μέγεθος → παρατηρείται κυτταροπλασματική κοκκίωση στο μικροσκόπιο

02

Ο αυξημένος αριθμός τους αντανakλά προσπάθεια εξισορρόπησης της σταδιακής συσσώρευσης δυσλειτουργικών μέσω παραγωγής νέων

03

Η αυξημένη λυσοσωμική μάζα έχει συνδεθεί με τη δραστικότητα της **SA-β-gal** που είναι *βιοδείκτης* της γήρανσης

04

Παρόλα αυτά η SA-β-gal **δεν εμφανίζει απόλυτη ευαισθησία και ειδικότητα** για τα γηρασμένα κύτταρα

05

Η ενδολυσοσωμική συσσώρευση κοκκίων λιποφουσκίνης ευοδώνει την έκφραση του bcl-2 προσδίδοντας αντίσταση στην απόπτωση

ΜΗ ΑΝΑΣΤΡΕΨΙΜΗ
ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ
ΝΟΣΟΙ
ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ
ΤΗΝ ΠΑΡΟΔΟ ΤΗΣ
ΗΛΙΚΙΑΣ/ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Καρδιακή ανεπάρκεια

Νεφρική νόσος

Αθηροσκλήρωση

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Μεταβολικό σύνδρομο

Οστεοαρθρίτιδα

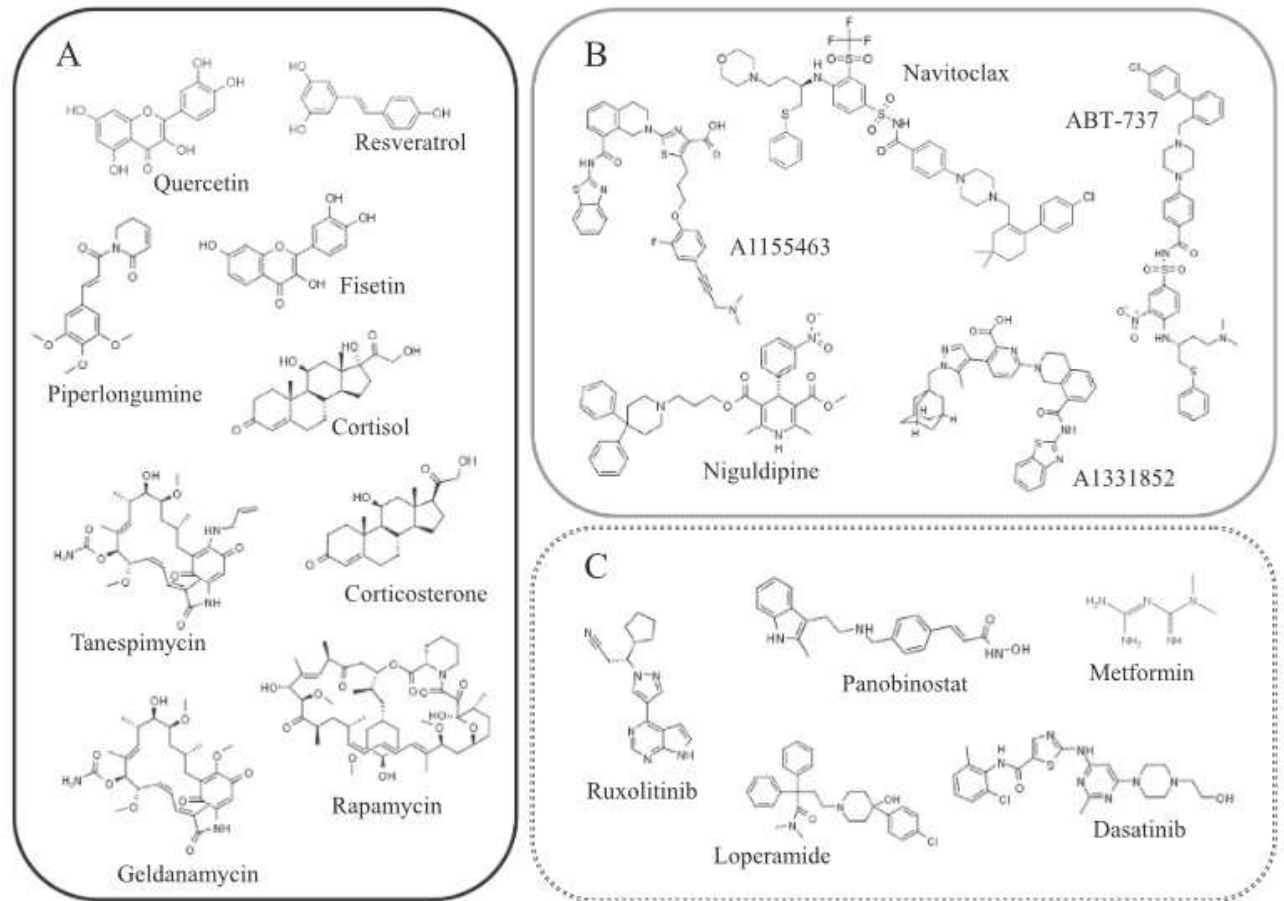
Νευροεκφυλιστικές νόσοι

Νεοπλασίες

SENOTHERAPEUTICS

Senolytics

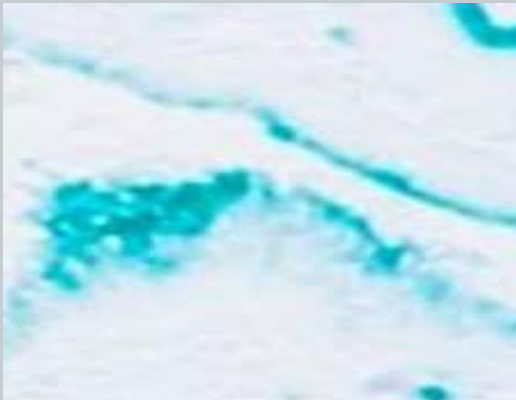
Senomorphics



ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΗΡΑΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

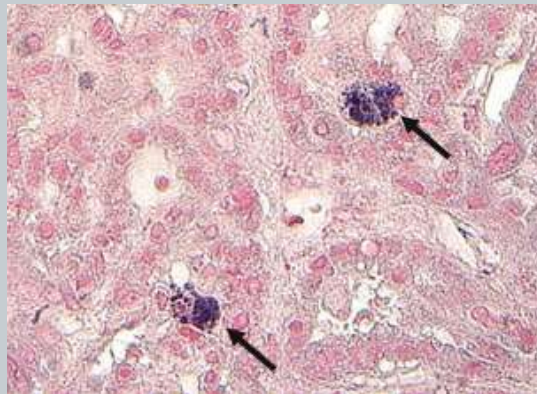
Μέτρηση δραστηριότητας SA-β-gal

- μόνο σε φρέσκα δείγματα
- ψευδώς θετικά και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα



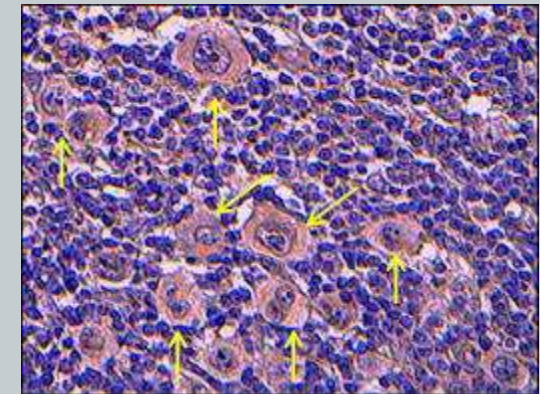
SudanBlackB (SBB)

- παρακάμπτει αυτές τις αδυναμίες ΑΛΛΑ
- η οπτικοποίηση των SBB-θετικών κοκκίων λιποφουσκίνης δεν είναι πάντα σαφής
- απαιτεί μεγαλύτερη εμπειρία-“θόρυβος”



GL13 (SenTraGor™)

- ίδια ειδικότητα, καλύτερη ευαισθησία από SBB
- ευρέως εφαρμόσιμη ακόμη και από μη εξειδικευμένους χρήστες
- μπορεί να χρησιμοποιηθεί για IHC, ICC, IF και FACS



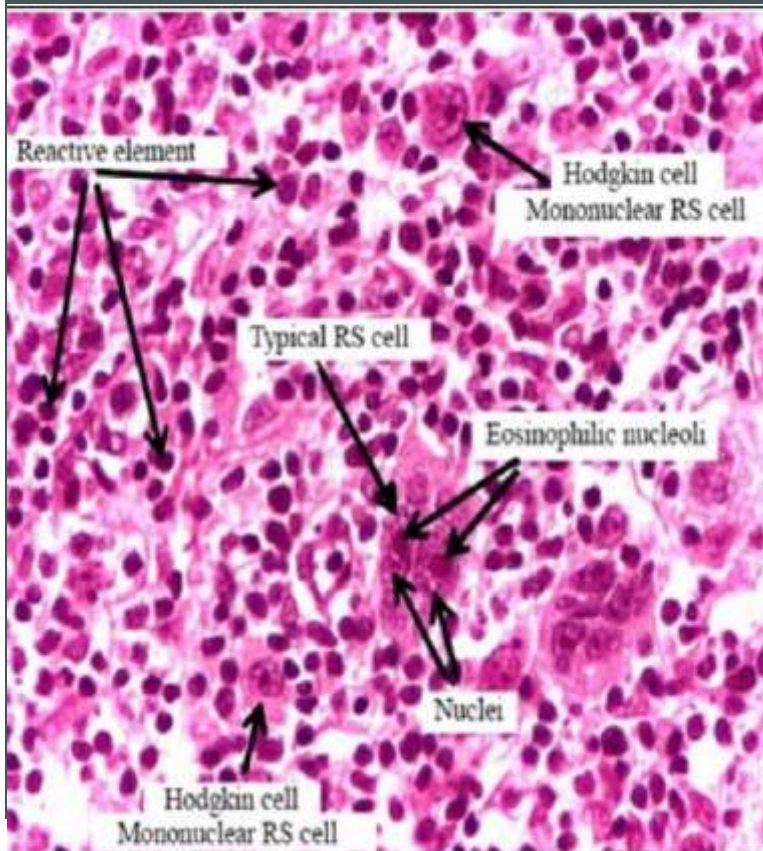
ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

- Νεοπλασματική νόσος Β-κυτταρικής αρχής
- Οι περισσότεροι ασθενείς διαγιγνώσκονται σε ηλικία μεταξύ 15 και 30 ετών, ενώ η δεύτερη σε συχνότητα ηλικιακή ομάδα ασθενών είναι ≥ 55 ετών
- Παρατηρείται μικρή επικράτηση των ανδρών
- Συνιστά περίπου το 10% όλων των λεμφωμάτων στο δυτικό κόσμο και σύμφωνα με την ταξινόμηση WHO κατατάσσεται ως α) κλασικό λέμφωμα Hodgkin και β) οζώδες λέμφωμα Hodgkin λεμφοκυτταρικής επικράτησης
- Στο δυτικό κόσμο η πρώτη κατηγορία αποτελεί το 95% και η δεύτερη κατηγορία το 5% όλων των λεμφωμάτων Hodgkin

ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN

ΔΙΑΓΝΩΣΗ



- Η διάγνωση του λεμφώματος Hodgkin απαιτεί βιοψία λεμφαδένα (ή βιοψία από άλλο όργανο με πιθανή προσβολή)
- Στο κλασικό λέμφωμα Hodgkin, παρατηρούνται σπάνια κακοήθη κύτταρα που ονομάζονται Hodgkin και Reed-Sternberg (HRS) κύτταρα τα οποία περιβάλλονται από άφθονο αντιδραστικό μικροπεριβάλλον
- Στο οζώδες λέμφωμα Hodgkin λεμφοκυτταρικής επικράτησης ανιχνεύονται διάσπαρτα μεγάλα lymphocyte predominant (LP) κύτταρα σε ένα μικρό κυτταρικό υπόστρωμα
- Ο ανοσοφαινότυπος των νεοπλασματικών κυττάρων στο κλασικό λέμφωμα Hodgkin και στο οζώδες λέμφωμα Hodgkin λεμφοκυτταρικής επικράτησης διαφέρει σημαντικά
- Σε αντίθεση με τα HRS κύτταρα που τυπικά εκφράζουν τους δείκτες CD30 και CD15, περιστασιακά είναι θετικά για CD20 και συνήθως αρνητικά για CD45, τα LP κύτταρα χαρακτηρίζονται από την έκφραση CD20 και CD45 αλλά είναι αρνητικά για CD15 και CD30⁸

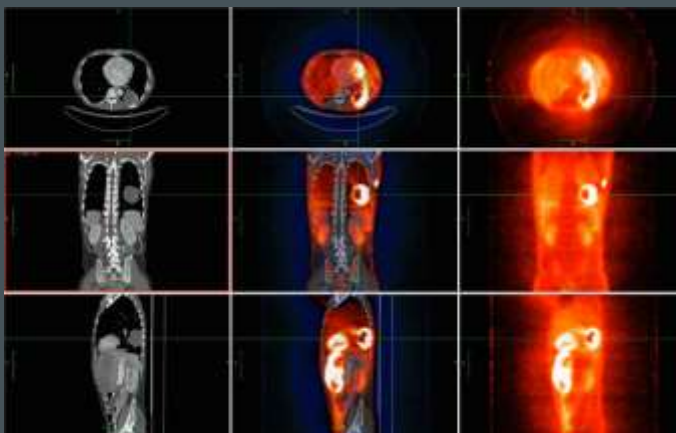
ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ & ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

- Απαραίτητη είναι η λεπτομερής καταγραφή του ιατρικού ιστορικού συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας B-συμπτωμάτων (πυρετός, νυκτερινές εφιδρώσεις, ανεξήγητη απώλεια βάρους πάνω από 10% τους τελευταίους 6 μήνες) και άλλων συμπτωμάτων σχετιζόμενων με τη νόσο όπως κόπωση ή κνησμός καθώς και των αποτελεσμάτων της κλινικής εξέτασης
- Η απλή ακτινογραφία θώρακος και η αξονική τομογραφία τραχήλου, θώρακος και κοιλίας πρέπει να γίνονται σε όλες τις περιπτώσεις

ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ & ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ



- Ολοσωματική τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography, PET) σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες για τη σταδιοποίηση και την εκτίμηση απόκρισης στη θεραπεία
 - ❖ Η σταδιοποίηση του νοσήματος γίνεται σύμφωνα με το σύστημα AnnArbor λαμβάνοντας υπόψη και κλινικές παραμέτρους (π.χ. Β-συμπτώματα)
 - ❖ Μετά την ολοκλήρωση της σταδιοποίησης η νόσος χαρακτηρίζεται ως περιορισμένου, ενδιάμεσου ή προχωρημένου σταδίου

- Προκειμένου να καθοριστεί ποιος ασθενής διατρέχει αυξημένο κίνδυνο για βραχυπρόθεσμες ή/και απώτερες επιπλοκές και προκειμένου να υπάρχουν baseline τιμές για μελλοντικές μετρήσεις, θα πρέπει να διενεργούνται προ έναρξης θεραπείας λειτουργικές δοκιμασίες καρδιάς και πνευμόνων
- Η χημειοθεραπεία και η κοιλιακή ακτινοβολία ενδέχεται να προκαλέσουν μη αναστρέψιμη υπογονιμότητα, συνιστάται να προσφέρεται στους ασθενείς αναπαραγωγικής ηλικίας η δυνατότητα αποθήκευσης σπέρματος ή συλλογής ωοκυττάρων προ έναρξης θεραπείας

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΛΑΣΙΚΟΥ ΛΕΜΦΩΜΑΤΟΣ HODGKIN

Θεραπεία πρώτης γραμμής: συνίσταται σε συνδυασμό χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας (όταν πρόκειται για νόσο περιορισμένου ή ενδιάμεσου σταδίου) ή σε χημειοθεραπεία μόνο (όταν πρόκειται για νόσο προχωρημένου σταδίου)

Η ένταση της θεραπείας εξαρτάται από το προφίλ κινδύνου του ασθενούς στη διάγνωση και από το αποτέλεσμα της ενδιάμεσης PET-CT (όταν η PET είναι διαθέσιμη)

ΝΟΣΟΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ

Ο συνδυασμός θεραπειών (2 ή 3 κύκλοι χημειοθεραπείας ακολουθούμενοι από ακτινοθεραπεία) έχει ως αποτέλεσμα καλύτερο έλεγχο της νόσου σε σύγκριση με ακτινοθεραπεία μόνο

Δύο ή τρεις κύκλοι του χημειοθεραπευτικού σχήματος ABVD (δοξορουμπικίνη/ μπλεομυκίνη/ βινμπλαστίνη/ ντακαρμπασίνη) ακολουθούμενοι από κλασματοποιημένη συμβατική ακτινοθεραπεία συνιστούν το standard of care για νόσο περιορισμένου σταδίου

Συνιστάται η ακτινοθεραπεία εμπλεκόμενης περιοχής (involved-site radiation therapy, ISRT) έναντι της ακτινοθεραπείας εμπλεκόμενου πεδίου (involved-field radiation therapy, IFRT)

Χημειοθεραπεία μόνο (χωρίς να συνδυαστεί με ακτινοθεραπεία) μπορεί να προσφερθεί σε ασθενείς όταν ο κίνδυνος απώτερων επιπλοκών οφειλόμενων στην ακτινοθεραπεία θεωρείται ότι υποσκελίζει το βραχυπρόθεσμο όφελος της βελτίωσης του ελέγχου της νόσου

Η μπλεομυκίνη δεν πρέπει να δίνεται για πλέον των 2 κύκλων σε ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών

Στις περιπτώσεις που διενεργείται ενδιάμεση PET μετά 2 κύκλους ABVD και είναι θετική, θα πρέπει να χορηγούνται 2 κύκλοι του χημειοθεραπευτικού σχήματος BEACOPPesc (μπλεομυκίνη/ ετοποσίδη/ δοξορουμπικίνη/ κυκλοφωσφαμίδη/ βινκριστίνη/ προκαρβαζίνη/ πρεδνιζόνη σε κλιμακούμενη δόση) πριν την ISRT

ΝΟΣΟΣ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ

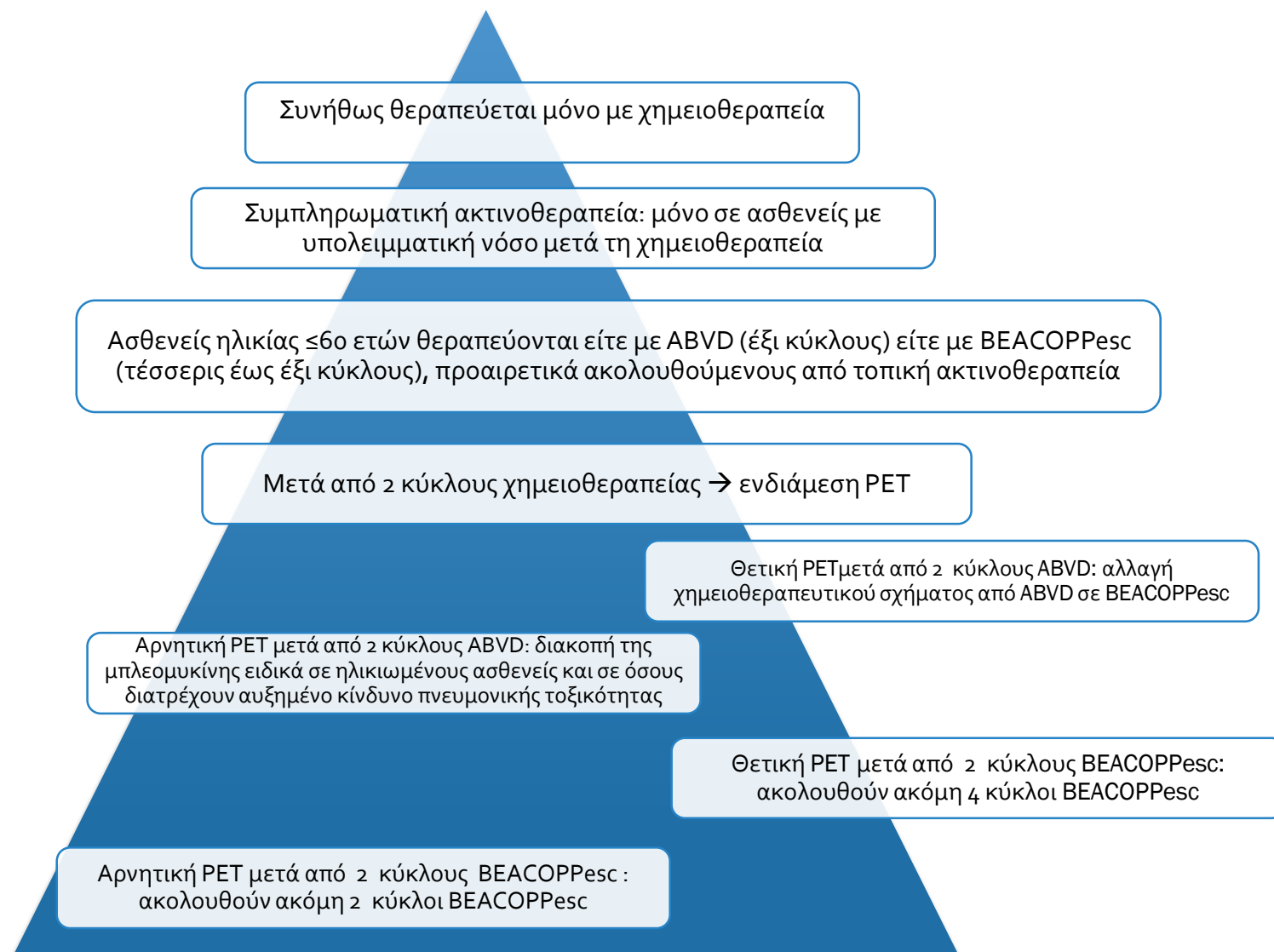
- Τέσσερις κύκλοι ABVD ακολουθούμενοι από κλασματοποιημένη συμβατική ακτινοθεραπεία στα 30 Gy θεωρούνται ευρέως το standard of care
- Δύο κύκλοι BEACOPPesc ακολουθούμενοι από 2 κύκλους ABVD & ακτινοθεραπεία στα 30 Gy μπορούν να χορηγηθούν σε ασθενείς ηλικίας ≤60 ετών που είναι επιλέξιμοι για πιο εντατική θεραπεία

- Συνιστάται η ISRTέναντι της IFRT

- Ενδιάμεση PETμετά 2 κύκλους ABVD θετική→ χορηγούνται 2 κύκλοι του χημειοθεραπευτικού σχήματος BEACOPPesc (μπλεομυκίνη/ ετοποσίδη/ δοξορουμπικίνη/ κυκλοφωσφαμίδη/ βινκριστίνη/ προκαρβαζίνη/ πρεδνιζόνη σε κλιμακούμενη δόση) πριν την ISRT

- Η μπλεομυκίνη δεν πρέπει να δίνεται για πλέον των 2 κύκλων σε ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών
- Χημειοθεραπεία μόνο (χωρίς να συνδυαστεί με ακτινοθεραπεία) μπορεί να προσφερθεί σε ασθενείς όταν ο κίνδυνος απώτερων επιπλοκών οφειλόμενων στην ακτινοθεραπεία θεωρείται ότι υποσκελίζει το βραχυπρόθεσμο όφελος της βελτίωσης του ελέγχου της νόσου

ΝΟΣΟΣ ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ



ΝΟΣΟΣ ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ

Ακτινοθεραπεία χορηγείται σε ασθενείς με PET-θετική υπολειμματική νόσο $\geq 2,5$ εκ. μετά από 4 ή 6 κύκλους BEACOPPesc

Το χημειοθεραπευτικό σχήμα BEACOPP δεν πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς ηλικίας >60 ετών

Ασθενείς πιο προχωρημένης ηλικίας με κατάσταση ικανότητας που τους επιτρέπει να λάβουν πολυπαραγοντική χημειοθεραπεία, η βασισμένη στο σχήμα ABVD χημειοθεραπεία αποτελεί το standard of care (η μπλεομυκίνη πρέπει να διακόπτεται μετά το δεύτερο χημειοθεραπευτικό κύκλο)

ΥΠΟΤΡΟΠΙΑΖΟΥΣΑ / ΑΝΘΕΚΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

Θεραπεία εκλογής: είναι οι υψηλές δόσεις χημειοθεραπείας ακολουθούμενες από αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων

Ασθενείς υψηλού κινδύνου ενδέχεται να ωφεληθούν από διπλή αυτόλογη μεταμόσχευση

Στόχος της θεραπείας διάσωσης ανεξαρτήτως του χρησιμοποιούμενου σχήματος είναι η επίτευξη αρνητικής PET

Σε ασθενείς με συγκεκριμένους παράγοντες υψηλού κινδύνου συνιστάται η θεραπεία σταθεροποίησης με brentuximab vedotin μετά τις υψηλές δόσεις χημειοθεραπείας και την αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων

Σχήματα διάσωσης που μπορούν να χορηγηθούν προ των υψηλών δόσεων χημειοθεραπείας και της αυτόλογης μεταμόσχευσης είναι τα DHAP (δεξαμεθαζόνη, κυταραβίνη, σισπλατίνη), IGEV (ιφωσφαμίδα, γεμισιταμίνη, βινoreλμίνη) ή ICE (ιφωσφαμίδα, καρβοπλατίνη, ετοποσίδη)

Σε μερικούς ασθενείς η μονοθεραπεία με brentuximabvedotinenδέχεται να είναι επαρκής ως θεραπεία διάσωσης πριν τη μεταμόσχευση

Σε ασθενείς με μεμονωμένους PET-θετικούς λεμφαδένες μετά τη θεραπεία διάσωσης, μπορεί να συζητηθεί η χορήγηση ακτινοθεραπείας προ των υψηλών δόσεων χημειοθεραπείας και της αυτόλογης μεταμόσχευσης

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΟΖΩΔΟΥΣ ΛΕΜΦΩΜΑΤΟΣ HODGKIN

ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣΗΣ

- Θεραπεία όμοια με τη θεραπεία του κλασικού λεμφώματος Hodgkin σε όλους τους ασθενείς εκτός από εκείνους με νόσο σταδίου IA χωρίς κλινικούς παράγοντες κινδύνου
- Στους ασθενείς με νόσο σταδίου IA χωρίς κλινικούς παράγοντες κινδύνου η θεραπεία είναι η ακτινοθεραπεία εμπλεκόμενης περιοχής (ISRT) στα 30 Gy
- Σε ασθενείς με υπόνοια υποτροπής πρέπει να διενεργείται νέα βιοψία προ της έναρξης χορήγησης θεραπείας διάσωσης.
 - Οι εντοπισμένες υποτροπές μπορούν να θεραπευθούν επιτυχώς με anti-CD20 μονοκλωνικά αντισώματα όπως η ριτουξιμάμπη ή η οφατουμουμάμπη χορηγούμενα ως μονοθεραπεία
- Ασθενείς με πιο εκτεταμένη νόσο στην υποτροπή και με επιπρόσθετα χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου μπορεί να χρειαστούν πιο επιθετική χημειοθεραπεία διάσωσης, πιθανώς σε συνδυασμό με ένα anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα
- Η επιλογή της θεραπείας διάσωσης πρέπει να είναι εξατομικευμένη και να βασίζεται σε παράγοντες όπως το χρονικό διάστημα έως την υποτροπή, η έκταση της νόσου στην υποτροπή και προηγηθείσες θεραπείες

ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN

ΠΡΟΓΝΩΣΗ



Κατατάσσεται μεταξύ των πλέον ιάσιμων νόσων

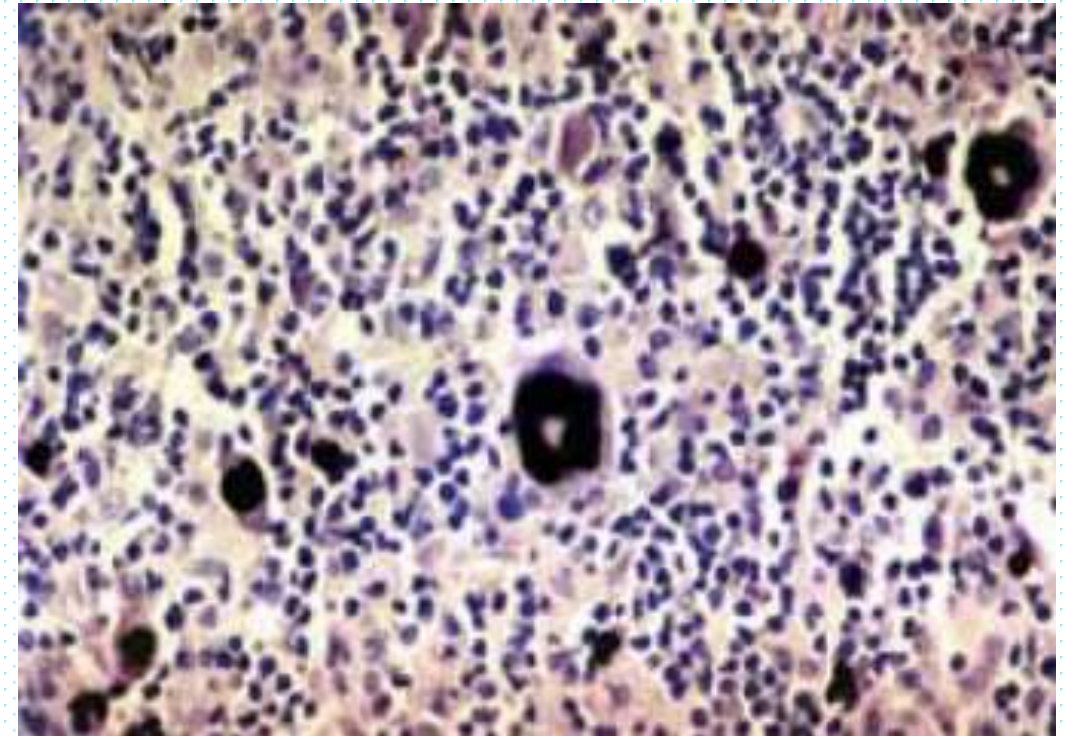
80- 90 % των ασθενών επιτυγχάνουν μόνιμη ύφεση και θεωρούνται θεραπευμένοι.

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ – ΜΑΚΡΟΠΡΟΘΕΣΜΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ – ΕΠΙΒΙΩΣΗ

- ✓ Η παρακολούθηση των ασθενών πρέπει να είναι τακτική για να ανιχνεύονται τυχόν υποτροπές της νόσου και απώτερες επιπλοκές σχετιζόμενες με τη θεραπεία
 - ✓ Λήψη ιατρικού ιστορικού, κλινική εξέταση και εργαστηριακός έλεγχος κάθε 3 μήνες για τους πρώτους 6 μήνες, κάθε 6 μήνες μέχρι το 4ο έτος και κάθε 1 έτος εν συνεχεία
 - ✓ Η θυρεοειδική λειτουργία εκτίμηση ανά έτος αν είχε γίνει ακτινοβολήση του τραχήλου
 - ✓ Έλεγχος επιπέδων τεστοστερόνης και οιστρογόνων ειδικά σε νεότερους ασθενείς που είχαν λάβει εντατική χημειοθεραπεία
 - ✓ Έλεγχος για άλλους καρκίνους τακτικά μετά από θεραπεία για λέμφωμα Hodgkin
-
- ✓ Γυναίκες ασθενείς ≤ 40 ετών όταν ακτινοβολήθηκαν στο θώρακα ή στις μασχάλες → μαστογραφία ανά έτος αρχίζοντας 8-10 έτη μετά την ακτινοθεραπεία
 - ✓ Γυναίκες ασθενείς ≤ 30 ετών: μαστογραφία σε μαγνητική τομογραφία μαστών

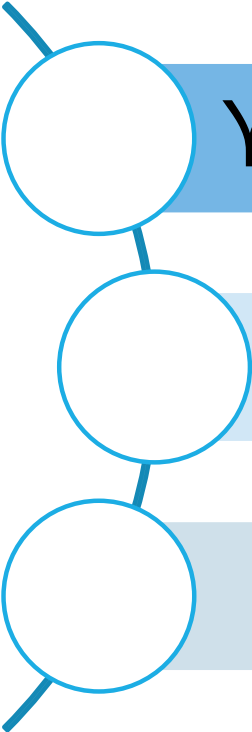
ΚΛΑΣΙΚΟ ΛΕΜΦΩΜΑ HODGKIN ΚΑΙ EBV

- Στο 30-40% των περιπτώσεων κλασικού λεμφώματος Hodgkin, τα HRS κύτταρα μολύνονται από τον ιό Epstein-Barr (EBV), γεγονός το οποίο ενδέχεται να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεση των περιπτώσεων που σχετίζονται με EBV



ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΣΚΕΛΟΣ





ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ

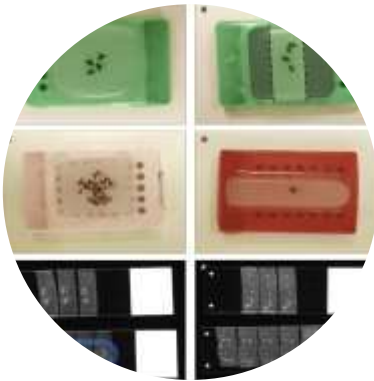
Μονοκεντρική αναδρομική μελέτη κοόρτης: 59 ασθενείς με νέα διάγνωση κλασικού λεμφώματος Hodgkin (48 με οζώδη σκλήρυνση και 11 με μικτή κυτταροβρίθεια) που αντιμετωπίστηκαν στην Αιματολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων μεταξύ 1999 και 2019

Έγινε καταγραφή των χαρακτηριστικών και των κλινικών δεδομένων των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων των στοιχείων της νόσου, των εργαστηριακών τιμών, της απόκρισης στη θεραπεία και της κλινικής έκβασης

Δείγματα ιστών των ασθενών συνελέγησαν από τα αρχεία του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων

ΜΕΘΟΔΟΙ

Πρωτόκολλο SenTraGor™ για ανοσοϊστοχημεία



Βιολογικό υλικό: καθηλωμένα σε φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε παραφίνη (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) ιστικά δείγματα ασθενών με κλασικό λέμφωμα Hodgkin (οζώδης σκλήρυνση, μικτή κυτταροβρίθεια)



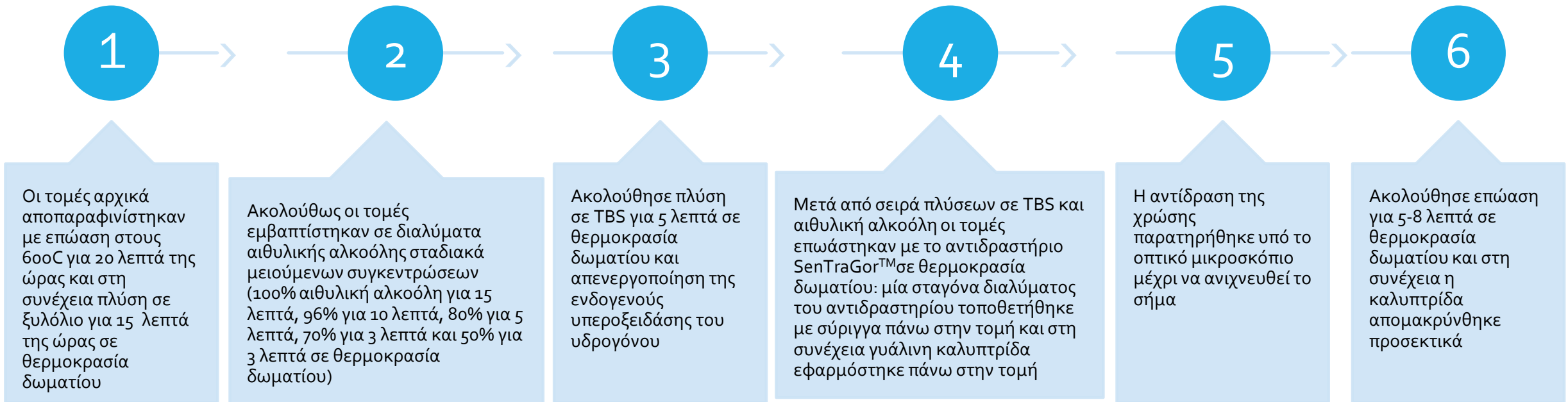
Λεπτές τομές (4 μm) κόπηκαν από τους ιστούς αυτούς και ετέθησαν σε θετικά φορτισμένες γυάλινες επιφάνειες οι οποίες επωάστηκαν στους 37°C καθόλη τη διάρκεια της νύχτας και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ SENTRAGOR™

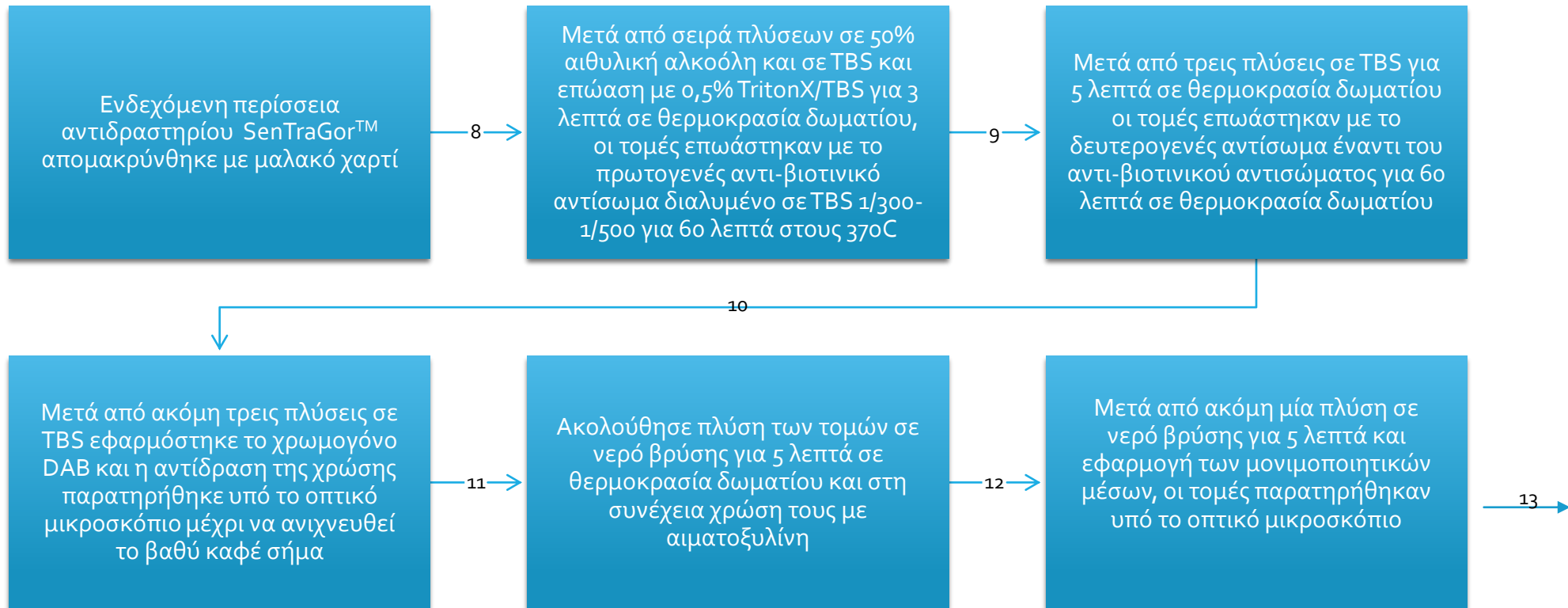
Προετοιμασία του διαλύματος
του αντιδραστήριου
SenTraGor™

- Συγκεκριμένος όγκος 100% αιθυλικής αλκοόλης προστέθηκε στο φιαλίδιο με το αντιδραστήριο: 3,5-3,75 mL στο φιαλίδιο των 20 mg, 7-7,5 mL στο φιαλίδιο των 40 mg, 14-15 mL στο φιαλίδιο των 80 mg
- Τα φιαλίδια επωάστηκαν σε υδατόλουτρο στους 56°C για 120 λεπτά μέχρι το αντιδραστήριο να διαλυθεί πλήρως & αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ SENTRAGOR™



ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ SENTRAGOR™



ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ SENTRAGOR™

Τομές από ιστούς θύμου αδένος χρησιμοποιήθηκαν ως θετικοί μάρτυρες

14

Αντισώματα έναντι των πρωτεϊνών p16 και Ki67 χρησιμοποιήθηκαν με ανοσοϊστοχημεία και κύτταρα του αντιδραστικού μικροπεριβάλλοντος χρησιμοποιήθηκαν ως εσωτερικοί θετικοί μάρτυρες

15

Σε όλα τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν επίσης αρνητικοί μάρτυρες

16

Ο EBER1/2 in situ υβριδισμός για την ανίχνευση EBV χρησιμοποιήθηκε σύμφωνα με πρότυπες διαδικασίες

17

Διπλή ανοσοϊστοχημική χρώση για ταυτόχρονη ανίχνευση p16 και Ki67 εφαρμόστηκε σύμφωνα με προηγούμενη περιγραφή

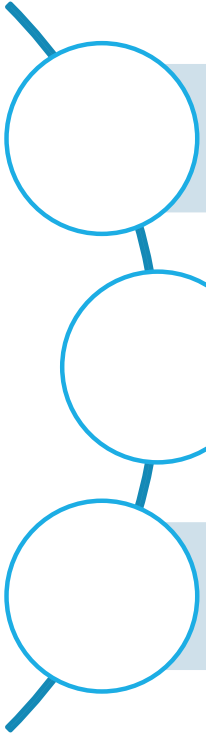
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Χρήση του λογισμικού StatView

- Δοκιμασία χ^2 → εξέταση σχέσης μεταξύ δύο ομάδων διακριτών μεταβλητών
- Ανάλυση διακύμανσης και δοκιμασία Mann-Whitney U: διερεύνηση της σχέσης μεταξύ μίας διακριτής και μίας συνεχούς μεταβλητής
- Συντελεστές συσχέτισης Pearson και Spearman: διερεύνηση της σχέσης μεταξύ δύο ομάδων συνεχών μεταβλητών
- Οι παράμετροι αναλύθηκαν τόσο ως συνεχείς όσο και ως διακριτές μεταβλητές χρησιμοποιώντας τη μέση τιμή τους ως κατώφλι

Πιθανότητα επιβίωσης: εκτιμήθηκε με ανάλυση Kaplan-Meier

Τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε ως σημαντική



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Φύλο	Άντρες: 32
	Γυναίκες: 27
Ηλικία (έτη)	Διάμεση τιμή: 48 ± 19,9
	Μέση τιμή: 47
	Εύρος: 16-90
<u>Κατάσταση ικανότητας</u>	
0-1	52 (88%)
≥ 2	7 (12%)
<u>Ταξινόμηση Lugano</u>	
Προχωρημένο στάδιο	38 (64%)
Περιορισμένο στάδιο	17 (29%)
Στάδιο II ογκώδης νόσος	4 (7%)
B-συμπτώματα	31 (52%)
Προσβολή πνεύμονα	9 (15%)
Προσβολή ήπατος	6 (10%)
Προσβολή σπλήνα	19 (32%)
<u>Μεσοθωρακική μάζα</u>	21 (35%)

Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Στο 49% των περιπτώσεων (29 από 59) ανιχνεύθηκε θετικότητα για p16 ανοσοχρώση σε ποικίλα ποσοστά των HRS κυττάρων (5-90%)

Χρησιμοποιώντας ως cut-off τη μέση χρώση στα HRS κύτταρα υψηλή έκφραση p16 παρατηρήθηκε στις 19 από τις 59 περιπτώσεις

Μόνο λίγα κύτταρα (<5%) του αντιδραστικού κυτταρικού υποστρώματος ήταν p16 θετικά σε όλες τις περιπτώσεις

Η διπλή ανοσοιστοχημική χρώση με p16 και Ki67 ανέδειξε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των p16 θετικών κυττάρων ήταν Ki67 αρνητικά

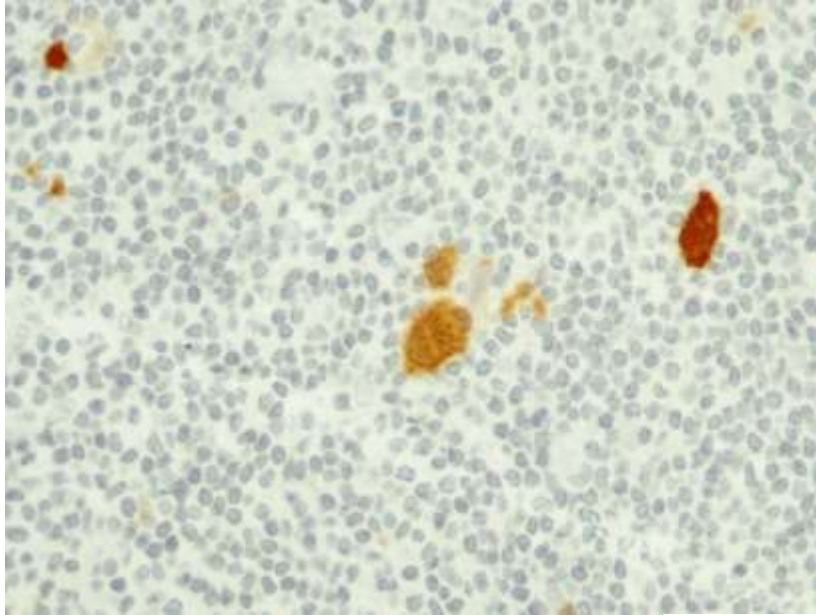
ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Στο 14% των περιπτώσεων (8 από 52) ανιχνεύθηκε θετικότητα για τη χρώση SenTraGor™ σε ποσοστά HRS κυττάρων κυμαινόμενα μεταξύ 5% και 20%

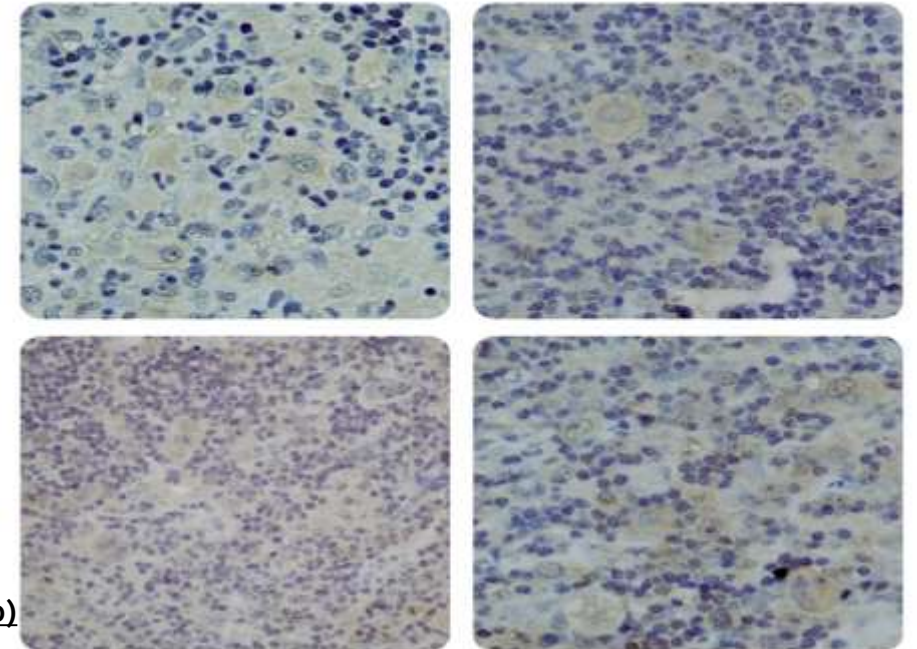
Σε 3 περιπτώσεις <10% των HRS κυττάρων ήταν SenTraGor™ θετικά και στις υπόλοιπες 5 περιπτώσεις 10-20% των HRS κυττάρων επέδειξαν θετικότητα για τη χρώση

Σε καμία περίπτωση δεν παρατηρήθηκε SenTraGor™ θετικότητα σε κύτταρα του αντιδραστικού υποστρώματος

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ



p16 ανοσοχρώση σε HRS κύτταρα (μεγέθυνση x 600)



SenTraGor™ χρώσεις σε HRS κύτταρα (μεγεθύνσεις x 400, x 600)

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

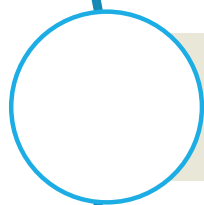
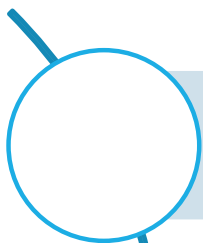
<u>SenTraGor™</u>	p16	Αριθμός περιπτώσεων
+(10-20%)	+	3
+(10-20%)	-	2
+($<10\%$)	+	1
+($<10\%$)	-	2
-	+	20
-	-	24
Σύνολο 8 θετικές περιπτώσεις	Σύνολο 24 θετικές περιπτώσεις	Σύνολο 52 περιπτώσεις

Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική
συσχέτιση μεταξύ της SenTraGor™
θετικότητας ή αρνητικότητας και
του προτύπου της χρώσης p16

EBV

Έκφραση EBER_{1/2}
μεταγράφων παρατηρήθηκε
στο 27% των περιπτώσεων
(στις 14 από τις 52) σε
ποικίλα ποσοστά HRS
κυττάρων

Δεν βρέθηκε στατιστικά
σημαντική συσχέτιση
μεταξύ της EBV θετικότητας
ή αρνητικότητας και των
χρώσεων p16 ή SenTraGor™



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα έρευνα SenTraGor™ θετικά και p16 θετικά HRS κύτταρα παρατηρήθηκαν στο 14% και στο 49% των περιπτώσεων κλασικού λεμφώματος Hodgkin που μελετήθηκαν, αντίστοιχα

Το εύρημα: σε συμφωνία με αντίστοιχα προηγούμενων μελετών



Σε μία εξ αυτών είχαν αναδειχθεί γηρασμένα HRS κύτταρα με ταυτόχρονη ύπαρξη κυτταροπλασματικής SenTraGor™ αντίδρασης και πυρηνικής θετικότητας για p21 ή p16. Στην ίδια έρευνα είχε φανεί αλληλοαποκλεισμός μεταξύ κυτταροπλασματικής SenTraGor™ αντίδρασης και του δείκτη Ki67

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της p16 ή της SenTraGor™ χρώσης και κλινικών παραμέτρων στο κλασικό λέμφωμα Hodgkin

Ωστόσο, σε προγενέστερες έρευνες είχε φανεί ότι η ανίχνευση γηρασμένων HRS κυττάρων ενδέχεται να έχει κλινικό αντίκτυπο

A) σε μία από αυτές τις μελέτες, θετική ανοσοχρώση για p16 ή p21 σε >30% των HRS κυττάρων είχε συνδεθεί με στατιστικά σημαντική πρόβλεψη για βελτίωση της επιβίωσης χωρίς συμβάματα (event-free survival, EFS)

B) Σε άλλη μελέτη η ανίχνευση SenTraGor™ θετικών HRS κυττάρων σε ποσοστό >10% είχε συσχετισθεί με μη ικανοποιητική απόκριση τόσο στην 1^η γραμμή θεραπείας όσο και στη θεραπεία διάσωσης



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η κυτταρική γήρανση έχει συσχετισθεί με διάφορες νόσους

Τα Reed-Sternberg κύτταρα σε δείγματα ασθενών με κλασικό λέμφωμα Hodgkin έχουν χαρακτηριστικά γηρασμένων κυττάρων

Η ουσία SenTraGor™ παρέχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των άλλων μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση γηρασμένων κυττάρων, καθώς είναι ευαίσθητη, ειδική και ευρέως εφαρμόσιμη σε οποιοδήποτε βιολογικό υλικό (και σε αρχειακό)

Στην παρούσα έρευνα δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της SenTraGor™ χρώσης και κλινικών παραμέτρων στο κλασικό λέμφωμα Hodgkin, σε προγενέστερες έρευνες ωστόσο έχει βρεθεί



ΣΑΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ!!!!