

10 let laboratorija za slikovno citometrijo

Margareta Strojan Fležar

Med novimi kvantitativnimi metodami, s katerimi so znanstveniki in zdravniki želeli doseči natančnejšo opredelitev bolezenskih procesov, zlasti v onkologiji, se je v osemdesetih letih prejšnjega stoletja najprej uveljavila pretočna citometrija. Omogočila je hitro merjenje in analizo količine DNA na velikem številu preiskovanih celic v celični suspenziji. S pospešenim razvojem računalniške tehnologije pa so na trg prihajali tudi tehnološko izboljšani slikovni citometri, ki so prav tako omogočali hitro analizo velikega števila celic (fiksiranih na objektnem stekelcu), zaradi česar so postali zanimivi za raziskovalce, saj so poleg analize DNA omogočali tudi analizo drugih jedrnih značilnosti, zlasti analizo strukture in organizacije jedrnega kromatina na podlagi obdelave jedrnih oz. celičnih slik.

V začetku devetdesetih let je prof. dr. Marija Us-Krašovec takratnemu Ministrstvu za znanost in tehnologijo posredovala predlog za ustanovitev Centra za analitične in kvantitativne raziskave humanih tumorjev, ki sta ga pred tem podprla direktor in Raziskovalno-izobraževalni kolegij Onkološkega inštituta. Center naj bi imel sedež na Onkološkem inštitutu, strokovno in infrastrukturno jedro pa naj bi bila z oddelka za citopatologijo in patologijo. S sodobnimi metodami pretočne in slikovne citometrije, imunocitokemijo oz. imunohistokemijo in genetiko naj bi odkrivali nove značilnosti tumorskih celic. Takšne analize bi omogočile natančnejšo opredelitev patoloških procesov in postavitev objektivnih meril za razvrstitev, opredeljevanje jedrne stopnje malignosti in prognostično oceno agresivnosti malignih neoplazem. Na oddelku za citopatologijo sta takrat že delovala dva pretočna citometra (prvi od leta 1988, drugi od leta 1991), v postopku pa je bila nabava slikovnega citometra. Predviden je bil tudi nakup opreme za molekularnogenetske študije. Center za analitične in kvantitativne raziskave humanih tumorjev sicer ni nikoli formalno in celostno zaživel, predlagane raziskave pa so kljub temu potekale od začetka devetdesetih let; kupljena je bila potrebna oprema in zaposleni so bili novi mladi raziskovalci.

V septembru 1993 smo dobili težko pričakovani slikovni citometer Cyto-Savant™, ki je bil eden najmodernejših slikovnih citometrov in je omogočal podrobno analizo jedrnega kromatina in ne le običajno analizo količine DNA ali morfometričnih jedrnih značilnk. Nakup

naprave so finančno omogočili Ministrstvo za znanost in tehnologijo, Open Society Fund, British Columbia Cancer Agency, podjetje Xillix Techn. Inc. (t. i. "transfer technology company" BC Cancer Agency) ter prof. Branko Palčič osebno. Pridobitev naprave je bila plod dolgoletnega sodelovanja prof. Marije Us-Krašovec in prof. Marije Auersperg s prof. Brankom Palčičem, takratnim vodjem oddelka Cancer imaging pri British Columbia Cancer Agency, kjer so slikovni citometer v celoti razvili. Naprava v tistem času še ni bila v prosti prodaji, zato je bila njena pridobitev veliko priznanje slovenskim strokovnjakom; bila je ena prvih tovrstnih sodobnih slikovnih citometrov v Evropi in v svetu. Slovesni predstavitvi slikovnega citometra, ki je potekala 21. 9. 1993, je bil pridružen krajši strokovni del s predavanji prof. Palčiča in dr. Husaina o slikovni citometriji.

V začetnem obdobju dela z novim slikovnim citometrom sva se kot mladi raziskovalki pod vodstvom mentorice prof. Usove, Breda Škrbinc, dr. med., in Margareta Strojan Fležar, dr. med., srečevali s številnimi težavami, povezanimi s strojno in programsko opremo, saj je bila naprava prototip. Vzpostaviti smo morali ustrezne metode za pripravo vzorcev za slikovnocitometrične analize, optimizirati občutljiv postopek barvanja in ugotoviti primeren način za kontrolo kakovosti barvanja.

V naslednjih letih so potekali številni projekti na področju slikovne citometrije, analizirali smo DNA ploidijo in jedrne značilke različnih neoplazem (karcinomi grla, dojke, jajčnikov, pljuč, sinovijski sarkomi, rabdomiosarkomi) ter preneoplastičnih sprememb (maternični vrat). Ukvarjali smo se tudi z analizo granulosa celic iz foliklov jajčnikov. Razvili smo izvirno programsko opremo za analizo in predstavitev jedrnih značilnk, ki smo jo najprej uporabili za prikaz celic v različnih fazah celičnega cikla. V l. 1996 je prof. Usova pripravila program raziskovanja subtilnih sprememb v strukturi in organizaciji kromatina na normalnih celicah pri bolnikih z rakom (MAC, iz angl. Malignancy associated changes). Ministrstvo za znanost je predlagani projekt podprlo. Izsledki predlagane raziskave bi lahko pripomogli k zgodnjemu odkrivanju raka. Prva ciljna skupina so bili bolniki s pljučnim rakom, pri katerih smo v dveh ločenih raziskavah potrdili prisotnost MAC na njihovi



Slika 1: Slikovni citometer ob otvoritvi leta 1993 iz Monografije ob 55-letnici OI.

bukalni sluznici. V nadaljevanju smo ugotovili, da so podobne MAC-spremembe prisotne tudi na bukalni sluznici pri bolnicah z rakom dojke. Izsledki naših raziskav so vzbudili veliko zanimanje tako pri naših sodelavcih iz Kanade, ki so te raziskave razširili na mednarodni ravni, kakor tudi ocenjevalce prispevkov na 19. evropskem kongresu patologije leta 2003 v Ljubljani. Tu smo za predstavitev te raziskave prejeli eno izmed šestih podeljenih priznanj za najboljše prispevke.

Iz izsledkov raziskav na slikovnem citometru na Onkološkemu inštitutu so bile narejene tri magistrske in štiri doktorske naloge, peti doktorand pa delo končuje. Objavili smo devet strokovnih člankov, štiri celotne referate in 28 povzetkov referatov.

Čeprav smo že krepko zakoračili v drugo desetletje delovanja našega slikovnega citometra, naprava kljub

častitljivi starosti računalniškega sistema še vedno deluje. Pred tremi leti smo jo posodobili, ostaja pa dejstvo, da enakih novih naprav ne izdelujejo več, zato tudi ni več rezervnih delov in od letošnjega leta tudi ne specializiranega servisa. Na trg namreč prihaja nov slikovni citometer, ki je preprostejši in bolj prijazen uporabniku ter – kot obljublja – namenjen predvsem klinični uporabi. Glede na to, da nam je Ministrstvo za šolstvo, znanost in šport odobrilo raziskovalne projekte na področju slikovne citometrije v okviru novih programskih skupin do leta 2009, upamo, da nam bo v letošnjem letu uspelo pridobiti nov izpopolnjen in najmodernejši slikovni citometer, ki bo omogočil nemoteno nadaljevanje začetih raziskav.

