

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

**ΜΠΣ : «ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ:
ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ»**

**ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ
ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΧΑΛΕΠΛΙΔΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ, 2018

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη

**ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΥΓΧΡΟΝΗ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ**

που απονέμει η Ιατρική Σχολή του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΒΑΘΜΙΔΑ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

Α. ΛΑΖΑΡΗΣ (Επιβλέπων)

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

.....

Ν. ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

.....

Ε. ΘΥΜΑΡΑ

ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

.....

Αφιερώνεται στην γυναίκα μου, Εύη, για την αμέριστη υποστήριξη,
συμπαράσταση και κατανόησή της κατά την διάρκεια εκπόνησης αυτής της
εργασίας, αλλά και κατά την καθημερινή μας συμβίωση,
καθώς και στους υιούς μου, Σάββα και Χρυσοβαλάντη, για τα επίσης
καθημερινά, αλλά και πάντα γλυκά, «βάσανα» που μας προκαλούν...

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής και ιδιαίτερα τον Καθηγητή κ. Ανδρέα Λάζαρη για την ευκαιρία που μου έδωσαν με την παρούσα εργασία και για την καθοδήγηση που παρείχαν κατά την διάρκειά της.

Αλλά και γενικότερα το σύνολο των διδασκόντων του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών, μέσω του οποίου μας μεταφέρθηκαν σύγχρονες γνώσεις και εμπειρίες που αφορούν την νεοπλασματική νόσο στον άνθρωπο, απαραίτητες στην καθημερινή ιατρική πρακτική μας.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	- 1 -
ABSTRACT	- 1 -
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	- 3 -
2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	- 4 -
2.1 Η επίπτωση και η θνησιμότητα του ορθοκολικού καρκίνου σε παγκόσμιο επίπεδο (γενικά στοιχεία).	- 4 -
2.2 Ηλικία.....	- 4 -
2.3 Γεωγραφική κατανομή	- 5 -
2.4 Διαφοροποιήσεις στην εμφάνιση μεταξύ των διαφόρων πληθυσμιακών ομάδων όπως αυτές επηρεάζονται από τα μοτίβα μετανάστευσης πληθυσμών μεταξύ των χωρών.	- 6 -
2.5 Κοινωνικοί και οικονομικοί παράγοντες.	- 6 -
2.6 Μετάπτωση όσον αφορά στην ανατομική θέση εμφάνισης στο έντερο.. ..	- 7 -
3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ : ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	- 8 -
3.1 Κληρονομούμενη προδιάθεση	- 8 -
3.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες	- 9 -
3.2.1 Συνολική ημερήσια πρόσληψη θερμίδων και παχυσαρκία.....	- 10 -
3.2.2 Κατανάλωση κρέατος, λιπαρών οξέων και πρωτεϊνών	- 10 -
3.2.3 Κατανάλωση καφέ	- 10 -
3.2.4 Δίαιτα υψηλή σε φυτικές ίνες	- 11 -
3.2.5 Φρούτα και λαχανικά	- 11 -
3.2.6 Τρόπος ζωής (άσκηση, αλκοόλ, κάπνισμα).....	- 12 -
3.2.7 Σακχαρώδης Διαβήτης.....	- 12 -
3.2.8 Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ).....	- 13 -
4. ΟΙΚΟΓΕΝΗ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	- 14 -
4.1 Σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης παχέος εντέρου.....	- 14 -
4.2 Κληρονομούμενος μη πολυποδιασικός ορθοκολικός καρκίνος (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC) ή αλλιώς σύνδρομο Lynch.....	- 15 -
4.3 Σύνδρομο με παρουσία αμαρτωματώδους τύπου πολυπόδων	- 18 -
5. ΠΟΛΥΣΤΑΔΙΑΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ	- 22 -

5.1 Γενικά στοιχεία γενετικών διαταραχών στον ορθοκολικό καρκίνο.	- 23 -
6. ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ	- 29 -
6.1 ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ	- 29 -
6.1.1 Το ογκογονίδιο RAS	- 30 -
6.1.2 Η ομάδα των γονιδίων RAF	- 33 -
6.1.3 Το γονίδιο της κινάσης της φωσφατιδυλνινοσιτόλης-3 (PI3KCA).	- 34 -
6.2 ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ	- 34 -
6.2.1 Το γονίδιο APC	- 35 -
6.2.2 Το γονίδιο TP53	- 40 -
6.2.3 Τα γονίδια DCC και SMAD4	- 43 -
6.3 ΓΟΝΙΔΙΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΑΝΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΑΣ ΒΑΣΕΩΝ (MISMATCH REPAIR-MMR GENES)	- 46 -
6.4 ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ MUTYH	- 48 -
6.5 ΓΟΝΙΔΙΑ – ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΕΣ (MODIFIER GENES)	- 48 -
7. ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ (MSI-H έναντι MSI-L)	- 50 -
8. ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗΣ	- 54 -
8.1 The Cancer Genome Atlas (TCGA)	- 54 -
8.2 The Consensus Molecular Subtypes	- 58 -
9. ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΒΑΣΕΙ ΤΩΝ ΠΡΟΣΦΑΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	- 63 -
10. ΕΠΙΛΟΓΟΣ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	- 66 -
11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	- 67 -

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου και του ορθού αποτελεί έναν από τους συχνότερους καρκίνους στον άνθρωπο σε παγκόσμιο επίπεδο, με περισσότερες από ένα εκατομμύριο νεοεμφανιζόμενες περιπτώσεις ανά έτος και χιλιάδες θανάτους αντιστοίχως από αυτόν. Ένα σύνολο παραγόντων, τόσο περιβαλλοντικών όσο και γενετικών, έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση της νόσου, ενώ ένα ποσοστό των περιπτώσεων φαίνεται να εμφανίζεται σε οικογενή βάση. Ήδη από αρκετά χρόνια πριν, αλλά και πιο πρόσφατα, ένα σύνολο από μελέτες προσπαθούν να αναλύσουν το μοριακό υπόβαθρο της νόσου και να περιγράψουν τους μηχανισμούς καρκινογένεσης στο παχύ έντερο. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δείχνουν ότι η νόσος που ονομάζουμε «ορθοκολικός καρκίνος» τελικά δεν είναι μια ενιαία οντότητα, αλλά εμφανίζει διαφορετικά πρόσωπα και υπότυπους, με αναλόγως διαφορετικές προεκτάσεις ως προς την πρόγνωση και την θεραπευτική τους αντιμετώπιση. Στις μέρες μας, υπάρχουν αρκετές πληροφορίες που αφορούν στο μοντέλο της ορθοκολικής καρκινογένεσης, και παρόλο που αυτό δεν έχει ακόμα πλήρως διαλευκανθεί, δύναται να αποτελέσει, σε συνδυασμό και με την συχνότητα εμφάνισης της νόσου και την ευκολία πρόσβασης και πρόληψης των προδιηθητικών αλλοιώσεων στο παχύ έντερο, έναν οδηγό για την κατανόηση της παθογένειας και άλλων μορφών καρκίνου στον άνθρωπο.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is one of the most frequent human cancers globally, accounting for more than a million new cases annually and thousands of deaths per year. A set of factors, both environmental and genetic, has been incriminated for the appearance of the disease, and a proportion of cases seems to have a familial basis. Since several years ago and until recently, there are numerous studies that try to analyze the molecular background of this disease and to describe the mechanisms of carcinogenesis in the colon. The results highlight that the disease we call “colorectal cancer” is not a single entity, but it shows different faces and subtypes, with analogous extensions regarding their prognosis and treatment. Nowadays, there are many insights regarding

the model of colorectal carcinogenesis, and although there are still things which remain to be clarified, this model can become, in conjunction with the frequency of the disease and the ease of access and prevention of the premalignant lesions of the colon, a “roadmap” for understanding the pathogenesis of other forms of human cancer as well.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ορθοκολικός καρκίνος (CRC) είναι μία από τις πιο συχνές μορφές καρκίνου τόσο στους άνδρες (μαζί με τους καρκίνους του πνεύμονα, του προστάτη και του στομάχου) όσο και στις γυναίκες (μαζί με τους καρκίνους του πνεύμονα, του μαστού και του τραχήλου της μήτρας), αντιπροσωπεύοντας συνολικά περίπου 700.000 θανάτους ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο (Global Burden of Disease Cancer Collaboration, 2015).

Το αθροιστικό ρίσκο ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου κατά την διάρκεια της ζωής ενός μέσου ατόμου στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι περίπου 6% και αυξάνει περίπου σε τετραπλάσιο ποσοστό σε άτομα με οικογενειακό ιστορικό ορθοκολικού καρκίνου. Λιγότερες από το 5% των περιπτώσεων ωστόσο προκύπτει σε ασθενείς με σύνδρομο κληρονομικής προδιάθεσης. Οι περισσότερες περιπτώσεις ορθοκολικού καρκίνου θεωρούνται επομένως σποραδικές, αν και ένα ποσοστό 20% έως 30% των περιπτώσεων μπορεί να υπάρχει οικογενής βάση, παρά την απουσία κάποιου πλήρως αποσαφηνισμένου γενετικού ελαττώματος, με πρόσφατες γονιδιακές μελέτες να αποκαλύπτουν αρκετά αλληλόμορφα γονίδια που αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου.

Χαρακτηριστικές σωματικές μεταλλάξεις, ελαττώματα στην διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA, η λεγόμενη χρωμοσωμική αστάθεια και επιγενετικές μεταβολές υποβοηθούν στην προώθηση της νόσου. Αρκετές αναγνωρισμένες προδιαθεσικές καταστάσεις και σωματικές μεταλλάξεις βοηθούν στην εις βάθος κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που προκαλούν την εμφάνιση του ορθοκολικού καρκίνου και μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρότυπο για τη γενετική βάση και άλλων μορφών καρκίνου σε άλλα όργανα.

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση των σύγχρονων δεδομένων που αφορούν στον ορθοκολικό καρκίνο δίνοντας έμφαση στους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία του και στις πρόσφατες προσπάθειες ταξινόμησής του σε μοριακούς υπότυπους, με τελικό σκοπό την καλύτερη κατανόηση της παθογένειάς του και την βέλτιστη θεραπευτική αντιμετώπιση του κάθε ασθενούς στα πλαίσια της όσο το δυνατόν εξατομικευμένης αντιμετώπισής της νόσου του.

2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

2.1 Η επίπτωση και η θνησιμότητα του ορθοκολικού καρκίνου σε παγκόσμιο επίπεδο (γενικά στοιχεία).

Περίπου 1.200.000 νέες περιπτώσεις ορθοκολικού καρκίνου πιστεύεται ότι διαγιγνώσκονται ετησίως, αριθμός που αντιπροσωπεύει περίπου το 10% όλων των περιστατικών καρκίνων, ενώ η θνησιμότητα από την νόσο εκτιμάται σε σχεδόν 700,000 περιπτώσεις αντιστοίχως. (Jemal A, Center MM, DeSantis C, et al.,2010) Τα σχετικά στοιχεία για τις Ηνωμένες Πολιτείες το έτος 2010, αναφέρουν εκτιμώμενες 141,570 νέες περιπτώσεις της νόσου και 51,370 θανάτους από αυτήν, οπότε αντιστοίχως ο ορθοκολικός καρκίνος αντιπροσωπεύει σχεδόν το 10% της θνησιμότητας από τον καρκίνο και στις Ηνωμένες Πολιτείες.(Jemal A, Siegel R, Xu J, et al.,2010) Εκτιμήσεις σχετικά με τον επιπολασμό της νόσου αποκαλύπτουν ότι σε άτομα ηλικίας 50 ετών ή μεγαλύτερης ηλικίας, χωρίς οικογενειακό ιστορικό, υπάρχει μια πιθανότητα 0,5% έως 2.0% να πάσχουν από διηθητικό καρκίνο, 1.0% έως 1,6% αφορά σε πιθανότητα να έχουν ένα in situ καρκίνωμα, 7% έως 10% πιθανότητα ενός μεγάλου (≥ 1 cm) αδενώματος, και μια πιθανότητα 25% έως 40% ενός αδενώματος οποιουδήποτε μεγέθους.(Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, et al., 2000)

Στις επόμενες παραγράφους θα γίνει μια προσπάθεια σύντομης αναφοράς των σημαντικότερων επιμέρους αιτιολογικών παραγόντων και της σχετικής επίδρασης που φαίνεται να έχουν αυτοί στην εμφάνιση της νόσου.

2.2 Ηλικία

Η ηλικία επηρεάζει την εμφάνιση του ορθοκολικού καρκίνου με συχνότητα μεγαλύτερη από οποιοδήποτε άλλο δημογραφικό παράγοντα. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί ότι οι σποραδικές περιπτώσεις ορθοκολικού καρκίνου αυξάνουν δραματικά πάνω από την ηλικία των 45 έως 50 ετών για όλες τις ομάδες. Σε όλες σχεδόν τις χώρες, τα τυποποιημένα ποσοστά ανά ηλικία (age-standardized) είναι μικρότερα στις γυναίκες από ό, τι για τους άνδρες. Αν και η επίπτωση της νόσου μειώθηκε σταθερά τις Ηνωμένες Πολιτείες και τον Καναδά, η συχνότητα εμφάνισης αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς στην Ιαπωνία, την Κορέα και την Κίνα(Jemal A, Center MM, DeSantis C, et al.,2010). Στις Ηνωμένες

Πολιτείες από 2002 έως 2006, τα τυποποιημένα ποσοστά ανά ηλικία ανά 100.000 πληθυσμού ήταν 59,0 για τους άνδρες και 43,6 για τις γυναίκες όταν συνδυάζονται για όλα τα φύλα (Καυκάσιοι, Ασιάτες, κλπ.) – (Jemal A, Siegel R, Xu J, et al.,2010)

Σημειώνεται ωστόσο ότι, ενώ η συχνότητα εμφάνισης της νόσου στις Ηνωμένες Πολιτείες έχει μειωθεί συνολικά, πιθανώς λόγω της επιθετικής διαλογής του πληθυσμού άνω των 50 ετών, έχει υπάρξει μια δραματική αύξηση σε νεότερους ασθενείς. Μια νέα μελέτη με τη χρήση δεδομένων από το πρόγραμμα επιδημιολογικής επιτήρησης και τελικών αποτελεσμάτων (SEER) αναφέρει μια αύξηση των κρουσμάτων τα τελευταία 20 χρόνια σε ασθενείς ηλικίας 20 έως 49. Η πιο έντονη αύξηση ήταν στην ομάδα ηλικίας 40 έως 44 όπου τα κρούσματα παχέος εντέρου και ορθού αυξήθηκαν κατά 56% και 94%, αντίστοιχα. Με βάση αυτά τα ευρήματα και το γεγονός ότι ο ορθοκολικός καρκίνος σε νεότερους ασθενείς τείνει να είναι πιο εκτεταμένος, οι ειδικοί συνιστούν την μείωση του μέσου ορίου ηλικίας για τη διαλογή πιθανών ασθενών κατά 10 χρόνια (έναρξη εξετάσεων επιτήρησης-screening από την ηλικία των 40 ετών) – (Davis DM, Marcet JE, Frattini JC, et al.,2011 και Lee PY, Fletcher WS, Sullivan ES, et al.,1994).

2.3 Γεωγραφική κατανομή

Το ποσοστό επίπτωσης για τους ντόπιους κατοίκους της Αλάσκα ξεπερνάει τους 70 κατοίκους ανά 100000 πληθυσμού, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό σε χώρες της Αφρικής, όπως η Γκάμπια και η Αλγερία είναι λιγότερο από 2 κατοίκους σε ανάλογο πληθυσμό (Parkin DM, Pisani P, Ferlay J.,1999). Σε γενικές γραμμές, τα ποσοστά επίπτωσης και θνησιμότητας είναι μεγαλύτερα σε χώρες του Δυτικού κόσμου, όπως αναφέρεται και σε μεγάλες βάσεις δεδομένων, πχ σε αυτήν του Εθνικού Ινστιτούτου για τον Καρκίνο των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (<https://www.cancer.gov/>). Στην τελευταία, επίσης, φαίνεται ότι υπάρχει μία σχετική μείωση τόσο στην επίπτωση, όσο και στην θνησιμότητα από την νόσο, όσο τουλάχιστον αφορά τις ΗΠΑ, ενώ και η πενταετής επιβίωση επίσης έχει αυξηθεί. Μάλιστα αυτές οι τάσεις είναι εμφανείς ανεξαρτήτως φύλου ή εθνικής καταγωγής και οφείλονται μεταξύ άλλων, σε αλλαγές (προς το καλύτερο) του τρόπου ζωής και στις συνήθειες φαγητού, σε χρήση (χημειο)προστατευτικών ουσιών, αλλά κυρίως στην διάδοση της

κολονοσκόπησης και της ταυτόχρονης πολυποειδεκτομής πιθανών ανευρεθέντων πολυπόδων παχέος εντέρου μέσω αυτής, με την τελευταία να αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο παράγοντα σε ορισμένες περιοχές, κυρίως στον Δυτικό κόσμο, την Ιαπωνία και αλλού (Nelson RL, Persky V, Turyk M., 1999).

2.4 Διαφοροποιήσεις στην εμφάνιση μεταξύ των διαφόρων πληθυσμιακών ομάδων όπως αυτές επηρεάζονται από τα μοτίβα μετανάστευσης πληθυσμών μεταξύ των χωρών.

Διάφορες μελέτες από τα παλαιότερα ακόμα χρόνια έχουν αναδείξει ένα αρκετά ενδιαφέρον εύρημα και συγκεκριμένα ότι μετανάστες από περιοχές με χαμηλή επίπτωση του ορθοκολικού καρκίνου σε περιοχές με υψηλότερη επίπτωση επηρεάζονται με τον καιρό και εμφανίζουν αντίστοιχα ποσοστά με αυτά της χώρας υποδοχής τους το πολύ μέσα σε μια γενεά. Για παράδειγμα, μετανάστες από την Κίνα και άλλες χώρες της Ασίας προς τις ΗΠΑ, εμφανίζουν σταδιακά αυξημένα ποσοστά εμφάνισης της νόσου σε σχέση με τους κατοίκους των χωρών προέλευσής τους, γεγονός που αποδίδεται κυρίως στην συχνότερη κατανάλωση κόκκινου κρέατος και στην μειωμένη φυσική δραστηριότητα (Whittemore AS, Wu-Williams AH, Lee M, et al.,1990 και McMichael AJ, Giles GG.,1988). Αυτές οι μελέτες δείχνουν με αυτό τον τρόπο την σημασία των περιβαλλοντικών παραγόντων και ταυτόχρονα προτείνουν την βελτίωση του καθημερινού τρόπου ζωής και των διατροφικών συνηθειών ως ένα μέσο πρόληψης εμφάνισης της νόσου.

2.5 Κοινωνικοί και οικονομικοί παράγοντες.

Γενικά, τα ποσοστά επίπτωσης και θνησιμότητας του ορθοκολικού καρκίνου είναι υψηλότερα στις οικονομικά αναπτυγμένες χώρες, γεγονός που προφανώς οφείλεται στην αυξημένη κατανάλωση λίπους και κόκκινου κρέατος, στην έλλειψη φυσικής άσκησης με επακόλουθο την εμφάνιση παχυσαρκίας, αλλά και στην εν γένει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής των κατοίκων των χωρών αυτών, λόγω των καλύτερων συνθηκών υγιεινής (μικρότερη περιγεννητική νοσηρότητα, λιγότεροι θάνατοι από λοιμώδη νοσήματα κλπ., άρα και μεγαλύτερη χρονικά διάρκεια επίδρασης των διαφόρων βλαπτικών

παραγόντων που προκαλούν την σταδιακή εμφάνιση της νόσου σε βάθος χρόνου) - (Landis SH, Murray T, Bolden S, et al.,1998 και Wilmink AB.,1997).

2.6 Μετάπτωση όσον αφορά στην ανατομική θέση εμφάνισης στο έντερο.

Κλασικά, υπήρχε η πεποίθηση ότι ο καρκίνος του παχέος εντέρου αφορά το αριστερό – άπω τμήμα του οργάνου (κυρίως κατión, σιγμοειδές κόλον και ορθό), εντούτοις τα τελευταία χρόνια, και ιδίως στην Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη, αλλά και σε κάποιες Ασιατικές χώρες, έχει αυξηθεί το σχετικό ποσοστό εμφάνισης του παχυεντερικού καρκινώματος σε θέσεις του δεξιού – εγγύς τμήματός του (τυφλό, ανιόν κόλον και εγκάρσιο) - (Obrand DI, Gordon PH.,1998 και Kemppainen M, Raiha I, Sourander L.,1997). Αυτή η ανατομική μετάπτωση είναι το πιθανότερο πολυπαραγοντική και οφείλεται στην αυξημένη διάρκεια ζωής σε σχέση και με την επίδραση διαφόρων περιβαλλοντικών προ-καρκινογόνων και καρκινογόνων ουσιών στα διάφορα τμήματα του παχυεντερικού σωλήνα, αλλά και σε γενετικούς παράγοντες, οι οποίοι είτε αφορούν σε διαταραχές των λεγόμενων γονιδίων επιδιόρθωσης του DNA με επακόλουθο την ανάπτυξη μικροδορυφορικής αστάθειας (microsatellite instability – MSI) κυρίως στους όγκους του δεξιού – εγγύς τμήματος, είτε σχετίζονται με χρωμοσωμική αστάθεια, η τελευταία με μεγαλύτερη συχνότητα στους όγκους του αριστερού – άπω τμήματος του παχέος εντέρου και σε αυτούς του ορθού.

Αυτή η παρατήρηση της σχετικής μετάπτωσης της ανατομικής θέσης εμφάνισης των όγκων του παχυεντερικού σωλήνα αναγκαστικά θα επηρεάσει σημαντικά στον έλεγχο των προληπτικών, ενδοσκοπικών διαδικασιών πρόληψης της νόσου, στην απάντηση στους χημειοπροστατευτικούς και χημειοθεραπευτικούς παράγοντες και τελικώς στην σχετική με την νόσο (disease – specific) συνολική επιβίωση (Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, et al.,1998 και Fink D, Nebel S, Norris PS, et al., 1998).

3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ : ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

3.1 Κληρονομούμενη προδιάθεση

Το οικογενειακό ιστορικό κάθε ατόμου προσδίδει αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ορθοκολικού καρκινώματος κατά την διάρκεια της ζωής του, αλλά αυτός ο πιθανώς αυξημένος κίνδυνος ποικίλλει ανάλογα με τη φύση του οικογενειακού ιστορικού. Οι οικογενειακοί παράγοντες συμβάλλουν σημαντικά στον κίνδυνο εμφάνισης σποραδικού καρκίνου, ανάλογα με την παρουσία της νόσου σε συγγενείς πρώτου ή δευτέρου βαθμού και την ηλικία έναρξής της σε αυτούς. Η εμφάνιση της νόσου σε τουλάχιστον έναν πρώτου βαθμού συγγενή υπολογίζεται ότι διπλασιάζει τον κίνδυνο της νόσου στο κάθε άτομο, ενώ υπάρχει περαιτέρω ενίσχυση του κινδύνου αυτού όταν ο εν λόγω συγγενής εμφάνισε τον καρκίνο πριν από την ηλικία των 60 ετών (Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al.,1994). Αναλόγως, η πιθανότητα παρουσίας προκακοήθων αδενωμάτων ή / και διηθητικού καρκίνου του παχέος εντέρου αυξάνεται σε συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών διαγνωσμένων με ορθοκολικό καρκίνωμα. Συγκεκριμένα, αρκετές μελέτες αποκαλύπτουν ότι ο σχετικός κίνδυνος (Relative Risk - RR) για τους γονείς και τους αδελφούς των ασθενών με αδενώματα (συγγενείς πρώτου βαθμού) σε σύγκριση με τους μάρτυρες είναι 1,8, ενώ αυτός αυξάνει σε 2,6 εάν η ανίχνευση ενός αδενώματος γίνεται σε ηλικία νεότερη από αυτήν των 60 ετών. (Guillem JG, Forde KA, Treat MR, et al.,1992 και Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al.,1996)

Πληθυσμιακές μελέτες υποδηλώνουν μια επικρατητικού τύπου (dominant) κληρονομική προδιάθεση σε αδενώματα και καρκίνο του παχέος εντέρου, η οποία φαίνεται να αντιπροσωπεύει την πλειοψηφία των σποραδικών περιπτώσεων της νόσου, αλλά αυτή μπορεί να επηρεάζεται με βάση και τον βαθμό έκθεσης του ατόμου σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (Ponz de Leon M, Scapoli C, Zanghieri G, et al.,1992). Ως προς το ερώτημα ποιοι είναι αυτοί οι πιθανοί γενετικοί παράγοντες ευαισθησίας, τελική και πλήρης απάντηση δεν έχει ακόμη προκύψει. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι ορισμένοι γενετικοί πολυμορφισμοί μπορεί είναι υψίστης σημασίας, όπως στην περίπτωση της τρानσφεράσης της γλουταθειόνης, της αναγωγάσης του τετραϋδροφυλλικού

αιθυλενίου και των N-ακετυλοτρανσφερασών. Στην πραγματικότητα, αυτοί οι γενετικοί πολυμορφισμοί μπορεί να ποικίλλουν μεταξύ των διαφόρων φυλετικών και εθνικών ομάδων, γεγονός που δύναται να παρέχει στοιχεία και για την ανωτέρω αναφερόμενη γεωγραφική διαφοροποίηση ως προς την εμφάνιση του ορθοκολικού καρκίνου.

3.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 1) αναφέρονται συνοπτικά οι καλύτερα μελετημένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση του παχυεντερικού καρκίνου καθώς και η επίδρασή τους σε αυτήν, ενώ περαιτέρω θα γίνει μια όσο το δυνατόν πιο σύντομη περιγραφή της (επιβαρυντικής ή προστατευτικής) δράσης ορισμένων από αυτούς τους παράγοντες.

Επιβαρυντικοί Παράγοντες	Προστατευτικοί παράγοντες
Δίαιτα υψηλής θερμιδικής πρόσληψης	Αυξημένη πρόσληψη φυτικών ινών
Αυξημένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος	Βιταμίνες με αντιοξειδωτική δράση
Αυξημένη κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων	Φρέσκα φρούτα και λαχανικά
Αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ	Προληπτική πρόσληψη φαρμάκων τύπου ΜΣΑΦ
Κάπνισμα	Κατανάλωση καφέ
Καθιστικός τρόπος ζωής	Αυξημένη πρόσληψη ασβεστίου
Παχυσαρκία	Αυξημένη πρόσληψη μαγνησίου
Σακχαρώδης Διαβήτης	Πρόσληψη διφωσφονικών

Πίνακας 1: Περιβαλλοντικοί παράγοντες που σχετίζονται με τον ορθοκολικό καρκίνο.

3.2.1 Συνολική ημερήσια πρόσληψη θερμίδων και παχυσαρκία

Αυτές οι δύο παράμετροι είναι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου, ενώ η αυξημένη αναλογία μάζας (Body Mass Index – BMI) φαίνεται να σχετίζεται με διπλάσιο ρίσκο εμφάνισης της νόσου και μάλιστα του παχυεντερικού παρά του καρκίνου του ορθού. Αντίστοιχη συσχέτιση υπάρχει και στην περίπτωση της απότομης αύξησης του σωματικού βάρους κατά την νεαρή ενήλικη ζωή του ατόμου, και μάλιστα οι εν λόγω κίνδυνοι είναι εντονότεροι στους άνδρες παρά στις γυναίκες (Renehan AG, Flood A, Adams KF, et al.,2012).

3.2.2 Κατανάλωση κρέατος, λιπαρών οξέων και πρωτεϊνών

Η κατανάλωση κόκκινου, αλλά όχι λευκού, κρέατος έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου, αποτελώντας μάλιστα έναν αρκετά ισχυρό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου (Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, et al.,1990). Από την άλλη πλευρά, η πλήρης αποχή από την κατανάλωση κόκκινου κρέατος δεν είναι ξεκάθαρο ότι μπορεί να μειώσει αυτό τον κίνδυνο. Επίσης σε αρκετές μελέτες έχει διερευνηθεί και η πιθανή συσχέτιση του τρόπου προετοιμασίας και μαγειρέματος του κρέατος ως προς τον τρόπο που μπορεί να επηρεάζει την εμφάνιση της νόσου, με ορισμένες από αυτές να αναδεικνύουν ως πιο επικίνδυνα τα προεπεξεργασμένα κρέατα , πχ τα λουκάνικα, σε σχέση με τα μαγειρευτά, ενώ ακόμα και ο τύπος του κόκκινου κρέατος, πχ το αρνίσιο ή το χοιρινό, σχετιζόταν περισσότερο με συγκεκριμένη ανατομική θέση εμφάνισης του καρκίνου και συγκεκριμένα στο παχύ έντερο (σιγμοειδές) και στο ορθό, αντιστοίχως. Τέλος, η συνολική ποσότητα πρόσληψης κόκκινου κρέατος μάλλον δεν ευθύνεται από μόνη της και τόσο πολύ για την εμφάνιση του ορθοκολικού καρκίνου, όταν τουλάχιστον αυτή μελετηθεί σε σχέση και με τους ανωτέρω παράγοντες (τρόπος προετοιμασίας και τύπος κρέατος) - (Parr CL, Hjartaker A, Lund E, et al.,2013).

3.2.3 Κατανάλωση καφέ

Ο καφές περιέχει διάφορα βιοενεργά παράγωγα τα οποία μπορεί να τροποποιούν τον κίνδυνο εμφάνισης του παχυεντερικού καρκίνου, αν και παλαιότερες επιδημιολογικές μελέτες κατέληγαν σε μάλλον ασαφή συμπεράσματα ως προς αυτήν την δράση. Πιο πρόσφατες μετα-αναλύσεις ανέδειξαν μια ανάστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και της

εμφάνισης του παχυντερικού, αλλά όχι και του ορθικού, καρκίνου (προστατευτική επίδραση). Αυτή μάλιστα ήταν ισχυρότερη στις γυναίκες καθώς και σε άτομα που κατοικούν στην Ευρώπη, ενώ ακόμα και ο καφές που δεν περιέχει καφεΐνη (decaffeinated) φαίνεται να εμφανίζει αντίστοιχη προστατευτική δράση, ιδίως στους καρκίνους τους εγγύς-δεξιού κόλου (Li G, Ma D, Xhang Y, et al.,2013). Παρόλα αυτά, χρειάζονται περαιτέρω μελέτες ώστε να αποσαφηνιστεί πλήρως η συσχέτιση αυτή.

3.2.4 Δίαιτα υψηλή σε φυτικές ίνες

Κλασικά, η κατανάλωση φυτικών ινών πιστεύεται από παλιά ότι προστατεύει από την εμφάνιση του καρκίνου του παχέος εντέρου, όπως άλλωστε φαίνεται και από τα ποσοστά του στην Αφρική, όπου η τροφή των κατοίκων αυτής της ηπείρου κυρίως βασίζεται στο αλεύρι από σιτάρι, ρύζι, σε φρούτα και λαχανικά. Οι φυτικές ίνες μειώνουν τόσο την συγκέντρωση των καρκινογόνων ουσιών στο εντερικό περιεχόμενο, όσο και το συνολικό χρόνο παρουσίας τους εντός του εντερικού αυλού, δημιουργώντας εν γένει ευνοϊκές συνθήκες εντός του εντερικού περιβάλλοντος. Μια συνεχιζόμενη, προοπτική, πολυκεντρική, Ευρωπαϊκή μελέτη αναδεικνύει όντως ότι η δίαιτα με υψηλή συγκέντρωση φυτικών ινών δρα προστατευτικά, χωρίς μάλιστα αυτή να επηρεάζεται από άλλους παράγοντες, όπως το φύλο, η ηλικία, ο τρόπος ζωής, κλπ. (Murphy N, Norat T, Ferrari P, et al.,2012). Υπάρχουν βέβαια και άλλες μελέτες που απέτυχαν να αποδείξουν με βεβαιότητα την σχέση αυτή, οπότε και αυτός ο παράγοντας χρήζει πιθανώς περαιτέρω μελέτης.

3.2.5 Φρούτα και λαχανικά

Η προστατευτική δράση αυτών των τροφών είναι γενικά αποδεκτή, έχει παρατηρηθεί σε όλους σχεδόν τους τύπους των φρούτων και των λαχανικών και φαίνεται πως οφείλεται στις βιταμίνες, το φυλλικό οξύ, τις φυτικές φαινόλες, και άλλες ουσίες με αντιοξειδωτική δράση που αυτά περιέχουν, οι οποίες δρουν χημειοπροστατευτικά. Σε αυτή την παρατήρηση βασίζεται και η λεγόμενη «Μεσογειακή» διατροφή, η οποία εισήχθη ιστορικά ως όρος περί την δεκαετία του 1960 και περιλαμβάνει την υψηλή καθημερινή κατανάλωση σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, όσπρια, ξηρούς καρπούς και ψάρι, συνοδευόμενα από μέτρια κατανάλωση αλκοόλ και χαμηλή αναλογικά πρόσληψη γαλακτοκομικών

προϊόντων και κρέατος, ενώ όντως αναδεικνύεται η «αντικαρκινική» της επίδραση σε αρκετές από τις πιο πρόσφατες μελέτες (Bamia C, Lajiou P, Buckland G, et al., 2013). Στην ίδια λογική, γίνονται προσπάθειες να συσχετιστεί και η πρόσληψη άλλων ουσιών, όπως το ασβέστιο, το μαγνήσιο και η βιταμίνη D, με την εμφάνιση του ορθοκολικού καρκίνου, τα οποία φαίνεται γενικά να έχουν μια ήπια προστατευτική επίδραση, κάτι όμως που ακόμα διερευνάται.

3.2.6 Τρόπος ζωής (άσκηση, αλκοόλ, κάπνισμα)

Η καθιστική ζωή σε συνδυασμό με την μειωμένη άσκηση και φυσική δραστηριότητα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, αν και ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Επίσης, αρκετά πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η αεροβική άσκηση και η αυξημένη φυσική δραστηριότητα μπορούν να μειώσουν την εμφάνιση των υποτροπών και να αυξήσουν ανάλογα την συνολική επιβίωση, ακόμα και σε διαγνωσμένους καρκίνους σχετικά προχωρημένου κλινικού σταδίου (σταδίου III) – (Campbell PT, Patel AV, Newton CC, et al., 2013).

Ως προς την κατανάλωση αλκοόλ, οι περισσότερες σχετικές μελέτες δείχνουν μια, έστω και μικρή, προστατευτική επίδραση μιας καθημερινής, σε λογικά πλαίσια, κατανάλωσης, πιθανώς λόγω της πιθανής επίδρασης στον μεταβολισμό του φυλλικού οξέος, με την επίδραση αυτή να είναι ισχυρότερη στους άντρες, ενώ η αυξημένη κατανάλωση είναι και αυτή βλαπτική.

Οι χρόνιαι καπνιστές βρίσκονται σε αυξημένο ρίσκο εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου, αναλόγως και με τον αθροιστικό χρόνο καπνίσματος (pack-years) ως προς την εμφάνιση μεγάλων αδενωμάτων (>20) και διηθητικού καρκίνου (>35), αντίστοιχα. Επιπλέον, ακόμα και πρώην καπνιστές εξακολουθούν να βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για αρκετά χρόνια, έως και 25 χρόνια, μετά από την διακοπή του καπνίσματος (Gong J, Hutter C, Baron JA, et al., 2012).

3.2.7 Σακχαρώδης Διαβήτης

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, αν και είναι σχετικά δύσκολο να εκτιμηθεί σε σχέση και με τους ανωτέρω παράγοντες (παχυσαρκία, καθιστική

ζωή, κάπνισμα, κλπ.), εντούτοις φαίνεται σε κάποιες πρόσφατες μετα-αναλύσεις να αποτελεί ισχυρό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου, ενώ σε μία από αυτές οι ασθενείς που έπαιρναν θεραπεία με ινσουλίνη βρίσκονταν σε ακόμα μεγαλύτερο κίνδυνο (Deng L, Gui Z, Zhao L, et al.,2012).

3.2.8 Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ)

Μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες έχουν αναδείξει μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της χρήσης της ασπιρίνης και άλλων μη στεροειδών φαρμάκων και του ποσοστού εμφάνισης του ορθοκολικού καρκίνου αλλά και των παχυεντερικών αδενωμάτων (Rosenberg L, Louik C, Shapiro S.,1998). Επιπλέον, ορισμένες πρόσφατες μελέτες σε σχέση με την χρήση της ασπιρίνης ως χημειοπροστατευτικού παράγοντα σε ασθενείς που πάσχουν από ένα οικογενές σύνδρομο, το λεγόμενο σύνδρομο Lynch (το οποίο θα αναφερθεί εκτενέστερα σε επόμενο κεφάλαιο), που σχετίζεται με αυξημένη ανάπτυξη παχυεντερικού, αλλά και εξωεντερικών μορφών καρκίνου, έδειξαν ότι η ασπιρίνη όντως σχετίζεται με σημαντική μείωση στην εμφάνιση των ανωτέρω νόσων, ενώ οι πιθανές παρενέργειες αυτής, όπως η πρόκληση αιμορραγίας, πεπτικών ελκών και αναιμίας, είναι αμελητέες αναλογικά με το όφελος από την χρήση της. Τα παραπάνω δεδομένα έχουν ανοίξει τον δρόμο για την μελέτη της πιθανής προστατευτικής δράσης αυτών των ουσιών και στις σποραδικές μορφές της νόσου με αρκετά από τα αποτελέσματα να είναι αρκετά ενθαρρυντικά (Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, et al.,2010).

4. ΟΙΚΟΓΕΝΗ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Στις παρακάτω παραγράφους θα αναφερθούν εν συντομία οι καλύτερα περιεγραμμένες μορφές οικογενών συνδρόμων που σχετίζονται τόσο με την εμφάνιση του ορθοκολικού καρκινώματος (κυρίως), αλλά και με καρκίνους σε άλλα όργανα. Η παρατήρηση εξάλλου και η αρχική περιγραφή της ύπαρξης αυτών των νοσολογικών οντοτήτων ήταν αυτές που έδωσαν το έναυσμα για την περαιτέρω μελέτη της παθογένειας του καρκίνου του παχέος εντέρου σε μοριακό επίπεδο, είτε αυτός εμφανίζεται στα πλαίσια των εν λόγω συνδρόμων, αλλά και στις σποραδικές περιπτώσεις, που όπως ήδη αναφέρθηκε είναι και το συχνότερο σενάριο.

4.1 Σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης παχέος εντέρου

Το σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης (familial adenomatous polyposis-FAP) αντιπροσωπεύει το 1% της συνολικής επίπτωσης του ορθοκολικού καρκίνου. Το κυριότερο κλινικό εύρημα που το χαρακτηρίζει, και στο οποίο οφείλεται και το όνομά του, είναι η εμφάνιση μεγάλου αριθμού (από εκατοντάδες έως και χιλιάδες) πολυπόδων του παχέος εντέρου σε πάσχοντα από το σύνδρομο άτομα, ήδη από την εφηβική τους ηλικία ή την νεαρή ενήλικη ζωή τους και, στην περίπτωση που δεν αφαιρεθεί εγχειρητικά το παχύ έντερο, την σίγουρη (πιθανότητα 100%) μετάπτωση αυτών των πολυπόδων σε διηθητικό καρκίνωμα (Rustgi AK.,1994). Επίσης υπάρχουν και εξωεντερικές εκδηλώσεις του συνδρόμου αυτού, είτε ως καλοήθεις οντότητες, πχ συγγενής υπερτροφία του αμφιβληστροειδούς, οστεώματα της γνάθου, υπεράριθμοι οδόντες, επιδερμοειδείς κύστες δέρματος, φλοιοεπινεφριδικά αδενώματα, δεσμοειδείς όγκοι, είτε ως κακοήγη νεοπλασμάτα, μεταξύ άλλων στον θυρεοειδή αδένα, στο λεπτό έντερο και το δωδεκαδάκτυλο (κυρίως με εντόπιση γύρω από το φύμα του Vater, π.χ. στα πλαίσια του συνδρόμου Gardner), αλλά και στον εγκέφαλο. Στην τελευταία περίπτωση οι όγκοι του κεντρικού νευρικού συστήματος μπορεί να είναι είτε υψηλής κακοηθείας γλοιώματα (πολύμορφο γλοιοβλάστωμα) είτε μυελοβλαστώματα και ο συνδυασμός αυτών των όγκων με τους πολύποδες του παχέος εντέρου ονομάζεται σύνδρομο Turcot. Επίσης έχει περιγραφεί και μια ηπιότερη μορφή του συνδρόμου οικογενούς πολυποδίασης (attenuated FAP) με παρουσία λιγότερων (περί των εκατό) πολυπόδων στο παχύ έντερο και μετάπτωση αυτών σε διηθητικό καρκίνο σε

μεγαλύτερη ηλικία, περίπου στα 50 με 60 έτη (Spirio L, Olschwang S, Groden J, et al.,1993).

Το σύνδρομο αυτό κληρονομείται με αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα με σχεδόν 100% διείσδυση. Εντούτοις, σε ένα ποσοστό έως και 30% πρόκειται για πρωτοεμφανιζόμενες περιπτώσεις ασθενών χωρίς γνωστό οικογενειακό ιστορικό της νόσου. Με βάση καρυοτυπικές αναλύσεις βρέθηκε ότι σχετίζεται με μια απαλοιφή του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 5 και συγκεκριμένα στην θέση 21 (5q21), όπου εδράζεται το γονίδιο APC, η απώλεια του οποίου ευθύνεται για την εμφάνιση του συνδρόμου. Η λειτουργία της πρωτεΐνης APC που κωδικοποιείται από το ομώνυμο γονίδιο και τα σχετιζόμενα με αυτήν κυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης θα αναλυθούν με περισσότερη λεπτομέρεια σε άλλο κεφάλαιο.

4.2 Κληρονομούμενος μη πολυποδιασικός ορθοκολικός καρκίνος (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC) ή αλλιώς σύνδρομο Lynch

Το ποσοστό των περιπτώσεων ορθοκολικού καρκίνου που σχετίζεται με αυτό το σύνδρομο ανέρχεται σε 3% του συνόλου, ενώ το κυριότερο κλινικό του χαρακτηριστικό του είναι η εμφάνιση έως και 100 πολυπόδων (εξ' ου και ο χαρακτηρισμός «μη-πολυποδιασικός»), με κύρια εντόπισή τους, αν και όχι κατεξοχήν, στο εγγύς-δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου. Επιπλέον, αυτοί οι μικροσκοπικοί κυρίως και συχνότατα επίπεδοι πολύποδες εμφανίζουν επιταχυνόμενη προδιάθεση μετάπτωσης σε διηθητικό καρκίνωμα, με τα πάσχοντα από το σύνδρομο άτομα να διαγιγνώσκονται με αυτό σε μέση ηλικία περί τα 43 έτη. Επίσης, σε μια παραλλαγή του συνδρόμου (τη λεγόμενη τύπου II) συνυπάρχουν εξωεντερικής εντόπισης νεοπλασμάτα, σε όργανα όπως το στομάχι, το λεπτό έντερο, το χοληφόρο δέντρο και το πάγκρεας, την πύελο του νεφρού, τους ουρητήρες και την ουροδόχο κύστη, την ενδομητρική κοιλότητα, τις ωοθήκες και το δέρμα. Το συνολικό ρίσκο εμφάνισης καρκινωμάτων κατά την ζωή ενός πάσχοντος ατόμου υπολογίζεται σε 80% για τον παχυεντερικό καρκίνο, έως 50-60% για τον ενδομητρικό και σε 1-13% για τις υπόλοιπες πιθανές εντοπίσεις (Chung DC, Rustgi AK.,2003).

Το σύνδρομο αυτό προσδιορίζεται κλασικά βάσει ενός συνόλου κλινικοεργαστηριακών παραμέτρων, που είναι γνωστές ως κριτήρια του Amsterdam, τα οποία και φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 2).

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΤΟΜΩΝ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΕ ΚΙΝΔΥΝΟ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΒΑΣΕΩΝ (ΥΨΗΛΗ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ)	
Amsterdam I κριτήρια	
Τουλάχιστον τρεις συγγενείς με ορθοκολικό καρκίνο	
Ένας εξ 'αυτών να έχει πρώτου βαθμού συγγένεια με τους άλλους δύο	
Παρουσία νόσου σε τουλάχιστον δύο συνεχόμενες γενιές	
Τουλάχιστον μία περίπτωση ορθοκολικού καρκίνου σε ηλικία < 50 ετών	
Αποκλεισμός παρουσίας συνδρόμου οικογενούς πολυποδίασης (FAP)	
Ιστοπαθολογική επιβεβαίωση των χαρακτηριστικών των όγκων	
Amsterdam II κριτήρια	
Τουλάχιστον τρεις συγγενείς με σχετιζόμενους με το σύνδρομο HNPCC όγκους (παχύ έντερο, ενδομήτριο, λεπτό έντερο, ουρητήρας ή πυελοκαλυκικό σύστημα νεφρού)	
Παρουσία νόσου σε τουλάχιστον δύο συνεχόμενες γενιές	
Τουλάχιστον μία περίπτωση ορθοκολικού καρκίνου σε ηλικία < 50 ετών	
Αποκλεισμός παρουσίας συνδρόμου οικογενούς πολυποδίασης (FAP)	
Ιστοπαθολογική επιβεβαίωση των χαρακτηριστικών των όγκων	

Κριτήρια Bethesda (προς αναγνώριση ασθενών με ορθοκολικό καρκίνο που οφείλουν να ελεγχθούν για παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας)
Παρουσία καρκίνου σε οικογένειες που πληρούν τα ανωτέρω Amsterdam κριτήρια
Παρουσία δύο τουλάχιστον σχετιζόμενων με το σύνδρομο HNPCC όγκων (εντερικής ή εξωεντερικής εντόπισης)
Ασθενής με ορθοκολικό καρκίνο που έχει συγγενή πρώτου βαθμού επίσης με ορθοκολικό καρκίνο ή/και εξωεντερικό σχετιζόμενο με το σύνδρομο HNPCC όγκο ή/και αδένωμα παχέος εντέρου
Ορθοκολικός ή ενδομητρικός καρκίνος σε ηλικία <45 ετών
Αδιαφοροποίητης ιστομορφολογίας και δεξιάς εντόπισης ορθοκολικός καρκίνος σε ηλικία < 45 ετών
Ορθοκολικός καρκίνος με παρουσία κυττάρων τύπου σφραγιστήρος δακτυλίου (signet ring) σε ηλικία < 45 ετών
Ορθοκολικό αδένωμα σε ηλικία < 40 ετών

Πίνακας 2 : Κριτήρια του Amsterdam (σύνδρομο Lynch).

Από γενετικής απόψεως, το σύνδρομο Lynch (HNPCC) αφορά σε μια αυτοσωματική διαταραχή που κληρονομείται με επικρατούντα χαρακτήρα και εμφανίζει 80% διείσδυση. Επιπλέον βιοχημικές και γενετικές μελέτες οδήγησαν στην ανακάλυψη ότι το σύνδρομο αυτό οφείλεται σε βλάβες των γονιδίων επιδιόρθωσης του ανθρωπίνου DNA (mismatch repair genes). Αυτού του τύπου τα γονίδια, ομόλογα των οποίων είχαν πρωτοπεριγραφεί σε βακτήρια και άλλους μικροοργανισμούς κωδικοποιούν ένζυμα-πρωτεΐνες τα οποία επιδιορθώνουν λάθη κατά τη την αντιγραφή της αλυσίδας του DNA, που μπορεί να συμβαίνουν είτε τυχαία, είτε λόγω της επίδρασης εξωγενών βλαπτικών παραγόντων (π.χ. υπερϊώδης ακτινοβολία, χημικά καρκινογόνα, κλπ.). Μεταλλάξεις σε κάποιο/α από αυτά τα γονίδια οδηγεί στην λεγόμενη

μικροδορυφορική αστάθεια (microsatellite instability - MSI), κατάσταση ιδιαίτερα επιβλαβή, μιας και βάση αυτής της δυσλειτουργίας επηρεάζονται ένα σύνολο από γονίδια-στόχους (υποδοχέας του TGF-β2, bax, υποδοχέας του IGF τύπου I, κλπ.) στους σχετιζόμενους με αυτό το σύνδρομο όγκους (Weber TK, Conlon W, Petrelli NJ, et al.,1997). Οι συχνότερες από αυτές τις μεταλλάξεις (ποσοστό 60%) αφορούν είτε στο γονίδιο hMLH1 είτε στο hMSH2, ενώ τα λοιπά γονίδια της οικογένειας αυτής, όπως τα hMSH6, hPMS1, hPMS2, κλπ. εμπλέκονται σε μικρότερο ποσοστό, με αρκετά ακόμα εμπλεκόμενα γονίδια να βρίσκονται υπό μελέτη για κάποια πιθανή συσχέτισή τους.

4.3 Σύνδρομα με παρουσία αμαρτωματώδους τύπου πολυπόδων

Αυτού του τύπου τα σύνδρομα πολυποδίασης του παχέος εντέρου είναι αρκετά σπάνια, αντιπροσωπεύοντας ποσοστό <1% της αιτίας των συνολικών περιπτώσεων ορθοκολικού καρκινώματος ετησίως, ενώ κυρίως εμφανίζονται σε παιδιατρικούς και εφήβους ασθενείς.

Το σύνδρομο Peutz-Jeghers περιλαμβάνει λίγους αλλά ευμεγέθεις πολύποδες στο παχύ και το λεπτό έντερο, ενώ συχνά αυτοί σχετίζονται με επεισόδια αιμορραγίας από το πεπτικό, ή με απόφραξη του εντερικού σωλήνα, εμφανίζοντας ταυτόχρονα αυξημένο ρίσκο ανάπτυξης διηθητικού καρκίνου επί αυτών (Tse JY, Wu S, Shinagare SA, et al.,2013). Εξωεντερικά κλινικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με αυτό το σύνδρομο είναι η παρουσία φακίδων στο δέρμα των χεριών, γύρω από το στόμα και τα μάτια, καθώς και στον βλεννογόνο του στόματος. Επίσης μπορεί να αναπτυχθούν πολύποδες και στην ρινική κοιλότητα, στο βρογχικό δέντρο και στην ουροδόχο κύστη, ενώ τα πάσχοντα άτομα σε ένα ποσοστό 5-10% εμφανίζουν όγκους της γεννητικής χορδής και σε μικρότερο ποσοστό αδενοκαρκινώματα πνεύμονα και παγκρέατος. Το υπεύθυνο για αυτό το σύνδρομο γονίδιο έχει ταυτοποιηθεί και είναι το LKB1/STK11 (Serine–threonine kinase 11), το οποίο κωδικοποιεί την ομώνυμη πρωτεΐνη με δράση κινάσης της σερίνης-θρεονίνης.

Η νεανική πολυποδίαση έχει ορισμένα αλληλεπικαλυπτόμενα χαρακτηριστικά με το παραπάνω σύνδρομο, όμως οι πολύποδες τείνουν να εμφανίζονται μόνο στο παχύ έντερο, με αυτούς του στομάχου και του λεπτού

εντέρου να είναι σπάνιοι, ενώ δεν συνυπάρχουν εξωεντερικές εκδηλώσεις της νόσου. Το ρίσκο ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου είναι επίσης αυξημένο, ενώ το σύνδρομο φαίνεται να οφείλεται σε μεταλλάξεις αρκετών γονιδίων, όπως το PTEN, το SMAD4 και το BMPR1 μεταξύ άλλων τα οποία βρίσκονται ακόμα υπό μελέτη (Cichy W, Klincewicz B, Plawski A.,2014).

Το σύνδρομο Cowden περιλαμβάνει αμαρτωματώδους τύπου πολύποδες σε όλο τον γαστρεντερικό σωλήνα, χωρίς όμως αυτοί παραδόξως να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου. Παρόλα αυτά, ένα ποσοστό 10% των ασθενών εμφανίζουν και όγκους στον θυρεοειδή αδένα και ένα σχεδόν 50% στον μαστό, αντίστοιχα, με τις μεταλλάξεις στο γονίδιο PTEN να θεωρούνται υπεύθυνες για αυτό (Orloff MS, He X, Peterson C, et al.,2013).

Έχει υπολογιστεί τέλος ότι σε ένα ποσοστό 20-30% του συνόλου των περιπτώσεων του ορθοκολικού καρκίνου συνυπάρχει μια κληρονομούμενη προδιάθεση χωρίς αυτή να σχετίζεται με κάποιο από τα γνωστά οικογενή σύνδρομα (Burt RW.,1996). Γίνονται συνεχιζόμενες προσπάθειες τόσο με πληθυσμιακές όσο και ενδοοικογενειακές μελέτες (π.χ. μεταξύ διδύμων) για την ανεύρεση και ταυτοποίηση και άλλων πιθανών σχετιζόμενων γονιδίων, η πλήρης κατανόηση της λειτουργίας των οποίων θα έχει σίγουρα ιδιαίτερα σημαντικό κλινικό αντίκτυπο στην αντιμετώπιση αυτών των ασθενών.

Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3) δίνονται σχηματικά οι βασικές κλινικές και γενετικές πληροφορίες των διάφορων κυριότερων οικογενών συνδρόμων, όπως αυτά αναλύθηκαν προηγουμένως, αλλά και ορισμένων άλλων λιγότερο συχνών συνδρόμων.

Κληρονομούμενα οικογενή σύνδρομα ορθοκολικού καρκίνου

Σύνδρομο	Συχνότερη κλινική εικόνα πασχόντων	Γενετική διαταραχή
Σύνδρομο με παρουσία αδενωματοδών πολυπόδων		
Οικογενής αδενωματοώδης πολυποδίαση (FAP)	Πολυάριθμα αδενώματα(>100) και καρκινώματα παχέος εντέρου, Πολύποδες και καρκινώματα δωδεκαδακτύλου, Πολύποδες θόλου στομάχου, Συγγενής υπερτροφία του αμφιβληστροειδούς	APC (>90%)
Σύνδρομο GARDNER	Όμοιο με το FAP, και επιπλέον δεσμοειδείς όγκοι και οστεώματα γνάθου	APC
Σύνδρομο TURCOT	Πολυποδίαση και καρκινώματα παχέος εντέρου και όγκοι ΚΝΣ (μυελοβλάστωμα, γλοιοβλάστωμα)	APC, MLH1
Ηπιότερη μορφή σ. οικογενούς πολυποδίασης (attenuated FAP)	Πολυποδίαση παχέος εντέρου με παρουσία <100 πολυπόδων	APC (μεταλλάξεις στο 5' άκρο)
Σύνδρομο LYNCH	Ορθοκολικός καρκίνος με λίγους πολύποδες, Ενδομητρικός καρκίνος, Καρκίνος ωοθηκών, στομάχου, ουροδόχου κύστεως, χοληφόρου δέντρου, ΚΝΣ	MSH2, MLH1, MSH6 (>90%), PMS2 (~5%)
MUTYH-σχετιζόμενη πολυποδίαση (MAP)	Πολυάριθμοι πολύποδες γαστρεντερικού συστήματος, αυτοσωματική υπολειπόμενη κληρονομικότητα	MUTYH

Πολυποδίαση σχετιζόμενη με την πολυμεράση (PPAP)	Μεγάλοι αδενωματώδεις πολύποδες, Καρκίνος παχέος εντέρου σε μικρή ηλικία, Ενδομητρικός καρκίνος	POLE ή POLD1
Σύνδρομα με παρουσία άτυπων πολυπόδων		
Σύνδρομο PEUTZ- JEGHERS	Αμαρτωματώδεις πολύποδες σε όλο το γαστρεντερικό σύστημα, Υπέγχρωση (σπικτική) βλεννογόνων και δέρματος	LKB1/STK11 (30%–70%)
Σύνδρομο COWDEN	Πολυάριθμα αμαρτώματα μαστού, θυρεοειδούς, δέρματος, ΚΝΣ και γαστρεντερικού συστήματος	PTEN (85%)
Σύνδρομο νεανικής πολυποδίασης	Πολυάριθμα αμαρτώματα σε νεανική ηλικία, ιδίως στο παχύ έντερο και τον στόμαχο	BMPR1A (25%), SMAD4 (15%)

Πίνακας 3: Κληρονομούμενα οικογενή σύνδρομα ορθοκολικού καρκίνου

5. ΠΟΛΥΣΤΑΔΙΑΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η γενετική βάση του ορθοκολικού καρκίνου μπορεί να εκτιμηθεί καλύτερα υπό το πρίσμα της λεγόμενης «ακολουθίας αδενώματος-καρκινώματος» (adenoma-carcinoma sequence). Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, και όπως κατ' εξακολούθηση έχει παρατηρηθεί σε κλινικές μελέτες, το σύνολο σχεδόν των ορθοκολικών καρκινωμάτων αναπτύσσεται επί εδάφους προϋπαρχόντων (καλοήθων) παχυεντερικών πολυπόδων, οι οποίοι εμφανίζουν υπερπλασία του κρυπτικού επιθηλίου, με συνοδές δυσπλαστικές αλλοιώσεις και διαταραχή στην ωρίμανση των κυττάρων, καθώς και εστίες αρχόμενης διηθητικής ανάπτυξης εντός του υποκείμενου στρώματος. Από αυτές τις προδιηθητικές βλάβες, σημαντικότεροι θεωρούνται οι έμμησχοι πολύποδες, αλλά και αυτοί που έχουν μέγεθος μεγαλύτερο του ενός εκατοστού, μιας και αυτοί είναι που εμφανίζουν την μεγαλύτερη τάση μετάπτωσης σε διηθητικό καρκίνωμα με την πάροδο του χρόνου (Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al., 2008). Υπολογίζεται ότι στις ΗΠΑ έως και ένα ποσοστό 50% του πληθυσμού άνω των 70 ετών φέρει πολύποδες παχέος εντέρου, με ένα μικρό μόνο ποσοστό αυτών να μεταπίπτει σε καρκίνο, μιας και η ανωτέρω αναφερόμενη ακολουθία αδενώματος-καρκινώματος είναι μια διαδικασία που μπορεί να χρειαστεί από δέκα έως και τριάντα χρόνια για να εμφανιστεί ως διηθητική νόσος.

Η διαδικασία αυτή φαίνεται να οφείλεται τόσο σε γενετικές, όσο και σε επιγενετικές αλλαγές του DNA, με τις πρώτες να είναι καλύτερα μελετημένες και κατανοητές. Παρατηρούνται διαταραχές στην λειτουργία αρκετών ομάδων γονιδίων εκ των οποίων κυριότερο ρόλο διαδραματίζουν τα ογκογονίδια, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, μεταξύ των οποίων και αυτά που επιδιορθώνουν τις βλάβες στην αλυσίδα του DNA, αλλά και γονίδια που δρουν ως τροποποιητές της δράσης άλλων γονιδίων. Για την ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου θεωρείται απαραίτητο ένα σύνολο αλλαγών σε αυτά τα γονίδια, αν και όχι απαραίτητως με συγκεκριμένη σειρά και επίσης όχι απαραίτητως στο σύνολο των όγκων.

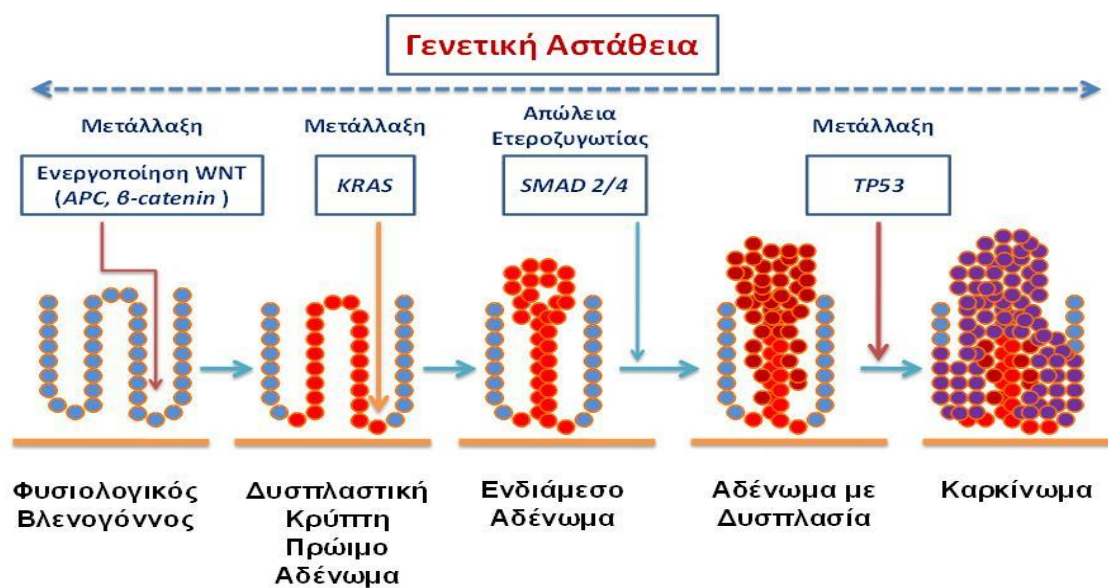
Αυτή ακριβώς η παρατήρηση είναι που υποστηρίζει την θεωρία της πολυσταδιακής ανάπτυξης του ορθοκολικού καρκίνου, λόγω της διαταραχής μιας σειράς από κυτταρικές διαδικασίες, όπως η κυτταρική επιβίωση, η ανάπτυξη και η διήθηση (Hanahan D, Weinberg RA.,2011). Επιπλέον, μερικές συγκεκριμένες μεταλλάξεις σχετίζονται κυρίως με συγκεκριμένα ιστολογικά πρότυπα, ή με την πρόγνωση και επιβίωση των ασθενών, ενώ οι περισσότερες από αυτές φαίνεται να επηρεάζουν παραπάνω από μία κυτταρικές λειτουργίες.

5.1 Γενικά στοιχεία γενετικών διαταραχών στον ορθοκολικό καρκίνο

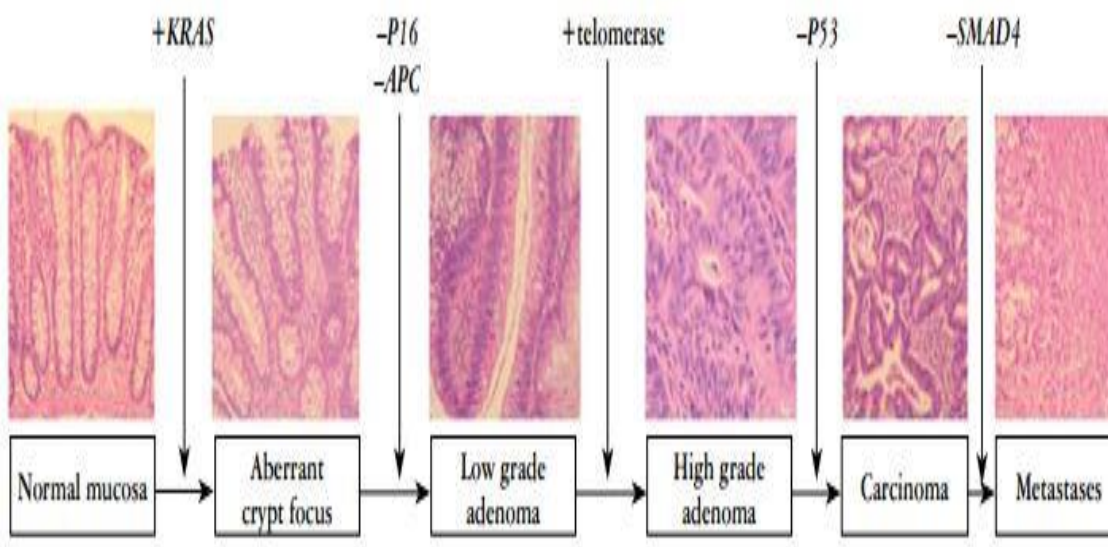
Περίπου ένα ποσοστό 80% των όγκων του παχέος εντέρου εμφανίζουν την λεγόμενη χρωμοσωμική αστάθεια (chromosomal instability - CIN) με εν γένει ανευπλοειδικό προφίλ και παρουσία εκτεταμένων αλλαγών στα χρωμοσώματα, όπως απώλειες, προσθήκες, διαμεταθέσεις, κλπ., φαινόμενα που οδηγούν στην εμφάνιση γονιδιακών διαταραχών (διαγραφή, υπερέκφραση, κλπ.) – (Pino MS, Chung DC.,2010).

Αυτή η υπόθεση έχει μελετηθεί εκτεταμένα και έχει ήδη παρουσιαστεί από τις αρχές της δεκαετίας του '90 στο κλασικό πλέον άρθρο των Fearon και Vogelstein (Fearon ER, Vogelstein B, 1990), όπου αναλύθηκε η πολυσταδιακή αυτή διαδικασία με την συσσώρευση ενός συνόλου γενετικών αλλά και σωματικών μεταλλάξεων, η συνέργεια των οποίων (και όχι τόσο η χρονική αλληλουχία εμφάνισής τους) προκαλεί την μετάπτωση από το παχυεντερικό αδένωμα με χαμηλόβαθμη σε αυτό με υψηλόβαθμη δυσπλασία και τελικά στον διηθητικό και μετέπειτα μεταστατικό καρκίνο. (εικόνες 1 και 2)

Μοντέλο Fearon-Vogelstein

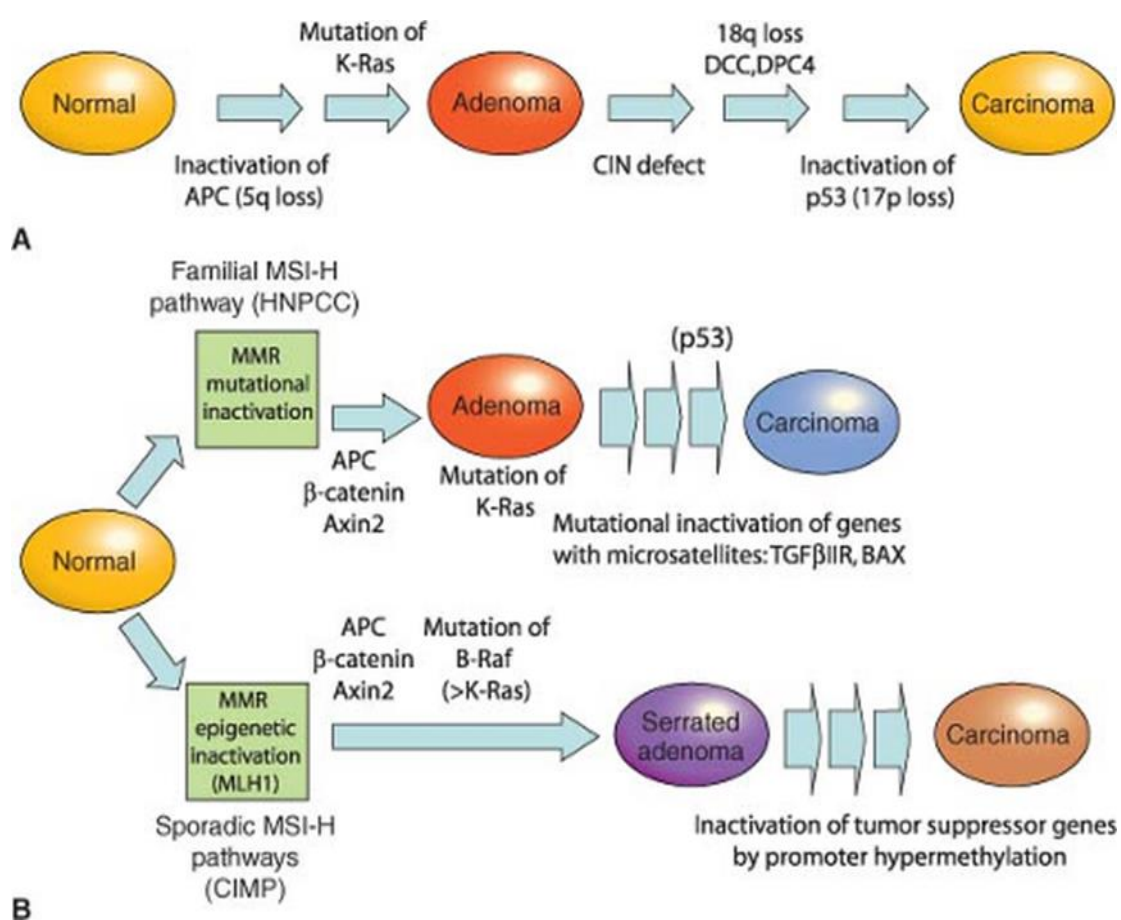


Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση του μοντέλου της πολυσταδιακής καρκινογένεσης.



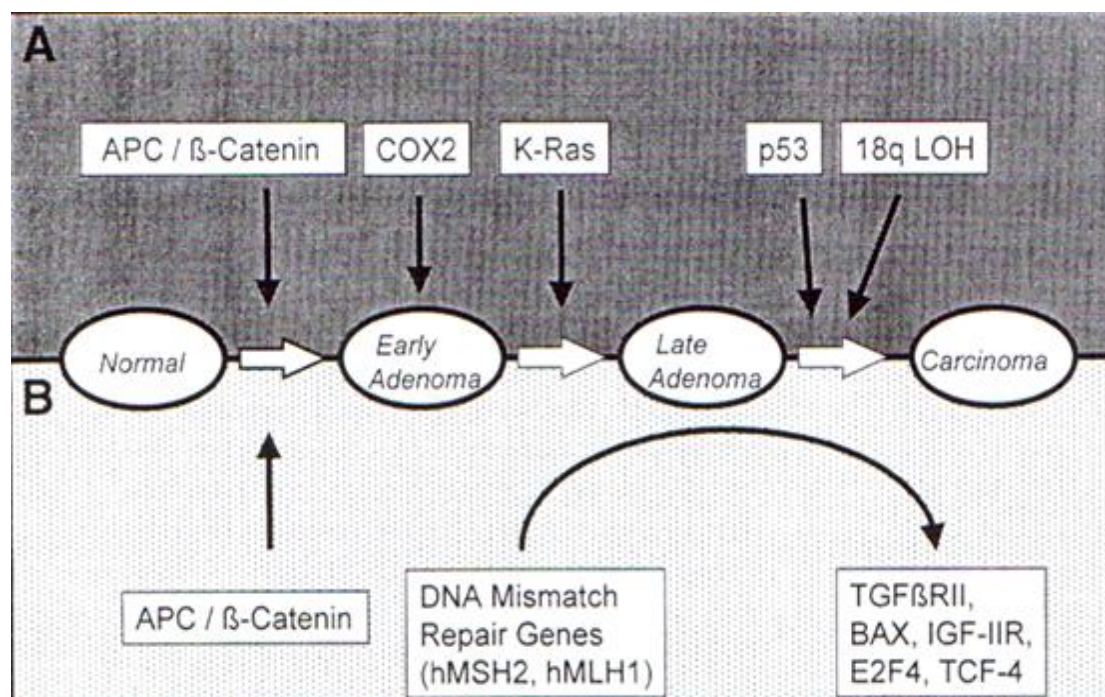
Εικόνα 2: Συσχέτιση των μοριακών διαταραχών με τις αντίστοιχες ιστοπαθολογικές εικόνες στον ορθοκολικό καρκίνο. (όπου + αφορούν σε ενεργοποιητικές και – σε απενεργοποιητικές μεταλλάξεις)

Ένα άλλο ποσοστό όγκων, περίπου 15% του συνόλου, εμφανίζεται εν γένει ευπλοειδικό, αλλά φέρει πολυάριθμες σημειακές μεταλλάξεις, διαγραφές ή προσθήκες σε επαναλαμβανόμενες ακολουθίες νουκλεοτιδίων, που ονομάζονται μικροδορυφορικές αλληλουχίες, ενώ η εν λόγω διαταραχή αντίστοιχα ονομάζεται μικροδορυφορική αστάθεια (microsatellite instability - MSI) με διαφορετικά διαταραγμένο μοριακό προφίλ σε σχέση με την πρώτη κατηγορία (εικόνες 3 και 4) – (Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al., 1993).



Εικόνα 3: Σύγκριση μεταξύ δύο εκ των βασικών οδών καρκινογένεσης στον ορθοκολικό καρκίνο, όπου η (Α) αφορά στην οδό της χρωμοσωμικής αστάθειας (CIN) , ενώ η (Β) αφορά στην οδό της διαταραχής των γονιδίων επιδιόρθωσης της αναντιστοιχίας των βάσεων του DNA (MMR defect) που έχει ως αποτέλεσμα την παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI). Η τελευταία

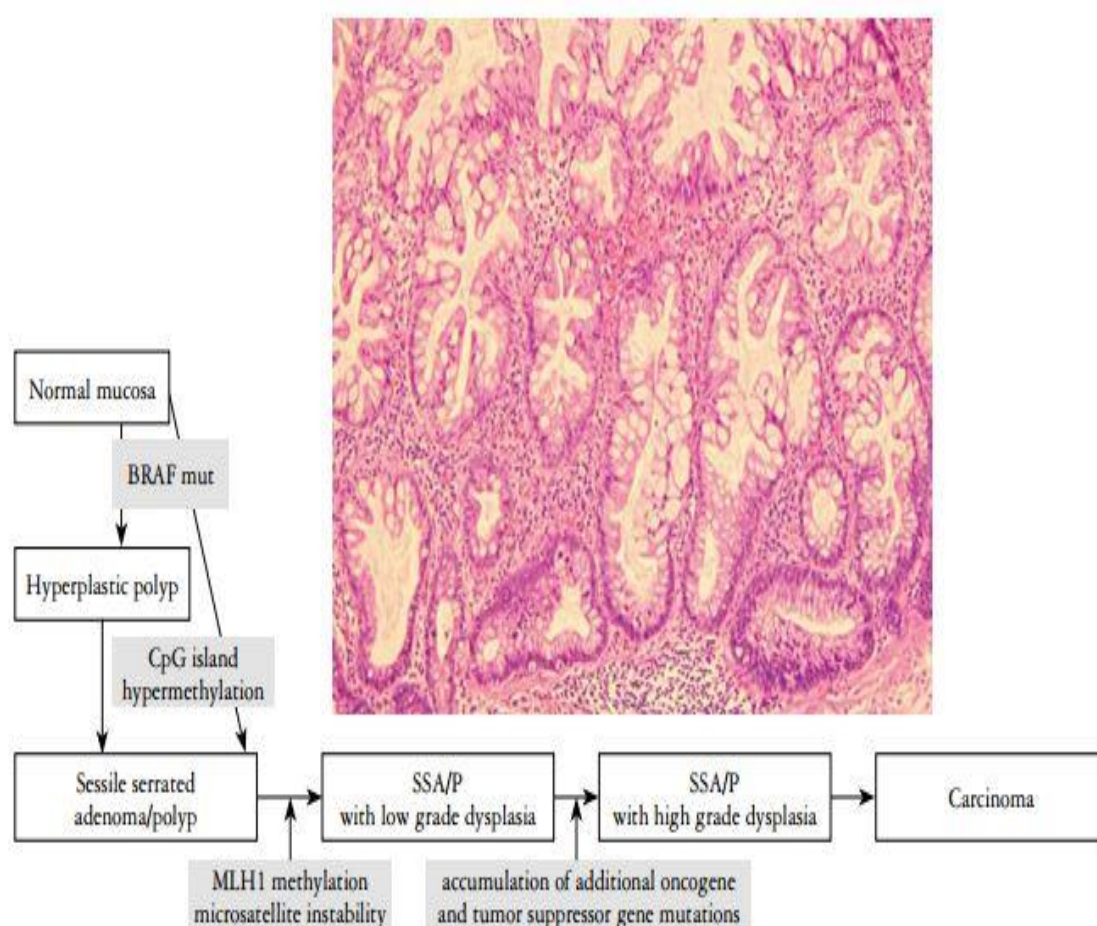
μπορεί να εμφανίζεται είτε οικογενώς στα πλαίσια του συνδρόμου LYNCH, είτε σποραδικά στα πλαίσια μεθυλίωσης των νησιδίων CpG (CIMP).



Εικόνα 4: Γονίδια που εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης σε όγκους με χρωμοσωμική αστάθεια (A) και μικροδορυφορική αστάθεια (B)

Εκτός από τα δύο ανωτέρω παραδείγματα γενετικών διαταραχών, ορισμένες φορές συνυπάρχουν (ή ακόμα και είναι η βασική διαταραχή) και επιγενετικές αλλοιώσεις, αν και λιγότερο καλά μελετημένες. Παρατηρούνται διάφορες αλλαγές των βασικών δομικών πρωτεϊνών του DNA, που ονομάζονται ιστόνες, ή μεθυλίωση των βάσεων της κυτοσίνης στην αλυσίδα του, γεγονότα που μπορούν να επηρεάσουν είτε θετικά είτε αρνητικά την έκφραση ενός συνόλου γονιδίων. Συγκεκριμένα, τα λεγόμενα νησίδια CpG, που είναι επαναλαμβανόμενες δινουκλεοτιδικές αλληλουχίες ζευγών βάσεων κυτοσίνης και γουανίνης, είναι βασικοί στόχοι μεθυλίωσης σε αρκετούς εκκινητές (promoters) γονιδίων με την τελευταία να προκαλεί αποσιώπηση της έκφρασής τους. Αυτό το τελευταίο μοριακό προφίλ (με παρουσία αυξημένου ποσοστού μεθυλίωσης του DNA) φαίνεται να σχετίζεται με ένα, έως και πριν

από λίγα χρόνια όχι και τόσο καλά μελετημένο, ποσοστό παχυεντερικών καρκίνων, με γενικότερο φαινότυπο μεθυλίωσης των νησιδίων CpG (CpG island methylator phenotype – CIMP) – (Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, et al.,1999).



Εικόνα 5: Οδός καρκινογένεσης σχετιζόμενη με μεθυλίωση των νησιδίων CpG (CIMP) ή αλλιώς οδοντωτή (serrated) οδός, όπου παρατηρούνται μεταλλάξεις του γονιδίου BRAF, μεθυλίωση (και απενεργοποίηση) του γονιδίου MLH1, καθώς και οδοντωτή μορφολογία.

Αν και τα ανωτέρω αναφερόμενα μοριακά προφίλ φαίνεται να αλληλεπικαλύπτονται έως ένα βαθμό, εντούτοις τα ορθοκολικά καρκινώματα μπορούν να διαχωριστούν αδρά σε τρεις μεγάλες γενικές κατηγορίες-οδούς καρκινογένεσης, ως εξής: 1) κλασική (traditional), 2) εναλλακτική (alternative), και 3) οδοντωτή (serrated), οι οποίες χαρακτηρίζονται από χρωμοσωμική αστάθεια (CIN), διαταραχές των γονιδίων επιδιόρθωσης του DNA (mismatch repair genes – MMR) και υπερμεθυλίωση (CIMP) αντίστοιχα, ενώ υπάρχει και

μια μικρότερη υβριδική (hybrid) κατηγορία που συνδυάζει επιμέρους χαρακτήρες των τριών αυτών κατηγοριών και εμφανίζεται σπανιότερα, κυρίως σε έδαφος σποραδικών καρκίνων.

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες μέσω πολυκεντρικών μελετών, με κυριότερες την μελέτη από το Cancer Genome Atlas Network (TCGA) – (The Cancer Genome Atlas Network, 2012), καθώς και την Consensus Molecular Subtypes of CRC (CMS) – (Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al., 2015), για την όσο το δυνατόν καλύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών και, βάσει αυτών, την επακόλουθη ταξινόμηση των διαφόρων υποτύπων του καρκίνου του παχέος εντέρου, ο οποίος όπως αποδεικνύεται με την πάροδο των χρόνων εμφανίζει αρκετά διαφορετικά «πρόσωπα», με όποιες συνέπειες έχει αυτό ως προς την πρόγνωση και κυρίως την σωστότερη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών.

Προτού όμως αναλυθούν με περισσότερες λεπτομέρειες αυτές οι προσπάθειες ταξινόμησης, θα γίνει μια αναφορά των βασικότερων μοριακών διαταραχών που χαρακτηρίζουν τα διάφορα προφίλ του ορθοκολικού καρκίνου, κυρίως βάσει των, όπως και σε προηγούμενο κεφάλαιο αναφέρθηκαν, διάφορων οικογενών συνδρόμων της νόσου, μιας και αυτά παρέχουν ένα αξιόπιστο υπόβαθρο για την μελέτη, την περιγραφή και την αξιολόγηση της εκάστοτε μοριακής βλάβης.

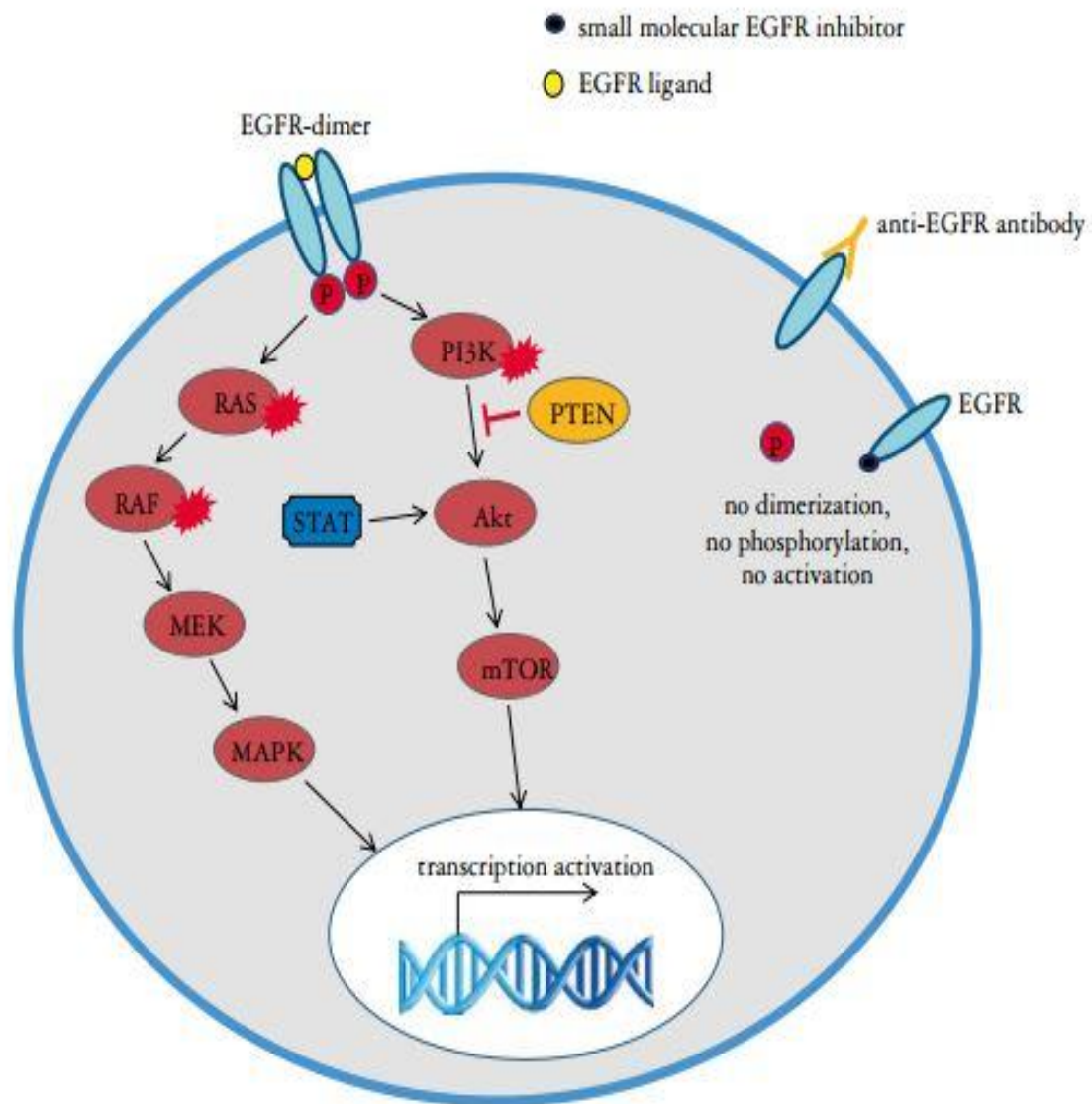
6. ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

Στις παρακάτω ενότητες θα γίνει μια σύντομη περιγραφή των σημαντικότερων διαταραχών στα ογκογονίδια, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA, αλλά και σε διάφορα επιγενετικά φαινόμενα με κυριότερο την μεθυλίωση του DNA, που ευθύνονται για την καρκινογένεση στον ορθοκολικό καρκίνο, με ιδιαίτερη έμφαση στην φυσιολογική λειτουργία και τον ρόλο που διαδραματίζει κάθε ένα από αυτά στον κυτταρικό κύκλο, καθώς και τις μοριακές, αλλά και κλινικές επιπτώσεις που έχουν οι διάφορες μεταλλάξεις τους.

6.1 ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ

Ογκογονίδια ονομάζονται τα ομόλογα των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τα κυτταρικά μονοπάτια που αφορούν στην ανάπτυξη του κυττάρου και στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, και των οποίων οι μεταλλάξεις οδηγούν στην συνεχόμενη ενεργοποίησή τους και στην ανεξέλεγκτη κυτταρική ανάπτυξη.

Μερικά από τα γονίδια αυτού του τύπου που σχετίζονται με τον σποραδικό ορθοκολικό καρκίνο είναι τα γονίδια RAS, RAF, PI3KCA, SRC, MYC, καθώς και το αντίστοιχο του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER2/neu-ERBB2), με τα σημαντικότερα, καλύτερα μελετημένα και με περισσότερη κλινική σημασία να είναι το γονίδιο RAS και το γονίδιο RAF, τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση του κυτταρικού σηματοδοτικού μονοπατιού του υποδοχέα EGFR/MAPK κινασών (εικόνα 6).

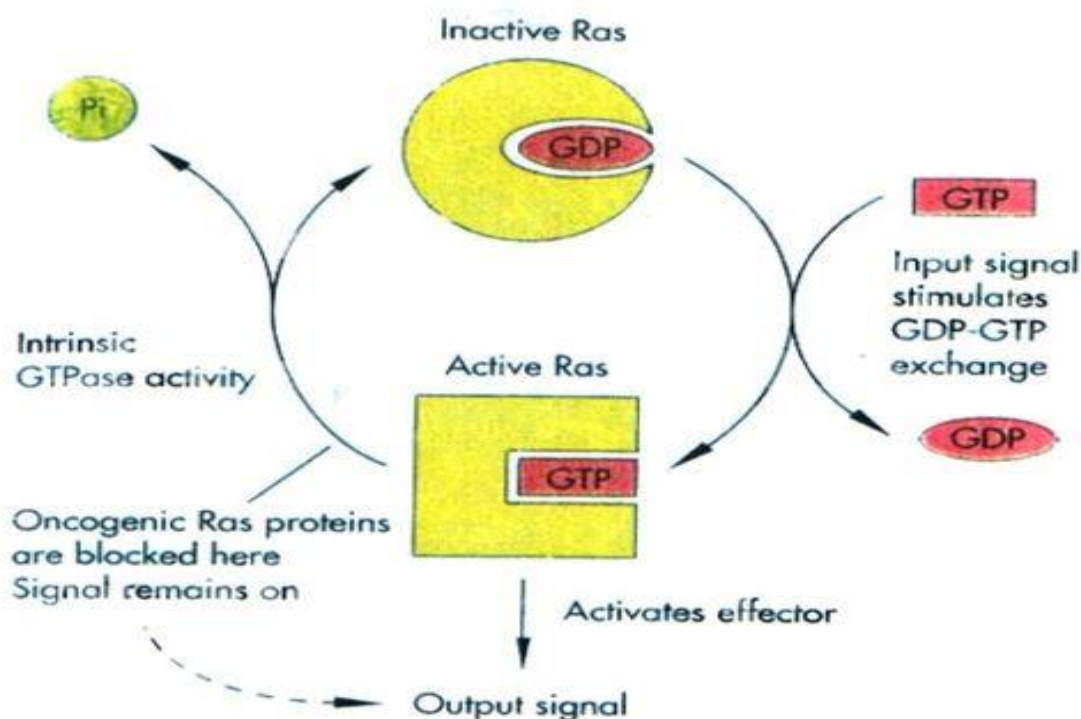


Εικόνα 6: Σχηματική απεικόνιση του σηματοδοτικού «καταρράκτη» του υποδοχέα EGFR/MAPK κινασών και του αντίστοιχου της κινάσης PI3K.

6.1.1 Το ογκογονίδιο RAS εμφανίζεται σε τρεις αντίστοιχες ποικιλίες πρωτεϊνικών κυτταρικών παραγώγων, τα HRAS, KRAS και NRAS (Rajalingam K, Schreck R, Rapp UR, Albert S., 2007). Αν και, όταν μεταλλάσσονται, και οι τρεις ποικιλίες μπορούν να προκαλέσουν καρκινική μετατροπή του κυττάρου, η πιο σημαντική και ταυτόχρονα συχνότερη μετάλλαξη στον ορθοκολικό καρκίνο αφορά στο ογκογονίδιο KRAS. Η σπουδαιότητα άλλωστε της σημασίας αυτού του ογκογονιδίου στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου έχει αποδειχθεί και σε ζωικά μοντέλα, όπου η αφαίρεσή του από νεοπλασματικά

κύτταρα όγκων παχέος εντέρου που έχουν εμφυτευθεί σε ευπαθείς πληθυσμούς ποντικών, αφαιρεί αντίστοιχα την ικανότητα αυτών των κυττάρων να αναπτύξουν όγκους σε αυτά τα πειραματόζωα.

Τα ογκογονίδια RAS κωδικοποιούν μια οικογένεια πρωτεϊνών μικρού σχετικά μοριακού βάρους, οι οποίες έχουν λειτουργία G-πρωτεϊνών και δρουν ως «διακόπτες» μονής διαδρομής σε μοριακά μονοπάτια μεταφοράς σημάτων από το εξωκυττάριο περιβάλλον προς τον πυρήνα του κυττάρου. Αυτές οι πρωτεΐνες φυσιολογικά ανευρίσκονται σε δύο καταστάσεις, εκ των οποίων η μία είναι ανενεργή (σύνδεση με μία δισφωσφονική γουανωσίνη, GDP-bound), ενώ η έτερη είναι η ενεργοποιημένη μορφή της πρωτεΐνης (σύνδεση με μία τριφωσφορική γουανωσίνη, GTP-bound). Οι μεταλλάξεις, συνήθως σημειακές (point mutations), του γονιδίου RAS προκαλούν ανθεκτικότητα της αντίστοιχης μεταλλαγμένης πρωτεΐνης στην ενδογενή δράση τύπου GTPάσης με τελικό αποτέλεσμα αυτή να παραμένει συνεχώς στην ενεργοποιημένη της κατάσταση, μεταφέροντας συνεχόμενα τροφοδοτικά σήματα προς τον πυρήνα του κυττάρου, προς ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό του (εικόνα 7).



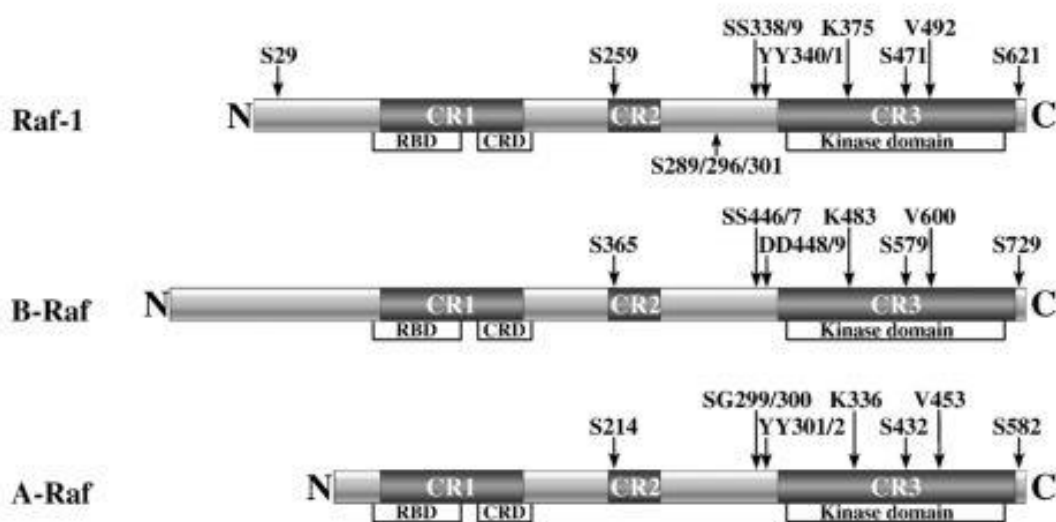
Εικόνα 7: Ο κύκλος της πρωτεΐνης RAS

Σύμφωνα με ορισμένα ζωικά μοντέλα φαίνεται ότι η κατάσταση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε ογκογένεση, όταν συνυπάρχουν και συνοδές μεταλλάξεις στο γονίδιο APC (adenomatous polyposis coli, βλ. παρακάτω). Οι μεταλλάξεις του ογκογονιδίου RAS ανευρίσκονται σε ποσοστό περίπου 50% των σποραδικών καρκίνων του παχέος εντέρου και επίσης σε αντίστοιχο ποσοστό σε αδενώματα μεγαλύτερα του 1 εκατοστού, σπανιότερα και σε μικρότερου μεγέθους (Takayama T, Ohi M, Hayashi T, et al., 2001), ενώ κάποιες μελέτες υποδεικνύουν ότι αυτή η βλάβη είναι εξίσου συχνή σε δεξιάς εντόπισης όγκους (τυφλό και ανιόν), όσο και σε όγκους του άπω παχέος εντέρου (κατιόν, σιγμοειδές) ή του ορθού (Harada K, Hiraoka S, Kato J, et al., 2007). Η απουσία αυτής της μετάλλαξης σε μικρότερα αδενώματα φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνισή της σε απώτερα στάδια της πορείας της συσσώρευσης μεταλλάξεων που οδηγούν στην εμφάνιση του καρκίνου (Pretlow TP, Brasitus TA, Fulton NC, et al., 1993). Βέβαια, σε νεότερες μελέτες έχει βρεθεί η παρουσία της τόσο σε παρακείμενες των όγκων, μη δυσπλαστικές, ανώμαλες εντερικές κρύπτες (aberrant crypt foci), όσο και σε υπερπλαστικούς πολύποδες παχέος εντέρου, με την σημασία αυτών των ευρημάτων να μην είναι ακόμα πλήρως κατανοητή. (Takayama T, Ohi M, Hayashi T, et al., 2001)

Σχετικώς με την κλινική σημασία της ανεύρεσης αυτών των μεταλλάξεων, αυτή φαίνεται να έχει τόσο προληπτική όσο και θεραπευτική σημασία. Συγκεκριμένα, η ανίχνευση τους σε υλικό από κόπρανά σε συνδυασμό με ένα σύνολο άλλων ουσιών και παραγόντων περιλαμβάνεται σε ένα κιτ μοριακού ελέγχου τέτοιου υλικού (Cologuard) ως μια σχετικώς απλή, γρήγορη και επαρκώς ευαίσθητη μέθοδος διαλογής και παρακολούθησης (screening) της νόσου (Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al, 2004). Αντίστοιχα, η ανίχνευση, επίσης σε μοριακό επίπεδο, της μετάλλαξης KRAS σε όγκους του παχέος εντέρου (αλλά και άλλους όγκους), σχετίζεται σε σημαντικό βαθμό με απουσία ευαισθησίας αυτών των όγκων, άρα και μη ανταπόκρισή τους, σε παράγοντες που στοχεύουν τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), όπως είναι το cetuximab (Troiani T., Napolitano S., Della Corte CM., et al., 2016). Ακόμα και σε αυτή την περίπτωση όμως, και βάσει ορισμένων ερευνητικών ευρημάτων σύμφωνα με τα οποία για να αναδειχθεί πλήρως κλινικά η μετάλλαξη της RAS πρωτεΐνης, απαιτείται και μια

μεταμεταγραφική τροποποίησή της από το ένζυμο τρανφεράση της φαρνεσύλης (farnesyl transferase), γίνονται προσπάθειες πιθανής στόχευσης αυτού του ενζύμου με ειδικούς αναστολείς του, στα πλαίσια της θεραπείας ασθενών που πάσχουν από όγκους που φέρουν την μετάλλαξη RAS (Appels NM., Beijnen JH, Schellens JH., 2005).

6.1.2 Η ομάδα των γονιδίων RAF είναι υπεύθυνη για την παραγωγή τριών τουλάχιστον πρωτεϊνικών παραγώγων/ισομορφών, των A-, B- και C-RAF/RAF-1 (εικόνα 8), που φυσιολογικά αποτελούν σηματοδοτικούς στόχους της πρωτεΐνης RAS στον καταρράκτη των MAPK κινασών (Leicht DT, Balan V, Kaplun A, et al, 2007).



Εικόνα 8: Μοριακή δομή των τριών ισομορφών της πρωτεΐνης RAF στον άνθρωπο.

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων αυτών προκαλούν ενεργοποίηση των ανάλογων πρωτεϊνών σε αρκετούς όγκους στον άνθρωπο, μεταξύ άλλων σε ποσοστό 70% στο μελάνωμα και 30% στον καρκίνο του θυρεοειδούς, καθώς και σε ποσοστό 15% στον παχυεντερικό καρκίνο. Η συχνότερη από αυτές τις μεταλλάξεις ανευρίσκεται στην ισομορφή BRAF και αφορά στην αντικατάσταση ενός αμινοξέος στην πρωτεϊνική αλυσίδα, η οποία είναι γνωστή ως V600E, το αποτέλεσμα της οποίας είναι η μόνιμη ενεργοποίηση της πρωτεΐνης BRAF και η ανάλογη θετική σηματοδότηση των κινασών MEK και ERK που βρίσκονται σε κατώτερα σημεία του μονοπατιού (Barras D., 2015).

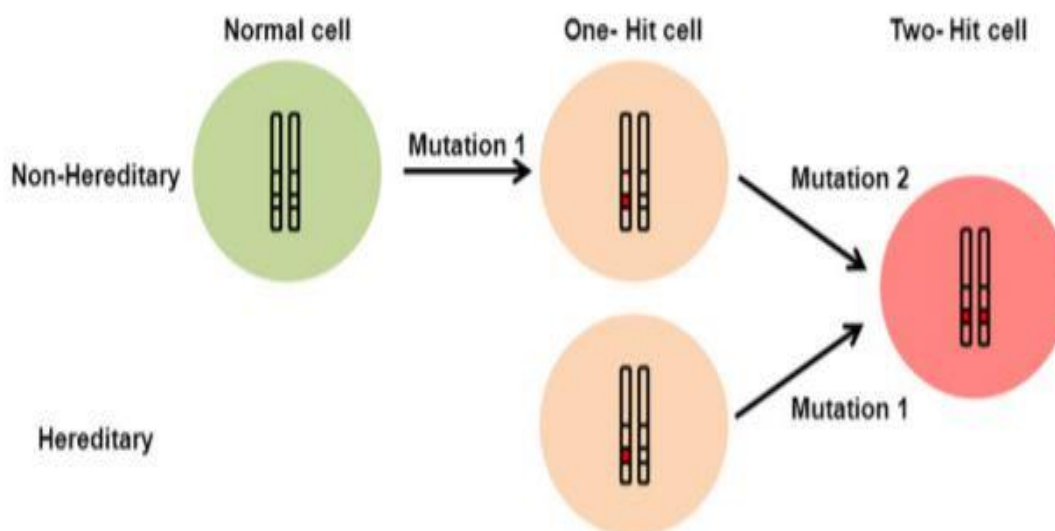
Η ανεύρεση αυτής της μετάλλαξης σε όγκους του παχέος εντέρου αποτελεί έντονα αρνητικό προγνωστικό παράγοντα, τόσο σε αρχικά όσο και σε προχωρημένα στάδια της νόσου ή ακόμα και σε περιπτώσεις υποτροπής, σε περιπτώσεις νεοπλασμάτων που είναι μικροδορυφορικά σταθερά ή με χαμηλή αστάθεια (MSS/MSI-L). Εντούτοις, η αντίστοιχη μετάλλαξη σε όγκους με υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-H), όπου και πολύ συχνότερα αυτή εμφανίζεται, δεν φαίνεται να σχετίζεται με ανάλογη δυσμενή πρόγνωση. Τέλος, όπως και στην περίπτωση του ογκογονιδίου RAS, έτσι και σε αυτές τις περιπτώσεις, η παρουσία της εν λόγω μετάλλαξης σχετίζεται με αντίσταση των νεοπλασματικών κυττάρων στην θεραπεία με αναστολείς του EGFR (Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, et al., 2008).

6.1.3 Το γονίδιο της κινάσης της φωσφατιδυλινοσιτόλης-3 (PI3KCA). Τα μεταφερόμενα μέσω της πρωτεΐνης RAS σήματα, εκτός από το μονοπάτι των MAPK κινασών, μπορούν επίσης εναλλακτικά (σε μικρότερη συχνότητα και με χαμηλότερη συνάφεια) να μεταδοθούν και μέσω του μονοπατιού της PI3K κινάσης. Ένα ποσοστό έως και 20% των ορθοκολικών καρκινωμάτων φαίνεται να φέρουν μεταλλάξεις του γονιδίου PI3KCA, κυρίως σε μετέπειτα στάδια της «ακολουθίας αδενώματος-καρκινώματος», ενώ αυτή η σηματοδοτική οδός κυρίως αναστέλλεται από την πρωτεΐνη PTEN, όπως φαίνεται και στην εικόνα 6 (Li W, Zhu T, Guan KL., 2004).

6.2 ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Σε αντίθεση με τα ογκογονίδια, όπως αυτά αναφέρθηκαν παραπάνω, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια φυσιολογικά έχουν έναν ανασταλτικό έλεγχο στον κυτταρικό κύκλο. Αν αυτά τα γονίδια διαγραφούν ή η λειτουργία τους μειωθεί για οποιονδήποτε λόγο, οι φυσιολογικοί μηχανισμοί ελέγχου του κυττάρου δεν είναι πλέον λειτουργικοί, και η κυτταρική ανάπτυξη γίνεται ανεξέλεγκτα. Σε κυτταρικό επίπεδο, αυτά τα γονίδια δρουν με υπολειπόμενο (recessive) χαρακτήρα, που σημαίνει ότι η λειτουργία της φυσιολογικής πρωτεΐνης χάνεται μόνο όταν και τα δύο αντίγραφα (αλλήλια) του γονιδίου υφίστανται απενεργοποίηση, είτε λόγω σημειακών μεταλλάξεων, ή και διαμεταθέσεων και διαγραφών, βάσει και του γνωστού μοντέλου των δύο χτυπημάτων ("two-hit" model – εικόνα 9).

Ορισμένα από τα πιο γνωστά και καλύτερα μελετημένα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι το APC, το p53, το DCC και το SMAD4.



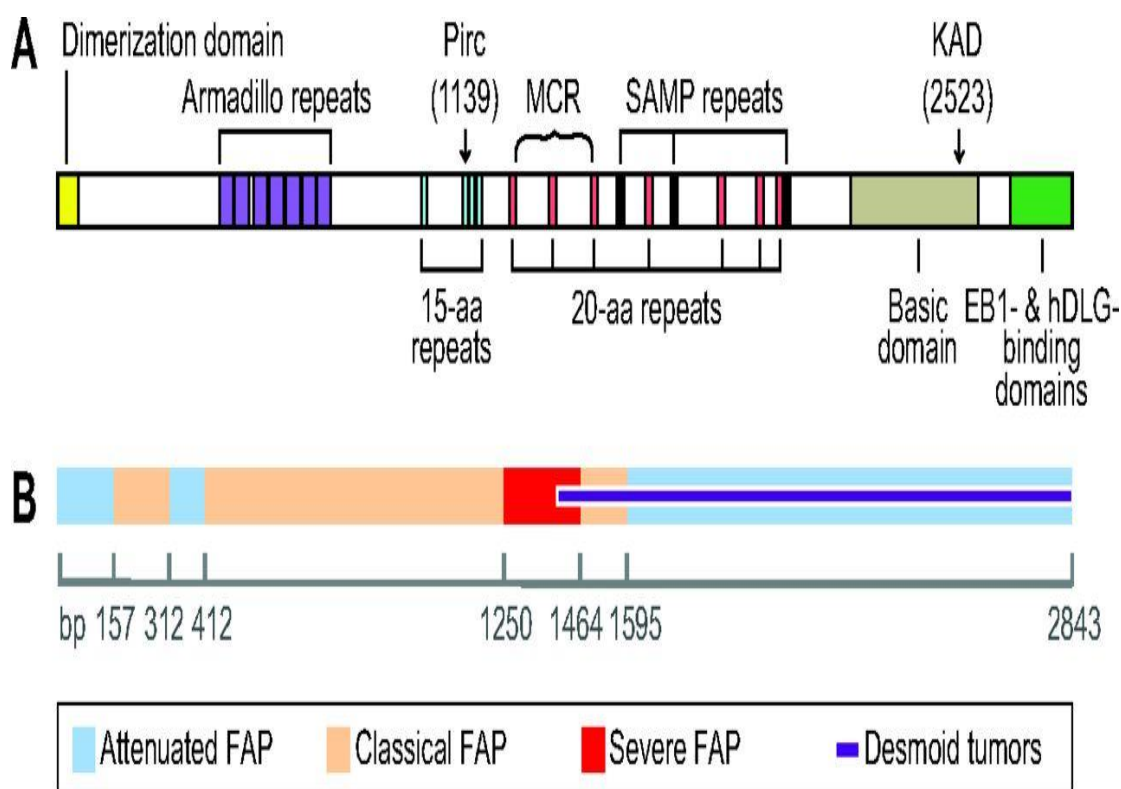
Εικόνα 9: Υπόθεση των δύο χτυπημάτων σε περιπτώσεις σωματικών (somatic/non-hereditary) και γενετικών (germline/hereditary) μεταλλάξεων.

6.2.1 Το γονίδιο APC είναι ίσως το πιο σημαντικό για την αρχική ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου. Σωματικές μεταλλάξεις (somatic) και των δύο αλληλίων του γονιδίου είναι παρούσες σε ποσοστό 80% των σποραδικών περιπτώσεων του καρκίνου του παχέος εντέρου, ενώ μία γενετική (germline) μετάλλαξη ενός εκ των αλληλίων είναι υπεύθυνη για το σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης του παχέος εντέρου (Familial Adenomatous Polyposis – FAP), που χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη εκατοντάδων παχυεντερικών πολυπόδων έως την τρίτη δεκαετία ζωής του ασθενούς που φέρει την μετάλλαξη, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο (Rustgi AK.,1994).

Η αναγνώριση της σπουδαιότητας αυτού του γονιδίου ξεκίνησε μετά από τα αποτελέσματα γενετικών μελετών που κατάφεραν να συνδέσουν την κληρονομικότητα του συνδρόμου FAP με την χρωμοσωματική θέση 5q21 και την επακόλουθη ταυτοποίηση των γενετικών μεταλλάξεων που περιελάμβαναν

το γονίδιο σε αυτό τον γενετικό τόπο (locus), το APC. Οι συχνότερες πρώιμες αλλοιώσεις στους ασθενείς με αυτό το σύνδρομο, οι μη δυσπλαστικές, ανώμαλες εντερικές κρύπτες (aberrant crypt foci), αλλά και οι μικροί αδενωματώδεις πολύποδες του παχέος εντέρου, έχουν χάσει και το δεύτερο αλληλίο του γονιδίου APC (είτε λόγω διαγραφής είτε λόγω δεύτερης, σωματικής μετάλλαξης), αποδεικνύοντας ότι η απώλεια της έκφρασης του APC αποτελεί ένα από τα πολύ πρώιμα γεγονότα στην πολυσταδιακή διαδικασία της παχυεντερικής καρκινογένεσης (Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, et al., 1992).

Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι ανάλογα και με την εντόπιση των μεταλλάξεων αυτού του γονιδίου προκαλούνται διάφορες δομικές παραλλαγές της πρωτεΐνης APC που σχετίζονται με διαφορετικής βαρύτητας και κλινικής εμφάνισης σύνδρομα (εικόνα 10) – (Ibrahim A, Barnes DR, Dunlop J, et al., 2014)



Εικόνα 10: Μοριακή δομή της πρωτεΐνης APC

Η λειτουργία της αντίστοιχης παραγόμενης πρωτεΐνης APC φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με μια άλλη πρωτεΐνη, την β-κατενίνη. Αυτό έχει φανεί μέσα από μελέτες όγκων παχέος εντέρου όπου αν και το γονίδιο του APC ήταν φυσιολογικό (normal/wild-type), εντούτοις υπήρχαν μεταλλάξεις του γονιδίου CTNNB1, που κωδικοποιεί την β-κατενίνη. Αμφότερες οι ανωτέρω πρωτεΐνες αποτελούν σημαντικότερα τμήματα του σηματοδοτικού καταρράκτη Wnt (Wingless-type signaling pathway / Wnt - εικόνα 11) – (Bienz M., Clevers H., 2000).

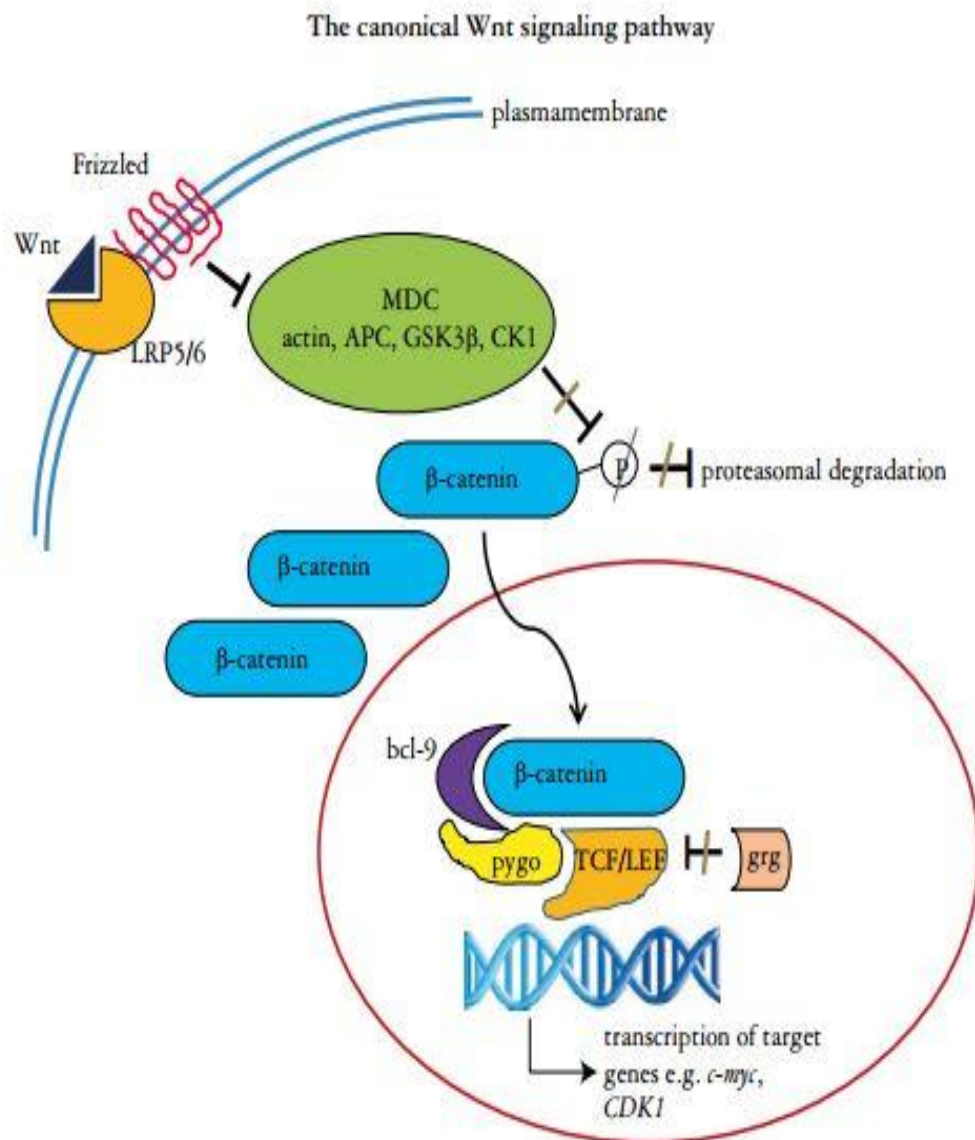
Το μονοπάτι αυτό είναι απαραίτητο στην εμβρυική ανάπτυξη και εκτός των άλλων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανανέωση του εντερικού επιθηλίου και των προγονικών του κυττάρων, σε διαταραχές των οποίων οφείλεται η ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου. Κάποια βασικά στοιχεία αυτής της σηματοδοτικής οδού θα δοθούν περιληπτικά παρακάτω.

Έχει βρεθεί ότι ένας από τους ρόλους της πρωτεΐνης APC, μεταξύ άλλων, είναι και να τροποποιεί την συγκέντρωση της β-κατενίνης στο κυτταρόπλασμα δεσμεύοντάς την σε ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα που βρίσκεται στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτό το σύμπλεγμα προκαλεί την φωσφορυλίωση της και την μετέπειτα μεταφορά της προς αποδόμηση στα πρωτεασώματα, μέσω της διαδικασίας της ουβικουιτίνωσης. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC (είτε γενετικές είτε σωματικές) προκαλούν την παραγωγή μιας ανώμαλης διαμόρφωσης και μικρότερου μήκους (truncated) πρωτεΐνης, η οποία δεν μπορεί να δράσει με τον παραπάνω τρόπο, με τελικό αποτέλεσμα την αυξημένη συγκέντρωση της β-κατενίνης στο κυτταρόπλασμα και κατ' επέκταση στον πυρήνα του κυττάρου, όπου η τελευταία προωθεί την μεταγραφική δραστηριότητα του παράγοντα TCF-4, συνδεδεμένη μαζί του (Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, et al., 1997).

Το σύμπλοκο αυτό της β-κατενίνης με τον μεταγραφικό παράγοντα TCF-4 λειτουργεί ως «μοριακός διακόπτης» ο οποίος ελέγχει την αναπαραγωγή και την διαφοροποίηση του πρώιμου επιθηλίου των εντερικών κρυπτών. Συγκεκριμένα, η ενεργοποίησή του αποτρέπει τα κύτταρα από το να εισέλθουν στην φάση G1 του κυτταρικού κύκλου ή να διαφοροποιηθούν στα «ώριμα» καλυκοειδή κύτταρα των ανώτερων μοιρών των κρυπτών και του καλυπτικού-

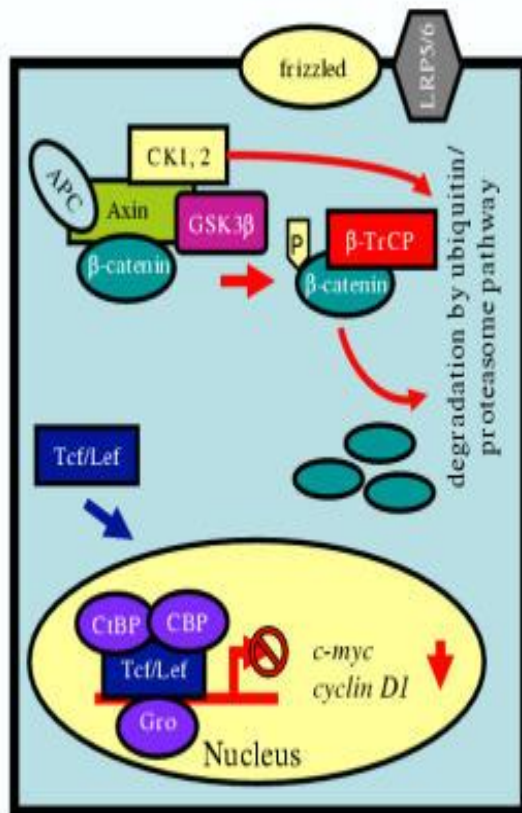
επιφανειακού επιθηλίου, ενώ ταυτόχρονα τα καθιστά ανθεκτικά στην απόπτωσή τους, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την αυξημένη παρουσία περισσότερων «άωρων» κυττάρων. Επίσης, και λόγω του ότι το μονοπάτι Wnt αλληλοεπιδρά με ένα σύνολο άλλων μονοπατιών της κυτταρικής σηματοδότησης, αυτό αποτελεί έναν τελικό κοινό «δρόμο» μέσω του οποίου διαταραχές στην ομαλή πορεία και των άλλων μονοπατιών μπορούν να προκαλέσουν παρόμοια καρκινογενετική επίδραση (εικόνα 12).

Τέλος, η ανώμαλη πρωτεΐνη APC πλέον του βασικού ρόλου που περιεγράφηκε παραπάνω, επηρεάζει και αρκετές ακόμα κυτταρικές λειτουργίες, προκρίνοντας την κυτταρική επιβίωση μέσω αύξησης της παραγωγής και της αντιαποπτωτικής δράσης της πρωτεΐνης Bcl2, μπορεί να προκαλέσει την κυτταρική μετανάστευση, κλπ. και εν γένει σχετίζεται άμεσα με όλες τις κατηγορίες-οδούς καρκινογένεσης στον ορθοκολικό καρκίνο και κυρίως με την μεγαλύτερη και συχνότερη εξ αυτών, αυτή που αφορά στην χρωμοσωμική αστάθεια (CIN).



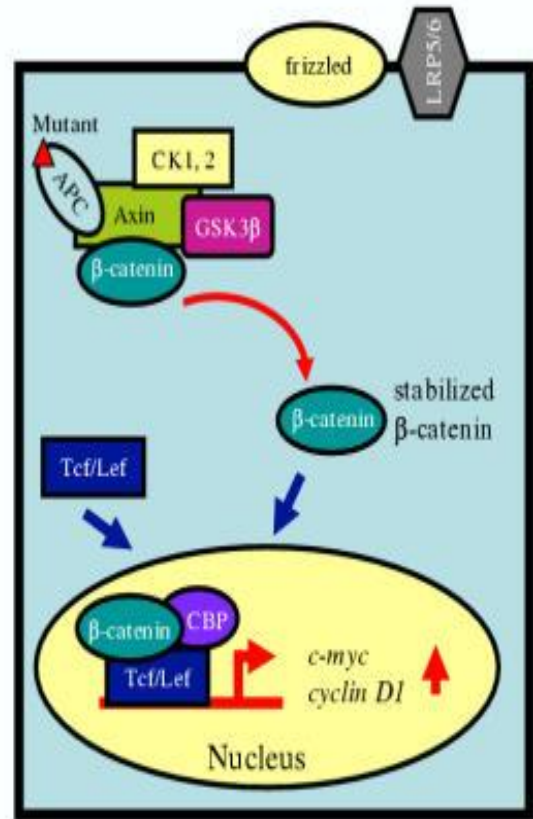
Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wingless-type (Wnt)

A. Normal colonic epithelial cells



Controlled cell growth

B. Colon cancer cells



Uncontrolled cell growth

Εικόνα 12: Συγκριτική απεικόνιση της φυσιολογικής και της διαταραγμένης λειτουργίας του σηματοδοτικού «καταρράκτη» Wnt στα κύτταρα του ορθοκολικού καρκίνου.

6.2.2 Το γονίδιο TP53, το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 17p, είναι το συχνότερα μεταλλαγμένο γονίδιο στον καρκίνο του ανθρώπου. Σε περίπου 50-70% των περιπτώσεων του ορθοκολικού καρκίνου, η απενεργοποίηση του TP53 συμβαίνει με την μετάλλαξη του ενός αλληλίου, που ακολουθείται από την απώλεια και του έτερου εναπομείναντος φυσιολογικού (wild-type) αλληλίου (Soussi T., 2000).

Η απώλεια του σκέλους 17p παρατηρείται σε ένα ποσοστό περίπου 75% των όγκων του παχέος εντέρου, αλλά απουσιάζει από τους αδενωματώδεις πολύποδες και τις ανώμαλες, μη δυσπλαστικές κρύπτες, υποδεικνύοντας ότι η απώλεια της λειτουργίας της παραγόμενης πρωτεΐνης p53 αντιπροσωπεύει ένα σχετικά όψιμο γεγονός στην πολυσταδιακή διαδικασία της καρκινογένεσης στο παχύ έντερο, ενώ αντίστοιχα οι μεταλλάξεις του γονιδίου TP53 αυξάνουν αναλόγως με το κλινικό στάδιο της νόσου (Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, et al., 1990).

Το φυσιολογικό (wild-type) γονίδιο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της πρωτεΐνης p53, η οποία προσδένεται στο DNA εντός του πυρήνα και δρα ως ενεργοποιητής ενός συνόλου ανασταλτικών για την κυτταρική ανάπτυξη γονιδίων, διαδραματίζοντας ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην προστασία του γενετικού υλικού των κυττάρων, ιδιαιτέρως όταν αυτά βρίσκονται κάτω από συνθήκες έντονου κυτταρικού στρες. Φυσιολογικά, τα κύτταρα αναστέλλουν την ανάπτυξή τους ως απάντηση σε παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA, πχ υποξία, μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης p53. Αφότου ενεργοποιηθεί, αυτή προκαλεί ένα σύνολο από αντιδράσεις με σκοπό τον περιορισμό της κυτταρικής ανάπτυξης, οι οποίες περιλαμβάνουν την αναστολή του κυτταρικού κύκλου (ώστε να προλάβουν οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί να επαναφέρουν την σωστή δομή του DNA), την απόπτωση του κυττάρου αν αυτό δεν επιτευχθεί, την γήρανση ή και την τελική διαφοροποίησή του, μέσω της τροποποίησης της λειτουργίας τουλάχιστον 20 γονιδίων-στόχων που υπόκεινται στην δράση αυτής της πρωτεΐνης. Δεν είναι λοιπόν καθόλου υπερβολικό το γεγονός ότι η πρωτεΐνη p53 είναι γνωστή και ως «φύλακας του γονιδιώματος», εξαιτίας αυτού του τόσο κεντρικού προστατευτικού της ρόλου στην διατήρηση της σωστής δομής του DNA (πίνακας 4).

Η αναγνώριση των μεταλλάξεων του γονιδίου TP53 σε κάποια συγκεκριμένη περίπτωση ορθοκολικού καρκίνου έχει μια δυνητικά κλινική σημασία, τόσο προγνωστικά όσο και θεραπευτικά. Σε αρκετές μελέτες έχει αναδειχθεί ότι οι όγκοι που φέρουν μεταλλάξεις του γονιδίου TP53 έχουν χειρότερη κλινική πορεία και μικρότερη επιβίωση του ασθενούς σε σχέση με αυτούς όπου λείπουν αυτές οι μεταλλάξεις. Από θεραπευτικής σκοπιάς, ένα σύνολο θεραπειών βρίσκονται υπό κλινική μελέτη ιδιαίτερα σε ασθενείς με

προχωρημένη νόσο με στόχο ειδικά τα νεοπλασματικά κύτταρα που φέρουν τις μεταλλάξεις του γονιδίου, με κάποιες από αυτές να προσπαθούν να διορθώσουν τις μεταλλάξεις αυτές άμεσα και άλλες να επαναφέρουν την φυσιολογική ροή λειτουργίας της αντίστοιχης πρωτεΐνης P53 (Watanabe T, Sullenger BA., 2000).

Λειτουργίες φυσιολογικής πρωτεΐνης p53
Βιοχημικές
Συνδέεται με το DNA σε ειδική αλληλουχία πρόσδεσης
Ενεργοποιεί τη μεταγραφή γονιδίων από υποκινητές με θέση πρόσδεσης p53-DNA
Αναστέλλει τη μεταγραφή γονιδίων από υποκινητές χωρίς θέση πρόσδεσης p53-DNA
Ρυθμίζει την επανασύνδεση του μονόκλωνου DNA
Αναστέλλει την ενεργότητα ελικάσης
Αναστέλλει την αντιγραφή του DNA
Βιολογικές
Επάγει την διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση G1
Επάγει την απόπτωση μετά από βλάβη του DNA
Αναστέλλει την αύξηση των καρκινικών κυττάρων
Εξασφαλίζει γενετική σταθερότητα

Πίνακας 4: Λειτουργίες της φυσιολογικής πρωτεΐνης p53

6.2.3 Τα γονίδια DCC και SMAD4, τα οποία εδράζονται στο χρωμόσωμα 18q. Εκτός από τα ανωτέρω περιγραφέντα γονίδια APC και TP53, ήδη από μελέτες της δεκαετίας του 1980 είχε ανευρεθεί και ένα άλλο γονίδιο που ονομάστηκε DCC (deleted in colorectal cancer) που δρα ως ογκοκατασταλτικό, βρίσκεται στον γενετικό τόπο 18q21 και φαίνεται να σχετίζεται με αρκετά ορθοκολικά καρκινώματα (Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, et al, 1990). Οι μεταλλάξεις αυτού του γονιδίου (συνήθως σημειακές) προκαλούν απώλεια της έκφρασης της αντίστοιχης πρωτεΐνης DCC, η οποία πιστεύεται ότι παίζει ρόλο τόσο στις δια-κυτταρικές αλληλεπιδράσεις, όσο και στην αλληλεπίδραση των κυττάρων με το περιβάλλον στρώμα. Η πρωτεΐνη αυτή φυσιολογικά εκφράζεται σε ένα σύνολο ιστών του σώματος, μεταξύ αυτών και στο εντερικό επιθήλιο, αν και η πλήρης λειτουργία της δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστή.

Η απώλεια της έκφρασής της μπορεί να έχει προγνωστική σημασία, ιδιαίτερα σε ασθενείς σε πρώιμο στάδιο της νόσου (κλινικό στάδιο II, με απουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων), όπου φαίνεται ότι η απώλεια της έκφρασής της σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση αυτών των ασθενών (παραπλήσια με αυτή των ασθενών σταδίου III, με λεμφαδενικές μεταστάσεις). Η πληροφορία αυτή μπορεί ίσως να οδηγήσει σε θεραπευτικό κλινικό όφελος σε σχέση με ασθενείς πρώιμου σταδίου με την μετάλλαξη αυτή, οι οποίοι και θεωρητικά δύνανται να ωφελούνται από την χορήγηση συμπληρωματικής χημειοθεραπείας, αν και αυτή η υπόθεση χρειάζεται ακόμα καιρό ώστε να πιστοποιηθεί επαρκώς μέσω κλινικών μελετών (Porat S, Houlston RS., 2005).

Ένα έτερο ογκοκατασταλτικό γονίδιο που εδράζεται στο χρωμόσωμα 18q είναι και το λεγόμενο DPC4 (deleted in pancreatic cancer), το οποίο όπως φανερώνει και το όνομά του πρωτοπεριγράφηκε στον παγκρεατικό καρκίνο, ενώ πλέον ονομάζεται SMAD4. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο σηματοδοτικό μονοπάτι του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα - βήτα (Transforming Growth Factor-beta, TGF-beta).

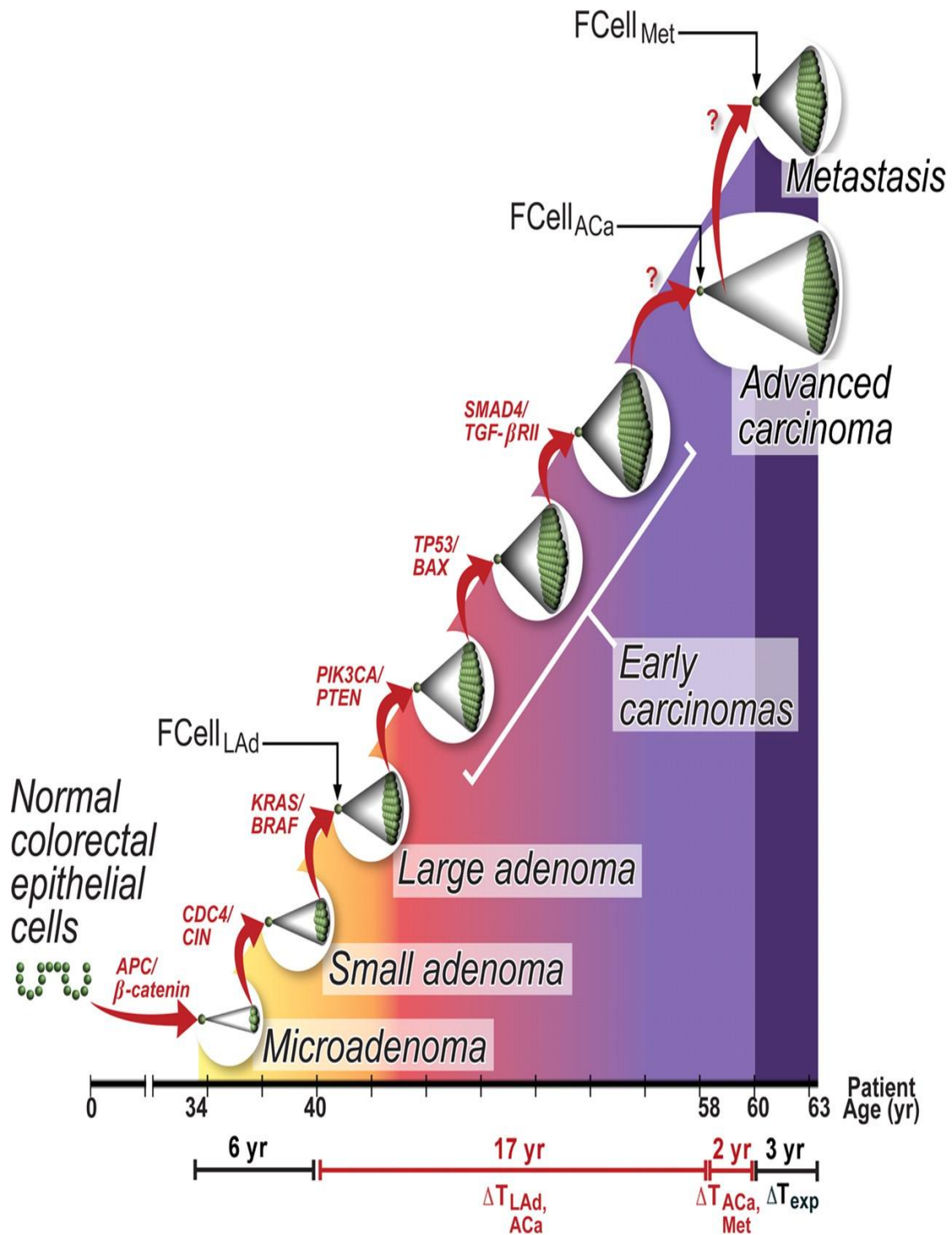
Ο τελευταίος ανήκει σε μια οικογένεια πολυπεπτιδίων με σηματοδοτικό ρόλο και η δράση του συγκεκριμένα έχει να κάνει με την καταστολή της αύξησης των περισσότερων φυσιολογικών κυττάρων, μέσω της σύνδεσής του σε δύο

διαμεμβρανικούς κυτταρικούς υποδοχείς, τους TGFBR1 και TGFBR2, οι οποίοι απουσιάζουν από αρκετά καρκινικά κύτταρα, καθιστώντας τα ανθεκτικά στην κατασταλτική δράση αυτού του παράγοντα.

Το γονίδιο SMAD4 και η αντίστοιχη πρωτεΐνη θεωρούνται απαραίτητα για την σωστή σηματοδότηση μέσω του TGF-beta και, τουλάχιστον σε in vitro μοντέλα, έχει φανεί ότι καλλιέργειες κυττάρων του ορθοκολικού καρκινώματος που φέρουν αλλαγές στο γονίδιο αυτό, είναι δυνατόν να επανέλθουν σε φυσιολογική λειτουργία της σηματοδοτικής οδού TGF-beta, μέσω της εισαγωγής σε αυτά ενός φυσιολογικού χρωμοσωμικού άκρου 18q (Goyette MC, Cho K, Fasching CL, et al, 1992).

Απώλεια της λειτουργίας της πρωτεΐνης SMAD4, αλλά και μιας λιγότερο σημαντικής, συγγενούς με αυτήν πρωτεΐνης, της SMAD2, λόγω σωματικών μεταλλάξεων των αντίστοιχων γονιδίων στο χρωμόσωμα 18q, έχει βρεθεί σε ένα (μικρό σχετικά ποσοστό) ορθοκολικών καρκίνων. Πιο σημαντικό όμως είναι το γεγονός ότι γενετικές μεταλλάξεις του SMAD4 επίσης έχουν αναγνωριστεί σε ασθενείς με νεανική πολυποδίαση παχέος εντέρου, οι οποίοι αναπτύσσουν πολυάριθμους νεανικού τύπου πολύποδες (διαφορετικούς από τους κλασικούς αδενωματώδεις) με σχετικώς αυξημένο κίνδυνο μετάπτωσής τους σε διηθητικό καρκίνωμα.

Τέλος, η διαταραχή στην οδό σηματοδότησης του TGF-beta στον ορθοκολικό καρκίνο, πέρα από τον ανωτέρω περιγραφέντα μηχανισμό μέσω της SMAD4 πρωτεΐνης, μπορεί να συμβεί και με απενεργοποιητικές μεταλλάξεις του TGFBR2 υποδοχέα, αλλά και με άλλες μοριακές αλλαγές που τροποποιούν την δράση του TGF-beta με αποτέλεσμα η ανασταλτική του λειτουργία να μετατρέπεται σε ευοδωτική ως προς την κυτταρική ανάπτυξη.



Εικόνα 13 : Ακολουθία γενετικών διαταραχών στην χρονική πορεία εξέλιξης από το αρχόμενο μικροαδένωμα έως και το προχωρημένο καρκίνωμα του παχέος εντέρου.

6.3 ΓΟΝΙΔΙΑ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ ΑΝΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΑΣ ΒΑΣΕΩΝ (MISMATCH REPAIR-MMR GENES)

Τα γονίδια επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας βάσεων (mismatch repair – MMR genes) είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση των αναπόφευκτων, λόγω της συνεχούς και ταχείας λειτουργίας αντιγραφής του γονιδιώματος, λαθών στην τοποθέτηση των συμβατών νουκλεοτιδικών βάσεων στην σωστή τους θέση, καθώς και την επαναφορά τυχόν μικροπροσθηκών ή μικροδιαγραφών (μικρού μήκους – ολιγονουκλεοτιδικών) αλληλουχιών (Chung DC, Rustgi AK.,1995). Αρκετά είναι τα γονίδια που φέρουν αυτόν τον ρόλο, με τα σημαντικότερα εξ' αυτών να είναι τα εξής: hMSH2 (Human mutS homolog 2), hMLH1 (Human mutL homolog 1), hPMS1 και hPMS2 (Human postmeiotic segregation 1 and 2), hMSH6 (human mutS homolog 6), καθώς και το hMLH3, ένα γονίδιο που αλληλοεπιδρά με το MLH1 (εικόνα 14).

<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Human	Functions of Eukaryotic Proteins
MutS	MSH2	MSH2	MutS α (with MSH6; 80-90%); MutS β (with MSH3)
"	MSH3	MSH3	MutS β (with MSH2); repair of larger loops
"	MSH6	MSH6	MutS α (with MSH2); repair of mismatches and small loops
MutL	MLH1	MLH1	Forms heterodimers with the other three MutL homologs
"	PMS1	PMS2	MutL α (90%); Mismatch repair; endonuclease motif
"	MLH2	PMS1	MutL β ; Role unknown
"	MLH3	MLH3	MutL γ ; Mismatch repair; endonuclease motif
MutH	?	?	?
uvrD	?	?	?
?	Exonuclease I	Exonuclease I	Excision (5' to 3' polarity)
?	RFC, PCNA, Pol γ	RFC, PCNA, Pol γ	Nick identification; gap filling

Εικόνα 14 : Γονίδια επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας βάσεων στον άνθρωπο και τα ανάλογά τους σε άλλους οργανισμούς.

Γενετικές (germline) μεταλλάξεις κάποιου/ων από αυτά τα γονίδια είναι το υποκείμενο γονιδιακό υπόβαθρο σε συγγενείς που πάσχουν από το

σύνδρομο Lynch, ενώ απώλεια της έκφρασης αυτών των γονιδίων επίσης ανευρίσκεται και σε ένα ποσοστό περίπου 15% των σποραδικών καρκίνων όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη παράγραφο (Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al.,1998). Αποτέλεσμα δε αυτών των γονιδιακών διαταραχών είναι οι όγκοι που τις φέρουν να χαρακτηρίζονται από την λεγόμενη «υψηλή» μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-H) λόγω του υπολειπουργούντος συστήματος επιδιόρθωσης λαθών βάσεων.

Βέβαια, στην περίπτωση των σποραδικών καρκίνων, η προβληματική αυτή λειτουργία συχνά δεν οφείλεται σε γενετικές μεταλλάξεις, αλλά σε επιγενετικές αλλαγές (π.χ. μεθυλίωση των υποκινητών και των δύο αλληλίων του γονιδίου MLH1) που προκαλούν την «αποσιώπηση» της έκφρασης των γονιδίων. Στις λοιπές (σαφώς λιγότερες ποσοτικά και αναλογικά) περιπτώσεις των σποραδικών καρκίνων με αυτή την διαταραχή, η οποία και μοιάζει με το σύνδρομο Lynch, οι ασθενείς δεν φέρουν ούτε γενετικές μεταλλάξεις, ούτε επιγενετικές αλλαγές στον μηχανισμό επιδιόρθωσης, με τουλάχιστον μερικούς από αυτούς (ατυχώς) να έχουν σωματική μετάλλαξη αμφότερων των αλληλίων αυτών των γονιδίων (Sourrouille I, Coulet F, Lefevre JH, et al.,2013). Το συνολικό ρίσκο ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου σε αυτές τις περιπτώσεις είναι μικρότερο από το αυτό στο σύνδρομο Lynch, αλλά αναλογικά αυξημένο από το αντίστοιχο στον σποραδικό καρκίνο.

Έχει παρατηρηθεί, τέλος, και ένα ακόμα μικρότερο ποσοστό περιπτώσεων με ασθενείς οι οποίοι πληρούν τα κλινικά κριτήρια υπαγωγής στο σύνδρομο Lynch (τα ανωτέρω αναφερόμενα κριτήρια του Amsterdam), χωρίς όμως να φέρουν σαφείς διαταραχές στο σύστημα επιδιόρθωσης βάσεων, με το τελευταίο να εμφανίζει επαρκή λειτουργικότητα. Αυτό το σύνολο των περιπτώσεων αναφέρεται κάποιες φορές ως οικογενές σύνδρομο ορθοκολικού καρκίνου τύπου X και, σε αντίθεση με τους ασθενείς του συνδρόμου Lynch, αυτό δεν συνδυάζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης όγκων σε άλλες, εξωεντερικές, εντοπίσεις, ιστοπαθολογικά οι όγκοι του παχέος εντέρου δεν έχουν τα χαρακτηριστικά των αντίστοιχων του συνδρόμου Lynch, ενώ από γενετικής άποψης το όλο σύνδρομο πιθανώς να οφείλεται σε κάποια διαταραχή που ακόμα δεν έχει διευκρινισθεί εντελώς, αν και έχουν παρατηρηθεί κάποιες χρωμοσωμικές διαταραχές (π.χ. προσθήκες στο άκρο 20q και απάλειψή του

άκρου 18q) σε αυτές τις περιπτώσεις (Therkildsen C, Jönsson G, Dominguez-Valentin M, et al.,2013).

6.4 ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ MUTYH

Ένα μικρό ποσοστό ασθενών με πολλαπλά αδενώματα στο παχύ έντερο, αλλά και οικογενειακό ιστορικό ορθοκολικού καρκίνου, φέρουν γενετικές μεταλλάξεις (συχνά και στα δύο αλληλίες) του γονιδίου MUTYH (mutY homolog), το οποίο λειτουργεί ως γονίδιο επιδιόρθωσης μέσω εκτομής (excision) βάσεων, με τις εν λόγω μεταλλάξεις να συνδυάζονται συχνά και με σωματικές μεταλλάξεις του γονιδίου APC (Sampson JR, Dolwani S, Jones S, et al.,2003). Το σύνολο αυτών των διαταραχών σε κλινικό επίπεδο προκαλούν, στους ασθενείς που πάσχουν από αυτές, μια υπολειπόμενα κληρονομούμενη προδιάθεση ανάπτυξης πολλαπλών παχυεντερικών αδενωμάτων, στα πλαίσια μιας ποικιλίας του ήδη αναφερόμενου οικογενούς συνδρόμου πολυποδίασης (FAP), η οποία συχνά αναφέρεται ως πολυποδίαση σχετιζόμενη με το γονίδιο MUTYH (MUTYH-associated polyposis / MAP).

Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο συνδρόμων, με ανάλογες κλινικές προεκτάσεις κυρίως σε επίπεδο παρακολούθησης (screening), είναι ότι το μεν σύνδρομο FAP κληρονομείται με αυτοσωματικό κυρίαρχο, το δε MAP με υπολειπόμενο πρότυπο από γενιά σε γενιά ασθενών, με το τελευταίο να θεωρείται σε κάποιες μελέτες όλο και περισσότερο υπεύθυνο για την εμφάνιση περιπτώσεων του κληρονομούμενου ορθοκολικού καρκίνου (Enholm S, Hienonen T, Suomalainen A, et al.,2003). Τέλος, τα ορθοκολικά καρκινώματα που αναπτύσσονται επί εδάφους συνδρόμου MAP ίσως να έχουν καλύτερη συνολική πρόγνωση, μια παρατήρηση η οποία χρειάζεται περαιτέρω μελέτες για να αποδειχθεί.

6.5 ΓΟΝΙΔΙΑ – ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΕΣ (MODIFIER GENES)

Εκτός από τα ανωτέρω περιγραφόμενα γονίδια και τις ανάλογες διαταραχές τους, υπάρχουν και αρκετά άλλα, τα οποία φαίνεται να είναι σημαντικά στην καρκινογένεση στο παχύ έντερο, αν και ο ακριβής ρόλος και ο μηχανισμός δράσης τους δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητοί.

Ένα αυξανόμενο ποσοστό πρόσφατων μελετών υποστηρίζει τον προστατευτικό ρόλο της ασπιρίνης αλλά και άλλων πιο σύγχρονων αναστολέων της κυκλοοξυγενάσης (COX) στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου (Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, et al.,2010). Έχει παρατηρηθεί, μεταξύ άλλων, ότι η χρήση τέτοιου τύπου φαρμακευτικών ουσιών μπορεί να προκαλέσει υποστροφή των πολυπόδων στο σύνδρομο FAP, καθώς και καθυστέρηση της εμφάνισης δυσπλαστικών αλλοιώσεων του παχυντερικού επιθηλίου σε περιπτώσεις ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (π.χ. ελκώδη κολίτιδα). Ο υποκείμενος μηχανισμός, αν και όχι πλήρως κατανοητός ακόμα, φαίνεται ότι επηρεάζεται από το γονίδιο COX-2, το οποίο επίσης εμφανίζεται με αυξημένη έκφραση στα κύτταρα του ορθοκολικού καρκινώματος.

Ένα άλλο γονίδιο, αυτό του υποδοχέα της αύξησης και ενεργοποίησης των υπεροξυσωμάτων (peroxisome proliferator–activating receptor / PPAR) επίσης έχει συνδεθεί με την παχυντερική καρκινογένεση. Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί μια πρωτεϊνική οικογένεια πυρηνικών υποδοχέων που δρουν ως ρυθμιστές της μεταγραφής γονιδίων που ελέγχουν τον μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και την κυτταρική αύξηση. Η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων φυσιολογικά αναστέλλει την κυτταρική αύξηση και προάγει την διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, μεταξύ αυτών και του εντερικού επιθηλίου, ενώ η λειτουργία τους σε κυτταρικό επίπεδο επηρεάζεται τόσο από τον σηματοδοτικό καταρράκτη στον οποίο εμπλέκεται το γονίδιο APC, όσο και από τον αντίστοιχο των κυκλοοξυγενασών, μεταξύ άλλων παραγόντων (He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW.,1999).

Τόσο το γονίδιο COX-2, όσο και αυτό του PPAR, αποτελούν αντικείμενα εντατικής κλινικής και βασικής επιστημονικής μελέτης, σε συνδυασμό και με τις περιβαλλοντικού τύπου παρατηρήσεις που αναφέρθηκαν σε προηγούμενες υποπαραγράφους, π.χ. στα πλαίσια των περιβαλλοντικών παραγόντων που σχετίζονται με τον ορθοκολικό καρκίνο (λήψη ΜΣΑΦ, παχυσαρκία, κλπ.)

7. ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ (MSI-H έναντι MSI-L)

Τα κύτταρα αυτά τα οποία παρουσιάζουν διαταραχές στον μηχανισμό επιδιόρθωσης της αναντιστοιχίας στην συμπληρωματικότητα των βάσεων κατά την διάρκεια της αντιγραφής του γονιδιακού τους υλικού, συσσωρεύουν βλάβες του DNA σε όλο το μήκος του γονιδιώματός τους. Οι βλάβες αυτές εντοπίζονται σε επαναλαμβανόμενες μικρού μήκους (μονονουκλεοτιδικές ή δινουκλεοτιδικές) αλληλουχίες βάσεων, που επαναλαμβάνονται κατά δεκάδες έως εκατοντάδες φορές μέσα στο γονιδίωμα και οι οποίες ονομάζονται μικροδορυφόρες αλληλουχίες (microsatellites). Πολλά βασικά γονίδια που ρυθμίζουν την κυτταρική αύξηση και ανάπτυξη (όπως για παράδειγμα τα TGFRB2, IGF2R, τα γονίδια της οικογένειας BAX, κλπ.) περιέχουν τέτοιες μικροδορυφόρες αλληλουχίες στην περιοχή των εκκινήτών τους και ως εκ τούτου είναι ευαίσθητα σε μεταλλάξεις αυτών των ακολουθιών, οι οποίες προκαλούν και διαταραχή του μεταγραφικού πλαισίου τους (frameshift mutations). Αυτό το γεγονός έχει σαν τελικό αποτέλεσμα το προσβεβλημένο κύτταρο να είναι ευπαθές σε μεταλλάξεις αυτών των ρυθμιστικών της ανάπτυξης του γονιδίων και το όλο φαινόμενο ονομάζεται «μικροδορυφορική αστάθεια».

Πολλοί, αν και όχι όλοι, από τους καρκίνους του παχέος εντέρου που εμφανίζουν διαταραχές στην λειτουργία των γονιδίων MMR μπορούν να ταυτοποιηθούν από την παρουσία «υψηλής» μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-H), με τους όγκους που αναπτύσσονται σε ασθενείς που πάσχουν από το σύνδρομο Lynch να είναι το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα, ενώ όπως έχει ήδη αναφερθεί και προηγουμένως, ένα ποσοστό έως και 15% του συνόλου των σποραδικών καρκινωμάτων επίσης χαρακτηρίζονται από αυτό το φαινόμενο.

Σε αντίθεση με τους όγκους που χαρακτηρίζονται «σταθεροί» ως προς την παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-stable), οι όγκοι με την παρουσία αυτής της διαταραχής, είτε στα πλαίσια οικογενούς συνδρόμου, είτε και σποραδικοί, εμφανίζουν ένα χαρακτηριστικό κλινικοπαθολογοανατομικό προφίλ. Συγκεκριμένα, αυτοί τείνουν να αναπτύσσονται στο εγγύς – δεξιό κόλον, εμφανίζουν μεγαλύτερη παραγωγή βλέννης, έντονη λεμφοκυτταρική φλεγμονώδη περινεοπλασματική αντίδραση και είναι συχνότερα χαμηλής

διαφοροποίησης. Παρά βέβαια την χαμηλή τους διαφοροποίηση, έχει παρατηρηθεί ότι εμφανίζουν καλύτερη πρόγνωση, κάτι που φαίνεται να σχετίζεται και με την παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας, αν και ο πλήρης μηχανισμός αυτού του φαινομένου δεν έχει ακόμα πλήρως αποσαφηνιστεί.

Ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1990, υπάρχουν μελέτες βάσει των οποίων προτείνεται η αναζήτηση διαταραχών σε κάποιες συγκεκριμένες μονο- ή δινουκλεοτιδικές αλληλουχίες, με τις σημαντικότερες εξ' αυτών να θεωρούνται οι μονονουκλεοτιδικές επαναλήψεις BAT25 και BAT26, καθώς και οι αντίστοιχες δινουκλεοτιδικές D5S346, D2S123 και DÅ17S25 (Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al., 1998), οι οποίες στο σύνολό τους και σε συνδυασμό αποτελούν ένα αξιόπιστο εργαλείο ελέγχου παρουσίας του φαινομένου της μικροδορυφορικής αστάθειας. Βέβαια, για τον εν λόγω έλεγχο απαιτούνται ειδικές μοριακές τεχνικές οι οποίες, αν και δίνουν μια άμεση εικόνα, εντούτοις είναι αρκετά ακριβές και για αυτό τον λόγο δύσκολο να χρησιμοποιηθούν στην καθημερινή πρακτική.

Στις μέρες μας, αρκετά εργαστήρια έχουν την δυνατότητα να ελέγξουν την παρουσία διαταραχών σε τέσσερα από τα σημαντικότερα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA, όπως αυτά αναφέρθηκαν και σε προηγούμενη παράγραφο (MSH2, MLH1, MSH6, και PMS2), βάσει της ανοσοϊστοχημικής τους έκφρασης από τα κύτταρα του όγκου και με αυτόν τον τρόπο να υποδειχθεί εμμέσως η πιθανή παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας, ώστε αυτή να ελεγχθεί και να επιβεβαιωθεί αργότερα και σε μοριακό επίπεδο (De la Chapelle A, Hampel H., 2010). Σε ένα ποσοστό περίπου 40% τα καρκινώματα που ελέγχονται ως προς την παρουσία πιθανής αστάθειας εμφανίζουν διαταραχές σε τουλάχιστον δύο από αυτά τα γονίδια (>2), οπότε και χαρακτηρίζονται ως όγκοι «υψηλής» μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-H). Ένα παραπλήσιο ποσοστό (40%) δεν εμφανίζουν διαταραχές των γονιδίων και χαρακτηρίζονται ως «σταθεροί» όγκοι (MSI-stable).

Υπάρχει όμως και ένα ποσοστό όγκων με διαταραχή σε ένα μόνο από τα εν λόγω γονίδια (1), με τους τελευταίους να χαρακτηρίζονται ως όγκοι «χαμηλής» μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-L), ενώ η σημασία αυτού του ευρήματος δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητή. Αν και δεν συνδέεται με

αποσιώπηση του γονιδίου MLH1 ή άλλων γονιδίων MMR, υπάρχουν ενδείξεις υπέρ της άποψης ότι αυτό δεν αποτελεί τυχαίο περιστατικό, αλλά ότι έχει κάποια βιολογική βάση (Halford S, Sasieni P, Rowan A, et al.,2002), με τα επικρατέστερα σενάρια να είναι τα εξής δύο:

α) οι σποραδικοί όγκοι που έχουν «χαμηλή» αστάθεια (MSI-L) πιθανόν να εμφανίζουν απώλεια ενός δευτερεύοντος επιδιορθωτικού γονιδίου, του MSH3 (MutS Homolog 3) – (Haugen AC, Goel A, Yamada K, et al.,2008).

β) οι όγκοι αυτοί έχουν επίσης συσχετισθεί με την μεθυλίωση του υποκινητή ενός άλλου επιδιορθωτικού γονιδίου, της μεθυλοτρανσφεράσης της O-6 μεθυλογουανίνης του DNA (O⁶-MethylGuanine DNA MethylTransferase - MGMT). Η απώλεια αυτού του γονιδίου προκαλεί συσσώρευση μεθυλιωμένων ζευγών γουανίνης:τυροσίνης, η οποία προκαλεί με την σειρά της πίεση στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA και τελικά την εμφάνιση του MSI-L φαινοτύπου (Whitehall VL, Walsh MD, Young J, et al.,2001). Η απάλειψη του γονιδίου MGMT ή/και η μεθυλίωση του υποκινητή του, αν και σπάνια εμφανίζονται στο σύνδρομο Lynch, έχει παρατηρηθεί ότι σε ποσοστό 25% συμβαίνει στα επίπεδα οδοντωτά αδενώματα/πολύποδες του παχέος εντέρου (sessile serrated adenomas/polyps – SSA/P), με το ποσοστό αυτό να είναι αντίστοιχα 75% όταν συνυπάρχουν δυσπλαστικές αλλοιώσεις (SSA/P with dysplasia) και 50% στα οδοντωτά αδενοκαρκινώματα.

Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι παράγοντες που οδηγούν σε εμφάνιση MSI-L φαινοτύπου είναι σημαντικοί στην οδό καρκινογένεσης της οδοντωτής νεοπλασίας/υπερμεθυλίωσης (serrated/CIMP pathway). Πάντως, όπως και να έχει, ο φαινότυπος αυτός σχετίζεται γενικώς με χειρότερη κλινική πορεία του ασθενούς (Lee SY, Kim DW, Lee HS, et al.,2015).

Το σύνολο των ανωτέρω περιγραφόμενων διαταραχών και η σχέση τους με τις αντίστοιχες οδούς καρκινογένεσης δίνεται παραστατικά στον κάτωθι πίνακα (πίνακας 5).

Μοριακές οδοί ορθοκολικού καρκίνου					
	Οδός χρωμοσωμικής αστάθειας (CIN)	Οδός μη επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας βάσεων (MMR)- Υπερμεταλλακτικός φαινότυπος	Κύρια οδοντωτή/CIMP οδός		Υβριδική οδοντωτή οδός
	Κληρονομική (FAP) και σποραδική μορφή	Κληρονομική μορφή (Σύνδρομο Lynch)	(Κληρονομική και σποραδική) SSA TSA		Σποραδική μορφή
Κατάσταση CIMP	Αρνητική	Αρνητική	Υψηλή	Υψηλή	Χαμηλή
Κατάσταση MSI	MSS	MSI-H	MSI-H	MSI-L	MSI-L ή MSS
Χρωμοσωμική αστάθεια (CIN)	Παρούσα	Απούσα	Απούσα	Απούσα	Παρούσα
Μεταλλαγή του KRAS	+++	+/-	---	---	+++
Μεταλλαγή του BRAF	---	---	+++	+++	---
Κατάσταση του MLH1	Φυσιολογική	Μεταλλαγή	Μεθυλιωμένη	Μερική μεθυλίωση	Φυσιολογική
Μεθυλίωση υποκινητή του γονιδίου της MGMT	---	---	+/-	+++	+++

Πίνακας 5: Μοριακές οδοί ορθοκολικού καρκίνου (CIMP: CpG Island Methylation Profile, MSI: Microsatellite Instability, CIN: Chromosomal Instability, MGMT: O⁶-MethylGuanine DNA MethylTransferase, SSA: Sessile Serrated Adenomas, TSA: Traditional Serrated Adenomas)

8. ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗΣ

Από το σύνολο των πληροφοριών που αναλύθηκαν στις παραπάνω ενότητες φαίνεται ότι τελικά ο ορθοκολικός καρκίνος δεν είναι μια ομοιογενής νόσος, αλλά μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε επιμέρους υπότυπους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες μοριακές και μορφολογικές διαφοροποιήσεις. Βάσει αυτών των ευρημάτων, τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει ορισμένες μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες, με σκοπό την καλύτερη κατανόηση των διαφορετικών μονοπατιών που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ορθοκολική καρκινογένεση και την καλύτερη ταξινόμηση των διαφόρων υποτύπων του ορθοκολικού καρκίνου σε μοριακές υποκατηγορίες.

8.1 The Cancer Genome Atlas (TCGA)

Η μία εξ' αυτών των προσπαθειών, το λεγόμενο «σχέδιο του Άτλαντα του Καρκινικού Γονιδιώματος» (The Cancer Genome Atlas project / TCGA) βασίστηκε σε μία ευρεία μελέτη τόσο των γονιδιακών όσο και των μεταγραφικών χαρακτηριστικών του ορθοκολικού καρκίνου χρησιμοποιώντας τεχνολογίες μοριακής γενετικής, όπως αλληλούχιση και βασισμένη σε συστοιχίες (sequencing and array-based) μελέτη του καρκινικού γονιδιώματος. Πιο συγκεκριμένα, η πολυκεντρική αυτή μελέτη, που διενεργήθηκε με την συμβολή πάνω από 300 συνεργαζόμενων επιστημόνων και φορέων και τα αποτελέσματα της οποίας ανακοινώθηκαν το 2013, συγκέντρωσε δείγματα από 276 ασθενείς και συνολικά 224 καρκίνους καθώς και ανάλογα φυσιολογικά δείγματα, όπου μελετήθηκαν ένα σύνολο μοριακών/γενετικών παραμέτρων, όπως ανάλυση των διαταραχών στον αριθμό των χρωμοσωμάτων (somatic copy number alterations / SCNA - παρουσία ανευπλοειδίας), μελέτη της μεθυλίωσης των εκκινητών ενός συνόλου γονιδίων, καθώς και αντίστοιχη μελέτη των μεταγραφικών RNA (mRNA) και των microRNA. Επίσης ένα σύνολο περί των 100 δειγμάτων υποβλήθηκε σε αλληλούχιση του συνόλου του καρκινικού γονιδιώματος (The Cancer Genome Atlas Network, 2012).

Η ανάλυση αυτών των παραμέτρων απέδειξε ότι οι όγκοι του παχέος εντέρου και του ορθού μπορούν να διαχωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό των μεταλλάξεων που εμφανίζουν: 1) όγκοι που δεν είναι υπερμεταλλαγμένοι (non-hypermutated), με συχνότητα εμφάνισης και

χαρακτηριστικά που αντιστοιχούν στην μοριακή οδό που αφορά την χρωμοσωμική αστάθεια (Chromosomal Instability / CIN), όπως αυτή περιεγράφηκε σε προηγούμενα κεφάλαια, και 2) όγκοι υπερμεταλλαγμένοι (hypermuted), που σχετίζονται με την έτερη μεγάλη μοριακή οδό, αυτή της μικροδορυφορικής αστάθειας (Microsatellite Instability / MSI).

Οι τελευταίοι μπορούν επιπλέον να χωριστούν σε δύο ακόμα υποκατηγορίες, α) τους υπερμεταλλαγμένους (hypermuted) όγκους λόγω διαταραγμένης λειτουργίας του συστήματος επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας βάσεων (mismatch repair / MMR), είτε λόγω μεθυλίωσης του εκκινητή του γονιδίου MLH1 (κυρίως), είτε λόγω μεταλλάξεών του, αλλά και β) τους “ακόμα περισσότερο” μεταλλαγμένους (ultramuted) όγκους, οι οποίοι είναι ακόμα σπανιότεροι και οφείλονται σε μετάλλαξη της πολυμεράσης Ε (POLE), ή της πολυμεράσης D1 (POLD1), με τελικό αποτέλεσμα της αδυναμία επιδιόρθωσης λανθασμένων νουκλεοτιδικών ζευγών κατά την αντιγραφή του DNA.

Τα βασικά χαρακτηριστικά αυτών των κατηγοριών φαίνονται σχηματικά στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 6).

Κατηγορία όγκων	Non- hypermutated/CIN/MSS	Hypermutated/MMR defective/MSI	Ultramutated/POLE defective
Συχνότητα μεταλλάξεων	Μικρή (+)	Συχνή (+++)	Πολύ συχνή (++++)
Χρωμοσωμικές διαταραχές (ελλείψεις, απώλειες, διαμεταθέσεις, κλπ. – SCNA)	Συχνές (+++)	Λιγότερο συχνές (+)	Σπάνιες (+/-)
Βασική μοριακή/γενετική διαταραχή	Ένα σύνολο μεταλλαγμένων γονιδίων, έντονη ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού WNT (λόγω διαταραγμένης λειτουργίας του γονιδίου APC)	Διαταραχή του συστήματος επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας βάσεων (MMR)/μεθυλίωση του εκκινητή του γονιδίου MLH1	Μετάλλαξη της πολυμεράσης Ε (POLE)
Κύριος ιστολογικός τύπος	Μέσης διαφοροποίησης αδενοκαρκίνωμα	Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα, με παρουσία κυττάρων τύπου δακτυλιδιού (signet ring), ή χαμηλής διαφοροποίησης	Μέσης διαφοροποίησης αδενοκαρκίνωμα
Ποσοστό εμφάνισης στο σύνολο των ορθοκολικών καρκίνων	84%	13%	3%
Πρόγνωση	Από καλή έως χαμηλή (ανάλογα και με άλλα χαρακτηριστικά του όγκου)	Εν γένει καλή/κακή μετά από υποτροπή	Μάλλον καλή

Πίνακας 6: Κλινικά, ιστομορφολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά των κατηγοριών του ορθοκολικού καρκίνου βάσει της TCGA ταξινόμησης. (SCNA: Somatic Copy Number Alterations)

Σε επίπεδο μοριακών διαταραχών, η μελέτη αυτή απέδειξε επίσης ότι ένα σύνολο γονιδίων εμφανίζουν συχνές και επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις, με την συχνότητα αυτή να διαφέρει ανάλογα με την κατηγορία των όγκων, όπως φαίνεται σχηματικά και στον πίνακα σε σχέση με μερικά από τα καλύτερα μελετημένα εξ' αυτών (πίνακας 7).

Γονίδιο	Non-hypermuted	Hypermuted
APC	81%	51%
TP53	60%	20%
KRAS	43%	----
TTN	31%	----
PIK3CA	18%	----
FBXW7	11%	----
SMAD4	10%	----
NRAS	9%	----
SMAD2	6%	----
CTNNB1	5%	----
ACVR2A	----	63%
TGFBR2	----	51%
BRAF	----	46%
MSH3	----	40%
MSH6	----	40%
MYOB1	----	31%
TCF7L2	9%	31%
CASP8	----	29%

Πίνακας 7: Συχνότητα εμφάνισης μεταλλάξεων γονιδίων στις δύο μεγάλες μοριακές κατηγορίες του ορθοκολικού καρκίνου βάσει της TCGA ταξινόμησης.

Ως λειτουργικό αποτέλεσμα αυτών των μεταλλάξεων συχνά παρατηρούνται διαταραχές των σηματοδοτικών μονοπατιών του κυττάρου με αυτόνομη ενεργοποίηση των μονοπατιών WNT, MAPK και PI3K, καθώς και απενεργοποίηση των αντίστοιχων ανασταλτικών TGF- β και P53. Επίσης, σχεδόν στο σύνολο των όγκων του παχέος εντέρου φαίνεται να υπάρχει υπερλειτουργία του μεταγραφικού παράγοντα MYC, λόγω της ενεργοποίησης του μονοπατιού WNT, ή/και δυσλειτουργίας της σηματοδότησης του TGF- β μονοπατιού.

Η μελέτη αυτή καταλήγει ότι πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις ανάλογα με την κατηγορία στην οποία υπάγεται ο εκάστοτε όγκος, και ανεξαρτήτως από τις ήδη γνωστές και χρησιμοποιούμενες θεραπείες ή/και σε συνδυασμό με αυτές, οφείλουν να στοχεύουν εκλεκτικά σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες-μεταφορείς σήματος, όπως οι IGF2, IGFR, ERBB2, ERBB3, MEK, AKT, mTOR, κλπ., καθώς και άλλες που βασίζονται σε αναστολείς του μονοπατιού WNT.

8.2 The Consensus Molecular Subtypes

Η έτερη μεγάλη πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη της γονιδιακής έκφρασης των ορθοκολικών καρκινωμάτων, η λεγόμενη «συναινετική μοριακή υποκατηγοριοποίηση» (The Consensus Molecular Subtypes / CMS classification) βασίστηκε σε μια πολυεθνική ταυτόχρονη προσπάθεια, τα αποτελέσματα της οποίας δημοσιεύθηκαν το 2015 και η οποία κατέληξε στην ανάδειξη τεσσάρων «συναινετικών» υποτύπων του ορθοκολικού καρκίνου, αφού αναλύθηκαν δεκαοκτώ διαφορετικά σύνολα γονιδιακής έκφρασης του και περιλαμβάνοντας στοιχεία από την παραπάνω αναφερόμενη TCGA μελέτη, όσο και μελέτη της ανευπλοειδίας (SCNA) που εμφάνιζαν ένα υποσύνολο των ελεγχθέντων δειγμάτων (Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al., 2015).

Οι κατηγοριοποίηση αυτή περιλαμβάνει τους εξής τέσσερεις υπότυπους:

α) CMS1 (MSI immune, 14%) : Σε αυτόν εντάσσονται όγκοι υπερμεταλλαγμένοι (hypermutated) λόγω διαταραχής της λειτουργίας των γονιδίων επιδιόρθωσης της αναντιστοιχίας βάσεων του DNA (MMR defect) με συνοδό μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) και αποσιώπηση (silencing) του γονιδίου MLH1, καθώς και υψηλό ποσοστό μεθυλίωσης (CIMP-high) και συχνές

μεταλλάξεις του γονιδίου BRAF, αλλά απουσία ανευπλοειδίας (SCNA negative).

Αυτός ο υπότυπος αφορά στις προηγουμένως αναφερόμενες περιπτώσεις σποραδικών καρκινωμάτων με μικροδορυφορική αστάθεια, ενώ επιπλέον η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης αυτών των περιπτώσεων ανέδειξε μια έντονη ανοσιακή ενεργοποίηση του οργανισμού έναντι αυτών των όγκων με ενεργοποίηση του PD1 και φλεγμονώδη διήθηση του όγκου από NK, Th1 και κυτταροτοξικά CD8 θετικά T-λεμφοκύτταρα, όπως αυτές αντίστοιχα φαίνονται και στην ιστοπαθολογική εξέτασή τους.

Οι ασθενείς με όγκους αυτού του υπότυπου εμφάνιζαν πολύ χαμηλή επιβίωση μετά από υποτροπή.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των καρκινωμάτων, τα οποία προηγουμένως εντάσσονταν στην οδό της χρωμοσωμικής αστάθειας (CIN) χωρίστηκαν στην μελέτη αυτή και βάσει του μεταγραφικού τους προφίλ (transcriptomic profiling) σε τρεις υπότυπους, οι οποίοι ως κοινό τους χαρακτηριστικό εμφανίζουν υψηλό ποσοστό ανευπλοειδίας (SCNA):

β) CMS2 (canonical , 37%) : Σε αυτό τον υπότυπο εντάσσονται καρκινώματα που κυρίως εμφανίζουν «επιθηλιακή» υπογραφή με έντονη ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού WNT και του γονιδίου MYC, καθώς και πολύ συχνότερη απώλεια ογκοκατασταλτικών γονιδίων και αριθμητική αύξηση ογκογονιδίων σε σχέση με τους άλλους υπότυπους.

Οι ασθενείς με όγκους αυτού του υπότυπου εμφάνιζαν καλύτερη επιβίωση μετά από υποτροπή σε σχέση με τους άλλους υπότυπους.

γ) CMS3 (metabolic , 13%) : Οι όγκοι αυτού του υπότυπου εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό ανευπλοειδίας και περιλαμβάνουν περισσότερες περιπτώσεις με υπερμεταλλαγμένο φαινότυπο (hypermuted/MSI) σε σχέση με τους υπότυπους CMS2 και CMS4, συχνές μεταλλάξεις του γονιδίου KRAS και χαμηλό ποσοστό μεθυλίωσης (CIMP-low). Η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης δείχνει ότι αυτοί οι όγκοι εμφανίζουν κυρίως «επιθηλιακή» υπογραφή, αλλά ταυτόχρονα και έντονη διαταραχή σε ένα σύνολο σηματοδοτικών και μεταβολικών κυτταρικών μονοπατιών.

δ) CMS4 (mesenchymal, 23%) : Οι όγκοι αυτού του υπότυπου εμφανίζουν αυξημένη έκφραση των γονιδίων της λεγόμενης επιθηλιομεσεγχυματικής

μετατροπής (EMT), με συνοδό έντονη ενεργοποίηση του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα β (TGF- β), καθώς και έκφραση ενός συνόλου γονιδίων που σχετίζονται με την διήθηση και αναδιάταξη του περιβάλλοντος του όγκου στρώματος (remodeling), της σχετιζόμενης με το συμπλήρωμα φλεγμονής και της αγγειογένεσης.

Οι ασθενείς με όγκους αυτού του υπότυπου εμφάνιζαν την συνολικά χειρότερη επιβίωση και την υψηλότερη συχνότητα υποτροπών σε σχέση με τους άλλους υπότυπους.

Τέλος, σε αυτή την μελέτη υπήρχε και ένα ποσοστό δειγμάτων (13%) με μικτούς χαρακτήρες, τα οποία πιθανώς να αφορούν σε ένα μεταβατικό νεοπλασματικό φαινότυπο, ή οφείλονται στην ετερογένεια των εν λόγω νεοπλασμάτων.

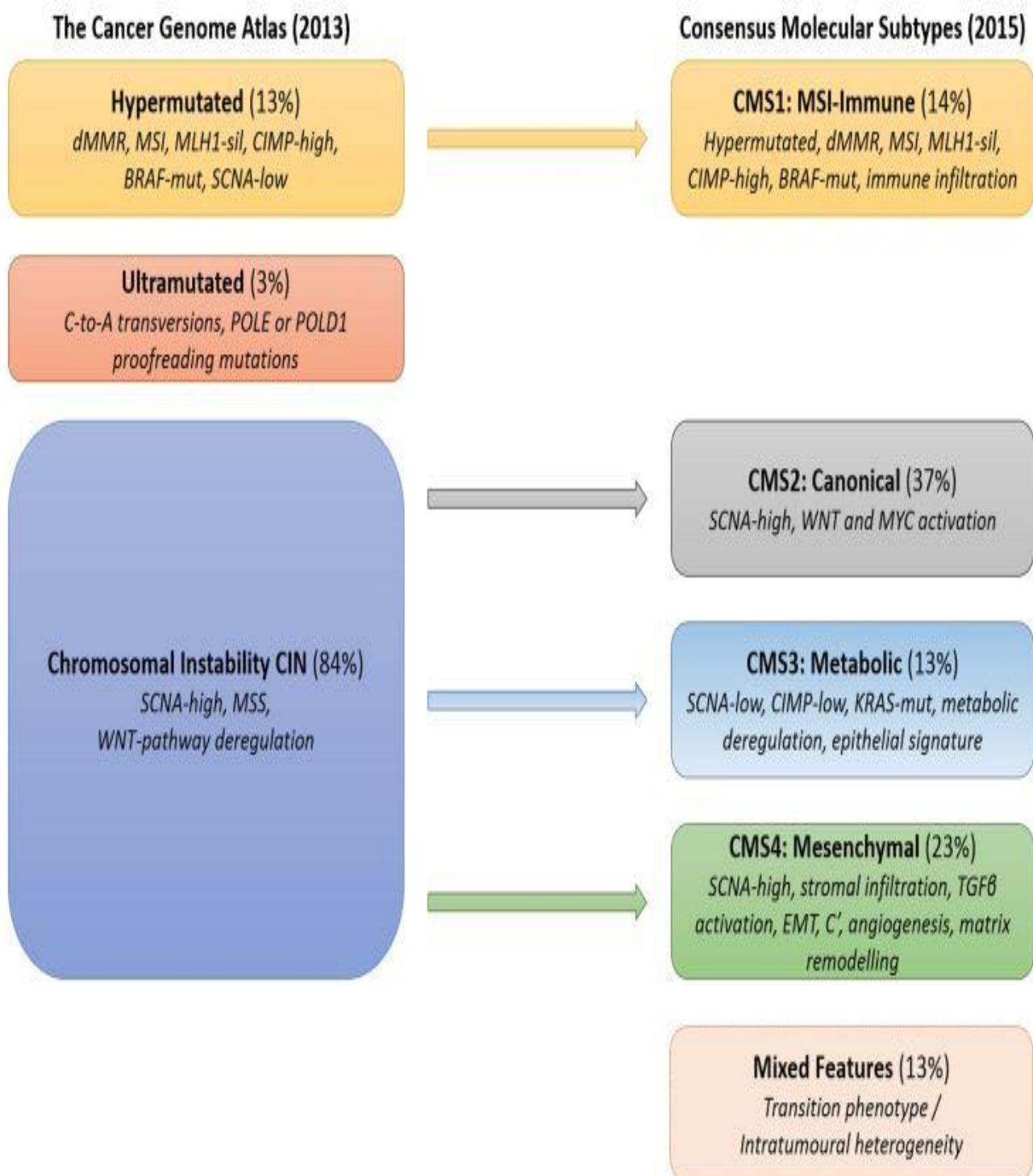
Η μελέτη αυτή (κατά βάση γενετική-μοριακή) καταλήγει στο γεγονός ότι η CMS ταξινόμηση φαίνεται να είναι η πιο κατάλληλη αυτήν την στιγμή, βάσει και των βιολογικών υπογραφών των υπό μελέτη όγκων όπως αυτές σχετίζονται με την γονιδιακή τους έκφραση, ώστε να αποτελέσει το αρχικό στάδιο για μελλοντικές κλινικές μελέτες ή/και για πιθανές στοχευμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις ανάλογα με τον μοριακό υπότυπο του όγκου του κάθε ασθενούς, στα πλαίσια της εξατομικευμένης θεραπείας του.

Ένα σημαντικό στοιχείο και των δύο ανωτέρω περιγραφόμενων πολυκεντρικών μελετών είναι η ανάδειξη των ορθοκολικών καρκινωμάτων που χαρακτηρίζονται από διαταραγμένο σύστημα επιδιόρθωσης των βάσεων του DNA (defective MMR / MSI) και η τοποθέτησή τους σε μια ιδιαίτερη, ξεχωριστή κατηγορία, σε σχέση με τους υπόλοιπους όγκους (υπερμεταλλαγμένοι - hypermutated κατά την TCGA και υπότυπος CMS1 κατά την CMS ταξινόμηση).

Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό και με άλλες μελέτες (Le DT, Uram JN, Wang H, et al.,2015) οι οποίες δείχνουν ότι οι όγκοι αυτοί φαίνεται να απαντούν καλά σε παρεμβάσεις που βασίζονται σε ανοσοθεραπεία (αντισώματα έναντι του PD-1 και επακόλουθη ενεργοποίηση των κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων), καθιστούν αυτές τις περιπτώσεις ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες σε σχέση και με το μεγάλο και σχετικά πρόσφατο θεραπευτικό κεφάλαιο που ανοίγεται για την πιθανή εκμετάλλευση της ήδη υπάρχουσας προστατευτικής ανοσιακής απόκρισης του οργανισμού εναντίον των καρκινικών κυττάρων στον

παχυεντερικό καρκίνο, αλλά και σε άλλους όγκους (με χαρακτηριστικότερο παράδειγμα τα μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα). Επιπλέον και οι «ακόμα περισσότεροι» μεταλλαγμένοι όγκοι (ultramutated κατά την TCGA ταξινόμηση), ο οποίοι οφείλονται σε μετάλλαξη της πολυμεράσης E (POLE) ή της πολυμεράσης D1 (POLD1), είναι πιθανόν να ανταποκρίνονται επίσης σε ανάλογες θεραπευτικές προσεγγίσεις, αφού και λόγω της γενετικής διαταραχής τους παράγουν ένα σύνολο καρκινικών νέο-αντιγόνων, εγείροντας έντονη απάντηση από το ανοσιακό σύστημα του οργανισμού.

Μια σχηματική απεικόνιση των ανωτέρω περιγραφόμενων συστημάτων μοριακής ταξινόμησης του ορθοκολικού καρκίνου και της μεταξύ τους σχέσης φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 15).



Εικόνα 15: Υπότυποι ορθοκολικού καρκίνου και μεταξύ τους συσχέτιση σύμφωνα με τις μοριακές ταξινομήσεις TCGA και CMS.

9. ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΒΑΣΕΙ ΤΩΝ ΠΡΟΣΦΑΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι ανωτέρω περιγραφείσες μελέτες είναι φανερό ότι έχουν σαν βασικό σκοπό την κατανόηση της νόσου που ονομάζουμε «καρκίνο του παχέος εντέρου», αλλά ο τελικός στόχος αυτών δεν πρέπει να είναι άλλος από την ανάπτυξη εφαρμογών και προσεγγίσεων οι οποίες θα βελτιώσουν και θα εξυπηρετήσουν θεραπευτικά τους ασθενείς που πάσχουν από την νόσο αυτή.

Δημιουργούνται, λοιπόν, αρκετές νέες προοπτικές στον τρόπο με τον οποίο το σύνολο αυτών των συναρπαστικών νέων δεδομένων θα μπορέσει να λειτουργήσει στην καθ' ημέρα ιατρική πρακτική, είτε αυτή εστιάζει στην πρόληψη της νόσου πριν αυτή εκδηλωθεί σε προχωρημένο στάδιο, είτε και στην θεραπεία της ήδη εγκατεστημένης νόσου, μέσω προβλεπτικών παραμέτρων ως προς την ανταπόκρισή της στους συνήθως χρησιμοποιούμενους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες ή σε ειδικότερες – στοχευμένες θεραπείες.

Στα πλαίσια της πρόληψης, εκτός την σχετικά απλή και ελάχιστα επεμβατική μέθοδο της κολονοσκόπησης που αναγνωρίζει και μπορεί να αφαιρέσει τις όποιες προδιηθητικές αλλοιώσεις, υπάρχει και η δυνατότητα ελέγχου της μικροσκοπικής αιμορραγίας στα κόπρανα (fecal occult blood testing – FOBT). Αυτή η μέθοδος πιο άμεσα επιτρέπει την αναγνώριση των ατόμων που οφείλουν να προχωρήσουν σε κολονοσκόπηση, ενώ και όπως έχει ήδη αναφερθεί σε προηγούμενο υποκεφάλαιο, γίνονται προσπάθειες ανάπτυξης συγκεκριμένων μεθόδων που θα μπορούν να ανιχνεύσουν το καρκινικό DNA σε υλικό από κόπρανα, ελέγχοντας για συγκεκριμένες μεταλλάξεις (π.χ. KRAS), με υποσχόμενα αποτελέσματα σε επίπεδο έρευνας, που όμως θα μπορούσαν ίσως σε λίγα χρόνια να χρησιμοποιηθούν και σε ευρύτερη κλινική κλίμακα.

Αυτό που έχει προχωρήσει ακόμα περισσότερο σε σχέση με την πρόληψη, είναι η υπάρχουσα προβλεπτική δυνατότητα διαχωρισμού των πασχόντων ατόμων, μετά από μελέτη υλικού από το καρκίνωμά τους, σε κατηγορίες που θα ωφεληθούν καλύτερα από διαφορετικές θεραπείες, με βάση το μοριακό προφίλ του όγκου.

Έχει παρατηρηθεί ότι από τους ασθενείς που οφείλουν να λάβουν συμπληρωματική χημειοθεραπεία (υψηλού ρίσκου ασθενείς, λόγω κλινικών και ιστοπαθολογικών κριτηρίων), μόνο ένα ποσοστό 50% ανταποκρίνεται πλήρως στο πλέον χρησιμοποιούμενο θεραπευτικό σχήμα, το γνωστό FOLFOX (συνδυασμός των 5-fluorouracil, leucovorin και oxaliplatin), ενώ αυτοί που δεν ανταποκρίνονται, υπόκεινται στις συνήθεις παρενέργειες της χημειοθεραπείας χωρίς να έχουν κάποιο θεραπευτικό όφελος. Το γεγονός αυτό προφανώς οφείλεται στον ιδιαίτερο υπότυπο στον οποίο εντάσσονται οι όγκοι αυτών των ασθενών (π.χ. όγκοι με μικροδορυφορική αστάθεια / MSI-H), ενώ αυτοί δύναται να ωφεληθούν από άλλα χημειοθεραπευτικά σχήματα. Ειδικά για την 5-fluorouracil και την oxaliplatin, γνωρίζουμε ότι δεν είναι ιδιαίτερα αποδοτικές σε τέτοιου τύπου όγκους, εξαιτίας του τρόπου δράσης τους. Συγκεκριμένα, οι ουσίες αυτές προκαλούν σχηματισμό αναντιστοιχιών στα ζεύγη των βάσεων του DNA με τελικό αποτέλεσμα την πρόκληση απόπτωσης του κυττάρου, εντούτοις σε ένα σύνολο καρκινικών κυττάρων όπου το σύστημα επιδιόρθωσης αυτών των λαθών είναι ήδη προβληματικό, υπάρχει εγγενής αντίσταση ως προς την δράση τους. Αντίθετα, όγκοι με μικροδορυφορική αστάθεια συνήθως ανταποκρίνονται καλύτερα στον παράγοντα irinotecan, ενώ οι ασθενείς που παίρνουν θεραπεία βασισμένη σε αυτόν εμφανίζουν καλύτερη πρόγνωση. Ο παράγοντας irinotecan έχει δράση αναστολέα του ενζύμου τοποϊσομεράση Ι (Topo Ι), το οποίο ξετυλίγει την διπλή έλικα του DNA κατά την αντιγραφή και επιδιόρθωσή του, ενώ η αναζήτηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του ενζύμου Topo Ι πριν την χορήγηση θεραπείας είναι ένας πιθανός τρόπος πρόβλεψης της ανταπόκρισης του όγκου στον παράγοντα αυτό.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η χρήση ειδικών αντισωμάτων που στοχεύουν στον υποδοχέα EGFR, όπως τα cetuximab και panitumumab. Ο υποδοχέας EGFR εκφράζεται στα περισσότερα ορθοκολικά καρκινώματα και μιας και αφορά στον αρχικό σταθμό της σηματοδοτικής οδού των MAPK κινασών και μάλιστα σε επιφανειακή - μεμβρανική εντόπιση στο νεοπλασματικό κύτταρο, αποτελεί έναν ιδιαίτερα ελκυστικό θεραπευτικό στόχο. Μάλιστα, ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν εντυπωσιακή ανταπόκριση στην θεραπεία με τα μονοκλωνικά αντισώματα cetuximab και panitumumab, εντούτοις αυτή επηρεάζεται δραματικά από την πιθανότητα μετάλλαξης της

πρωτεΐνης KRAS. Ο έλεγχος για ύπαρξη πιθανών μεταλλάξεων της KRAS πρωτεΐνης πρέπει να διενεργείται πάντοτε όταν υπάρχει το ενδεχόμενο χρησιμοποίησης τέτοιων αντισωμάτων στο θεραπευτικό σχήμα, διότι μια πιθανή ενεργοποιητική μετάλλαξη της καθιστά τα νεοπλασματικά κύτταρα ανθεκτικά σε τέτοιου τύπου θεραπεία, μιας και η διαταραχή της σηματοδότησης βρίσκεται σε κατώτερο επίπεδο του σηματοδοτικού μονοπατιού σε σχέση με αυτό που στοχεύουν τα φάρμακα. Η παρουσία μεταλλάξεων και στις άλλες ισομορφές της RAS πρωτεΐνης (NRAS και HRAS), ή στις πρωτεΐνες BRAF, PI3K και PTEN, φαίνεται επίσης να επηρεάζει την ανταπόκριση στην θεραπεία, αν και σε μικρότερο βαθμό.

Τέλος, όπως έχει ήδη αναφερθεί και προηγουμένως, αυτό το υποσύνολο των όγκων του παχέος εντέρου με παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας φαίνεται να είναι πιθανώς ευαίσθητο και στις ακόμα πιο πρόσφατες ανοσοθεραπευτικού τύπου παρεμβάσεις μέσω της εκμετάλλευσης της αλληλεπίδρασης των μορίων PD-1 και PDL-1 με χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος pembrolizumab (Xiao Y, Freeman GJ, 2015).

10. ΕΠΙΛΟΓΟΣ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι πλέον σαφές ότι ο ορθοκολικός καρκίνος δεν είναι μία και μόνη νόσος, αλλά αφορά σε ένα φάσμα υποτύπων και υποκατηγοριών με διαφορετικούς μεταξύ τους κλινικούς, ιστομορφολογικούς και μοριακούς χαρακτήρες, καθώς και ανάλογες προεκτάσεις στην ανταπόκριση στην θεραπεία και την συνολική πρόγνωση και επιβίωση των ασθενών που πάσχουν.

Αυτή την στιγμή είμαστε στην αρχή και μόνο μιας συναρπαστικής εποχής ανακαλύψεων και συσχετίσεων που αφορούν στην ορθοκολική καρκινογένεση, περνώντας από την κλασική ιστοπαθολογία, αλλά πάντοτε σε συνδυασμό με αυτήν, σε πιο εξειδικευμένες μοριακές τεχνικές για την ταξινόμηση και βέλτιστη αντιμετώπιση των διαφόρων περιπτώσεων. Μπορεί να μην κατανοούμε ακόμα πλήρως το σύνολο των παραμέτρων, εντούτοις οι γνώσεις μας είναι σίγουρα σε καλύτερο επίπεδο από ό,τι πριν κάποια χρόνια.

Άλλωστε όπως έδειξαν και τα παραδείγματα των ανωτέρω μελετών η συνεργατική, πολυκεντρική προσπάθεια που βασίζεται σε ταυτόχρονη εργασία ειδικών από διαφορετικές ειδικότητες είναι ίσως η μέθοδος αυτή που μπορεί να αποδώσει τα καλύτερα αποτελέσματα στην κατανόηση της παθολογίας της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου.

Επιπλέον ο ορθοκολικός καρκίνος, όντας μία από τις συχνότερες κακοήθειες στον άνθρωπο, αλλά ταυτόχρονα εύκολα προσβάσιμος μέσω ελάχιστα επεμβατικών ενδοσκοπικών μεθόδων, και με σχετικώς αποσαφηνισμένη αλληλουχία των γεγονότων που οδηγούν σε αυτόν (ακολουθία αδενώματος-καρκινώματος) μπορεί να αποτελέσει τον «οδικό χάρτη» μέσω του οποίου ανάλογες μελέτες μπορούν να σχεδιαστούν και να υλοποιηθούν και αντίστοιχα προς άλλες μορφές καρκίνου, με τελικό πάντοτε σκοπό να επωφελούνται οι πάσχοντες από τις νόσους ασθενείς, τόσο στην ποιότητα της ζωής τους, αλλά και στην συνολική τους επιβίωση.

11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Appels NM., Beijnen JH, Schellens JH. Development of farnesyl transferase inhibitors: a review. *Oncologist*. 2005 Sep;10(8):565-78.
2. Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Paraskeva C, Markowitz S, Willson JK, Hamilton S, Vogelstein B. p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res*. 1990 Dec 1;50(23):7717-22.
3. Bamia C, Lajiou P, Buckland G, et al. Mediterranean diet and colorectal cancer risk: results from a European cohort. *Eur J Epidemiol*. 2013;28: 317–328.
4. Barras D. BRAF Mutation in Colorectal Cancer: An Update. *Biomark Cancer*. 2015; 7(Suppl 1): 9–12.
5. Bienz M., Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling. *Cell*. 2000 Oct 13;103(2):311-20.
6. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998; 58:5248.
7. Burt RW. Familial risk and colorectal cancer. *Gastroenterol Clin North Am*. 1996;25:793–803.
8. Campbell PT, Patel AV, Newton CC, et al. Associations of recreational physical activity and leisure time spent sitting with colorectal cancer survival. *J Clin Oncol*. 2013;31:876–885.
9. Chung DC, Rustgi AK. DNA mismatch repair and cancer. *Gastroenterology*. 1995; 109:1685.
10. Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med*. 2003;138:560–570.
11. Cichy W, Klineciewicz B, Plawski A. Juvenile polyposis syndrome. *Arch Med Sci*. 2014 Jun ;10(3):570-7.

12. Davis DM, Marcet JE, Frattini JC, et al. Is it time to lower the recommended screening age for colorectal cancer? *J Am Coll Surg*. 2011;213:352–361.
13. De la Chapelle A, Hampel H. Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:3380.
14. Deng L, Gui Z, Zhao L, et al. Diabetes mellitus and the incidence of colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 2012;57:1576–1585.
15. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26:5705–5712.
16. Enholm S, Hienonen T, Suomalainen A, et al. Proportion and phenotype of MYH-associated colorectal neoplasia in a population-based series of Finnish colorectal cancer patients. *Am J Pathol*. 2003; 163:827.
17. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW, Ruppert JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Thomas G, Kinzler KW, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science*. 1990 Jan 5;247(4938):49-56.
18. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis, *Cell*. 1990;61(5):759–767.
19. Fink D, Nebel S, Norris PS, et al. The effect of different chemotherapeutic agents on the enrichment of DNA mismatch repair-deficient tumour cells. *Br J Cancer*. 1998;77:703–708.
20. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 1994;331: 1669–1674.
21. Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, Allen C, Hansen G, Woodbrook R, Wolfe C, Hamadeh RR, Moore A, Werdecker A, Gessner BD, Te Ao B, McMahon B, Karimkhani C, Yu C, Cooke GS, Schwebel DC, Carpenter DO, Pereira DM, Nash D, Kazi DS, De Leo D, Plass D, Ukwaja KN, Thurston GD, Yun Jin K, Simard EP, Mills E, Park EK, Catalá-López F, deVeber G, Gotay C, Khan G, Hosgood HD 3rd, Santos IS, Leasher JL, Singh J, Leigh J, Jonas JB, Sanabria J, Beardsley J, Jacobsen KH, Takahashi K, Franklin RC,

Ronfani L, Montico M, Naldi L, Tonelli M, Geleijnse J, Petzold M, Shrive MG, Younis M, Yonemoto N, Breitborde N, Yip P, Pourmalek F, Lotufo PA, Esteghamati A, Hankey GJ, Ali R, Lunevicius R, Malekzadeh R, Dellavalle R, Weintraub R, Lucas R, Hay R, Rojas-Rueda D, Westerman R, Sepanlou SG, Nolte S, Patten S, Weichenthal S, Abera SF, Fereshtehnejad SM, Shiue I, Driscoll T, Vasankari T, Alsharif U, Rahimi-Movaghar V, Vlassov VV, Marcenes WS, Mekonnen W, Melaku YA, Yano Y, Artaman A, Campos I, MacLachlan J, Mueller U, Kim D, Trillini M, Eshрати B, Williams HC, Shibuya K, Dandona R, Murthy K, Cowie B, Amare AT, Antonio CA, Castañeda-Orjuela C, van Gool CH, Violante F, Oh IH, Deribe K, Soreide K, Knibbs L, Kereselidze M, Green M, Cardenas R, Roy N, Tillmann T, Li Y, Krueger H, Monasta L, Dey S, Sheikhabaei S, Hafezi-Nejad N, Kumar GA, Sreeramareddy CT, Dandona L, Wang H, Vollset SE, Mokdad A, Salomon JA, Lozano R, Vos T, Forouzanfar M, Lopez A, Murray C, Naghavi M. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncol.* 2015 July 1; 1(4): 505–527.

22. Gong J, Hutter C, Baron JA, et al. A pooled analysis of smoking and colorectal cancer: timing of exposure and interactions with environmental factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21:1974–1985.

23. Goyette MC, Cho K, Fasching CL, Levy DB, Kinzler KW, Paraskeva C, Vogelstein B, Stanbridge EJ. Progression of colorectal cancer is associated with multiple tumor suppressor gene defects but inhibition of tumorigenicity is accomplished by correction of any single defect via chromosome transfer. *Mol Cell Biol.* 1992 Mar;12(3):1387-95.

24. Guillem JG, Forde KA, Treat MR, et al. Colonoscopic screening for neoplasms in asymptomatic first-degree relatives of colon cancer patients. A controlled, prospective study. *Dis Colon Rectum.* 1992;35:523–529.

25. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reynies A, Schlicker A, Soneson C, Marisa L, Roepman P, Nyamundanda G, Angelino P, Bot BM, Morris JS, Simon IM, Gerster S, Fessler E, De Sousa E Melo F, Missiaglia E, Ramay H, Barras D, Homicsko K, Maru D, Manyam GC, Broom B, Boige V, Perez-Villamil B, Laderas T, Salazar R, Gray JW, Hanahan D, Tabernero J, Bernards R, Friend SH, Laurent-Puig P, Medema JP, Sadanandam A, Wessels L, Delorenzi M, Kopetz S, Vermeulen L, Tejpar S (2015) The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 21(11):1350–1356.

26. Halford S, Sasieni P, Rowan A, et al. Low-level microsatellite instability occurs in most colorectal cancers and is a nonrandomly distributed quantitative trait. *Cancer Res.* 2002; 62:53.
27. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144:646–674.
28. Harada K, Hiraoka S, Kato J, Horii J, Fujita H, Sakaguchi K, Shiratori Y. Genetic and epigenetic alterations of Ras signalling pathway in colorectal neoplasia: analysis based on tumour clinicopathological features. *Br J Cancer.* 2007 Nov 19;97(10):1425-31.
29. Haugen AC, Goel A, Yamada K, et al. Genetic instability caused by loss of MutS homologue 3 in human colorectal cancer. *Cancer. Res* 2008; 68:8465.
30. He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW. PPARdelta is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell.* 1999; 99:335.
31. Ibrahim A, Barnes DR, Dunlop J, Barrowdale D, Antoniou AC, Berg JN. Attenuated familial adenomatous polyposis manifests as autosomal dominant late-onset colorectal cancer. *Eur J Hum Genet.* 2014 Nov;22(11):1330-3.
32. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, Turnbull BA, Ross ME, Colorectal Cancer Study Group Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population. *N Engl J Med.* 2004;351(26):2704.
33. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature.* 1993;363:558–561.
34. Jemal A, Center MM, DeSantis C, et al. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19:1893–1907.
35. Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin.* 2010;60:277–300.
36. Kempainen M, Raiha I, Sourander L. A marked increase in the incidence of colorectal cancer over two decades in southwest Finland. *J Clin Epidemiol.* 1997;50:147–151.
37. Landis SH, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin.* 1998;48:6–29.

38. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, Skora AD, Luber BS, Azad NS, Laheru D (2015) PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med.* 372(26):2509–2520.
39. Lee PY, Fletcher WS, Sullivan ES, et al. Colorectal cancer in young patients: characteristics and outcome. *Am Surg.* 1994;60:607–612.
40. Lee SY, Kim DW, Lee HS, Ihn MH, Oh HK, Min BS, Kim WR, Huh JW, Yun JA, Lee KY, Kim NK, Lee WY, Kim HC, Kang SB. Low-Level Microsatellite Instability as a Potential Prognostic Factor in Sporadic Colorectal Cancer. *Medicine (Baltimore).* 2015 Dec;94(50)
41. Leicht DT, Balan V, Kaplun A, Singh-Gupta V, Kaplun L, Dobson M, Tzivion G. Raf kinases: function, regulation and role in human cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2007 Aug;1773(8):1196-212.
42. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology.* 2008;134:1570–1595.
43. Li G, Ma D, Xhang Y, et al. Coffee consumption and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies. *Public Health Nutr.* 2013;16:346–357.
44. Li W, Zhu T, Guan KL. Transformation potential of Ras isoforms correlates with activation of phosphatidylinositol 3-kinase but not ERK. *J Biol Chem.* 2004;279:37398–37406.
45. Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, et al. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med.* 2000;343:162–168.
46. McMichael AJ, Giles GG. Cancer in migrants to Australia: extending the descriptive epidemiological data. *Cancer Res.* 1988;48:751–756.
47. Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, Kinzler KW. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science.* 1997 Mar 21;275(5307):1787-90.
48. Murphy N, Norat T, Ferrari P, et al. Dietary fiber intake and risks of cancers of the colon and rectum in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *PLoS One.* 2012;7(6)

49. Nelson RL, Persky V, Turyk M. Determination of factors responsible for the declining incidence of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1999;42:741–752.
50. Obrand DI, Gordon PH. Continued change in the distribution of colorectal carcinoma. *Br J Surg*. 1998;85:246–248.
51. Orloff MS, He X, Peterson C, Chen F, Chen JL, Mester JL, Eng C. Germline PIK3CA and AKT1 mutations in Cowden and Cowden-like syndromes. *Am J Hum Genet*. 2013 Jan 10;92(1):76-80.
52. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 1999;49:33–64, 1.
53. Parr CL, Hjartaker A, Lund E, et al. Meat intake, cooking methods and risk of proximal colon, distal colon and rectal cancer: the Norwegian Women and Cancer (NOWAC) cohort study. *Int J Cancer*. 2013;133:1153–1163.
54. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*. 2010;138:2059–2072.
55. Ponz de Leon M, Scapoli C, Zanghieri G, et al. Genetic transmission of colorectal cancer: exploratory data analysis from a population based registry. *J Med Genet*. 1992;29:531–538.
56. Popat S, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *Eur J Cancer*. 2005 Sep;41(14):2060-70.
57. Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, et al. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature*. 1992;359:235–237.
58. Pretlow TP, Brasitus TA, Fulton NC, Cheyer C, Kaplan EL K-ras mutations in putative preneoplastic lesions in human colon. *J Natl Cancer Inst*. 1993;85(24):2004.
59. Rajalingam K, Schreck R, Rapp UR, Albert S. Ras oncogenes and their downstream targets. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Aug;1773(8):1177-95.
60. Renehan AG, Flood A, Adams KF, et al. Body mass index at different adult ages, weight change, and colorectal cancer risk in the National Institutes of Health-AARP Cohort. *Am J Epidemiol*. 2012;176:1130–1140.
61. Rosenberg L, Louik C, Shapiro S. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and reduced risk of large bowel carcinoma. *Cancer*. 1998;82:2326–2333.

62. Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet*. 2010;376:1741–1750.
63. Rustgi AK. Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med*. 1994;331:1694–1702.
64. Sampson JR, Dolwani S, Jones S, et al. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. *Lancet*. 2003; 362:39.
65. Sourrouille I, Coulet F, Lefevre JH, et al. Somatic mosaicism and double somatic hits can lead to MSI colorectal tumors. *Fam Cancer*. 2013; 12:27.
66. Soussi T. The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 Jun;910:121-37.
67. Spurio L, Olschwang S, Groden J, et al. Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell*. 1993;75:951–957.
68. Takayama T, Ohi M, Hayashi T, Miyanishi K, Nobuoka A, Nakajima T, Satoh T, Takimoto R, Kato J, Sakamaki S, Niitsu Y. Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology*. 2001 Sep;121(3):599-611.
69. The Cancer Genome Atlas Network (326 collaborators). Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer (2012). *Nature*. 487 (7407):330–337.
70. Therkildsen C, Jönsson G, Dominguez-Valentin M, et al. Gain of chromosomal region 20q and loss of 18 discriminates between Lynch syndrome and familial colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2013; 49:1226.
71. Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer: different mutator phenotypes and the principal involvement of hMLH1. *Cancer Res*. 1998;58:1713–1718.
72. Troiani T., Napolitano S., Della Corte CM., Martini G., Martinelli E., Morgillo F., Ciardiello F. Therapeutic value of EGFR inhibition in CRC and NSCLC: 15 years of clinical evidence. *ESMO Open*. 2016 Sep 16;1(5)
73. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, et al. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:8681–8686.

74. Tse JY, Wu S, Shinagare SA, Lauwers GY, Yilmaz O, Wu CL, Deshpande V. Peutz-Jeghers syndrome: a critical look at colonic Peutz-Jeghers polyps. *Mod Pathol*. 2013 Sep;26(9):1235-40.
75. Watanabe T, Sullenger BA. Induction of wild-type p53 activity in human cancer cells by ribozymes that repair mutant p53 transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 Jul 18;97(15):8490-4.
76. Weber TK, Conlon W, Petrelli NJ, et al. Genomic DNA-based hMSH2 and hMLH1 mutation screening in 32 Eastern United States hereditary nonpolyposis colorectal cancer pedigrees. *Cancer Res*. 1997;57:3798–3803.
77. Whitehall VL, Walsh MD, Young J, et al. Methylation of O-6-methylguanine DNA methyltransferase characterizes a subset of colorectal cancer with low-level DNA microsatellite instability. *Cancer Res*. 2001; 61:827.
78. Whittemore AS, Wu-Williams AH, Lee M, et al. Diet, physical activity, and colorectal cancer among Chinese in North America and China. *J Natl Cancer Inst*.1990;82:915–926.
79. Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med*. 1990;323:1664–1672.
80. Wilmink AB. Overview of the epidemiology of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1997;40:483–493.
81. Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al. Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med*. 1996;334:82–87.
82. Xiao Y, Freeman GJ (2015) The microsatellite instable subset of colorectal cancer is a particularly good candidate for checkpoint blockade immunotherapy. *Cancer Discov*. 5(1):16–18.