

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ  
Διευθυντής: Καθηγητής Ε.ΠΑΤΣΟΥΡΗΣ**

---

**ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ COX-2  
ΚΑΙ PPAR- $\gamma$  ΣΕ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΤΗΣ  
ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ  
ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΚΑΛΛΙΟΠΗ Δ. ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΥ  
ΙΑΤΡΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2014**

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ  
Διευθυντής: Καθηγητής Ε.ΠΑΤΣΟΥΡΗΣ**

---

**ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ COX-2  
ΚΑΙ PPAR- $\gamma$  ΣΕ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΤΗΣ  
ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ  
ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΚΑΛΛΙΟΠΗ Δ. ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΥ  
ΙΑΤΡΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2014**

Ημερομηνία αίτησης για εκπόνηση  
διδασκατορικής διατριβής

:

Ορισμός τριμελούς Επιτροπής

: 17-4-2003

Μέλη τριμελούς Επιτροπή

: Λ. Νακοπούλου, Ομ.Καθηγήτρια  
Π. Κορκολοπούλου, Καθηγήτρια  
Α. Νόννη, Επικ. Καθηγήτρια

Ημερομηνία ορισμού θέματος

:

Ημερομηνία κατάθεσης διατριβής

: 31-7-2013

Ορισμός επταμελούς Επιτροπής

:

Μέλη επταμελούς Επιτροπής

:

Πρόεδρος Ιατρικού Τμήματος

:

Βαθμός με τον οποίο έγινε αποδεκτή η διατριβή

:

«Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»

*(Νόμος 5543/1932, άρθρον 202, παράγραφος 2)*

**ΕΚ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΥ ΟΡΚΟΥ  
ΚΕΙΜΕΝΟ**



« ΟΜΝΥΜΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ. ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΞΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ, Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ. ΤΑΥΤΗΝ ΤΗΝ ΕΠΑΓΓΕΛΙΑΝ ΕΠΙΤΕΛΟΥΝΤΙ ΕΙΗ ΜΟΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΑΡΩΓΟΝ ΚΤΗΣΑΣΘΑΙ ΕΝ ΤΩ ΒΙΩ ».

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

*Στην οικογένειά μου*

*Στους δασκάλους μου*

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛ.
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	9
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	39
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
1. ΑΝΑΤΟΜΙΑ - ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ	42
2. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ	44
3. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΟΓΚΩΝ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	44
4. ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ	51
4.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	51
4.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ	53
4.3 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	56
4.4 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ	57
4.5 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ	57
4.6 ΕΠΕΚΤΑΣΗ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ	60
4.7 ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	60
4.8 ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ	60
4.9 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	62
5. ΜΗ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ	67
6. ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ – ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ	68
6.1 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ & ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ	70
6.2 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ/ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΜΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ	72
6.3 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ/ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ	75
7. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΜΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ	79
7.1 ΚΛΑΣΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ & ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ	79
7.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ-ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ	81
8. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ	83
8.1 ΚΛΑΣΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ	83
8.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ-ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ	85
8.3 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ	89
9. ΚΥΚΛΟΟΞΥΓΕΝΑΣΗ-2 (COX-2)	90
9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	90
9.2 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΝΔΙΝΩΝ	92
9.3 ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ COX-2	96
9.4 COX-2 ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ	99
9.5 ΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΟΞΥΓΕΝΑΣΩΝ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	106

10. PPAR- $\gamma$	109
10.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	109
10.2 ΔΟΜΗ ΤΟΥ PPAR $\gamma$	113
10.3 ΦΥΣΙΚΟΙ ΣΥΝΔΕΤΕΣ	116
10.4 ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΙ ΣΥΝΔΕΤΕΣ	121
10.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ PPAR $\gamma$	123
10.6 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΔΙΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ – ΔΙΑΚΑΤΑΣΤΟΛΗΣ	127
10.7 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ PPAR $\gamma$ ΣΕ ΜΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΥΣ	138
10.8 ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PPAR $\gamma$ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	139
11. ΝΕΟΤΕΡΟΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	150

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

I. ΣΚΟΠΟΣ	154
II. ΥΛΙΚΟ	155
III. ΜΕΘΟΔΟΙ	157
IIIΑ. ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΕΙΑ	157
IIIΒ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ	162
IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	163
IVΑ. ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΣΗΣ	163
IVΒ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ	177
IVΓ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ	181
IVΔ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕ ΝΕΟΤΕΡΟΥΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ	183
V. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	189
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	196
VII. SUMMARY	198
VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	199



## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

**Ημερομηνία Γέννησης:** 24/10/1966

**Τόπος Γέννησης:** Κιάτο Κορινθίας

**Πτυχίο:** Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθήνας, κατόπιν Εισαγωγικών Πανελληνίων Εξετάσεων με σειρά επιτυχίας 37 στους 200 εισακτέους (1985)

**Βαθμός:** Λίαν Καλώς (1991)

**Οικογενειακή Κατάσταση:** Έγγαμη, Μητέρα Τριών (3) Τέκνων

**Διεύθυνση Κατοικίας:** Σολωμού 25<sup>Α</sup>, Χαλάνδρι

**Τηλέφωνα, e-mail:** 6974 097066, 210-6813386, popydiamond@yahoo.gr

### **ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ / ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ**

1. 1991-1993: Ειδικευόμενη Ιατρός Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝΑ «ΚΑΤ»
2. 1993-1996: Ειδικευόμενη Ιατρός Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝΑ «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ» Αθήνας
3. 1996-1997: Ειδικευόμενη Ιατρός Κυτταρολογικού Τμήματος ΓΝΑ Πανεπιστημιακού Πανεπιστημίου «ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ»
4. Οκτώβριος 1997: Απόκτηση τίτλου Ειδικευμένης Ιατρού Παθολογοανατόμου
5. 1998-1999: Υπηρετήση Υπηρεσίας Υπαίθρου με απόσπαση στο Παθολογοανατομικό Τμήμα ΓΝΑ «ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ» με καθήκοντα Επιμελήτριας Β΄
6. 1999-2001: Ιατρός ΚΕΕΛΠΝΟ με διάθεση/ απόσπαση στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Ρετροϊών (ΕΚΑΡ), Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας & Ιατρικής Στατιστικής Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθήνας (ΕΚΠΑ)
7. 2001-2002: Επιμελήτρια Β΄ Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝ Ελευσίνας «ΘΡΙΑΣΙΟ»
8. 2002-2008: Επιμελήτρια Β΄ Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝ Αττικής «ΑΣΚΛΗΠΕΙΟ ΒΟΥΛΑΣ» με χρέη Διευθύντριας του Τμήματος σε περίπτωση απουσίας της Διευθύντριας κατά τα έτη 2003-2005 βάσει απόφασης του Διοικητικού Συμβουλίου
9. Σεπτέμβριος 2008 -Δεκέμβριος 2008: Επιμελήτρια Β΄ Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝΑ «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ» Αθήνας
10. 2009-2013: Επιμελήτρια Α΄ Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝ Αττικής «ΚΑΤ»
11. 2013- : Επιμελήτρια Α΄ Παθολογοανατομικού Τμήματος Νοσοκομείο ΕΛΛΗΝΙΚΟΣ ΕΡΥΘΡΟΣ ΣΤΑΥΡΟΣ – «ΚΟΡΓΙΑΛΕΝΕΙΟ –ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ». Από 1/1/2014 Επιστημονικά Υπεύθυνη του εν λόγω Τμήματος, βάσει απόφασης του Διοικητικού Συμβουλίου του Νοσοκομείου

## ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΙ ΤΙΤΛΟΙ

1. Τίτλος Ειδικότητας Παθολογικής Ανατομικής (22/10/1997)
2. Μεταπτυχιακή φοιτήτρια Βιοχημείας του Χημικού Τμήματος Πανεπιστημίου Αθήνας (Ακαδημαϊκά Έτη 1997-2002)

## ΠΛΗΡΕΙΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

### A. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ

1. Study on Epitenon Fibroblast Migration after Incising and Suturing the Tendon with Modified Kessler in New Zealand Rabbits  
Athanasios Kefalas, Nick Sekouris, Dimitrios Mastrokalos, **Kalliopi Diamantopoulou**, Georgia Karagiannopoulou, Aristides B Zoubos, Panayotis N Soucacos.  
J Trauma Treat 2014 S2: 001. doi:10.4172/2167-1222.S2-001
2. Cellular Response of the Tendon Sheath in Tendon Injury: Experimental Research in New Zealand Rabbits.  
Sekouris N., Kefalas A., Soultanis K., **Diamantopoulou K.**, Karagiannopoulou G., Soucacos P., Zoubos A.  
J Trauma & Treatment 2013, S4: 004. doi:10.4172/2167-1222.S4-004
3. The Effect of Synbiotics on Acute Radiation-Induced Diarrhea and Its Association with Mucosal Inflammatory and Adaptive Responses in Rats.  
Spyropoulos BG, Theodoropoulos G, Misiakos EP, Stoidis CN, Zapatis H, **Diamantopoulou K**, Gialeli C, Karamanos NK, Karatzas G, Machairas A, Fotiadis C, Zografos GC, Kelekis N, Kouloulas V.  
Dig Dis Sci. 2013 Sep;58(9):2487-98.
4. Prognostic significance of replication protein A (RPA) expression levels in bladder urothelial carcinoma.  
Levidou G, Gakiopoulou H, Kavantzias N, Saetta AA, Karlou M, Pavlopoulos P, Thymara I, **Diamantopoulou K**, Patsouris E, Korkolopoulou P.  
BJU Int. 2011 Jul;108(2 Pt 2):E59-65.
5. D-type cyclins in superficial and muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: correlation with clinicopathological data and prognostic significance.  
Levidou G, Saetta AA, Karlou M, Thymara I, Pratsinis H, Pavlopoulos P, Isaiadis D, **Diamantopoulou K**, Patsouris E, Korkolopoulou P.  
J Cancer Res Clin Oncol. 2010 Oct;136(10):1563-71.
6. Gastrointestinal stromal tumor of the gastric serosa protruding to the greater omentum. Report of a giant tumor with a rare histological pattern.  
Pavlakis E, Avgerinos E, Stathoulopoulos A, Godevenos D, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Condilis N, Smailis D, Christianakis E, Tsatsoulis P, Skandalakis P, Filippou D.  
Ann Ital Chir. 2008 Sep-Oct;79(5):363-6.

7. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in urothelial carcinomas of the bladder: association with differentiation, proliferation and clinical outcome.  
Mylona E, Giannopoulou I, **Diamantopoulou K**, Bakarakos P, Nomikos A, Zervas A, Nakopoulou L.  
Eur J Surg Oncol. 2009 Feb;35(2):197-201.
8. Clinical significance of nuclear factor (NF)-kappaB levels in urothelial carcinoma of the urinary bladder.  
Levidou G, Saetta AA, Korkolopoulou P, Papanastasiou P, Gioti K, Pavlopoulos P, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Xiromeritis K, Patsouris E.  
Virchows Arch. 2008 Mar;452(3):295-304.
9. Acute lung injury in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion: the potential time depended role of phospholipases A(2).  
Kostopanagiotou G, Avgerinos E, Costopanagiotou C, Arkadopoulos N, Andreadou I, **Diamantopoulou K**, Lekka M, Smyrniotis V, Nakos G.  
J Surg Res. 2008 Jun 1;147(1):108-16.
10. Expression of hypoxia-related tissue factors in astrocytic gliomas. A multivariate survival study with emphasis upon carbonic anhydrase IX.  
Korkolopoulou P, Perdiki M, Thymara I, Boviatsis E, Agrogiannis G, Kotsiakis X, Angelidakis D, Rologis D, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Kaklamanis L, Gatter K, Patsouris E.  
Hum Pathol. 2007 Apr;38(4):629-38.
11. Cyclooxygenase-2 expression in astrocytomas. Relationship with microvascular parameters, angiogenic factors expression and survival.  
Perdiki M, Korkolopoulou P, Thymara I, Agrogiannis G, Piperi C, Boviatsis E, Kotsiakis X, Angelidakis D, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Patsouris E.  
Mol Cell Biochem. 2007 Jan;295(1-2):75-83.
12. Cyclooxygenase-2 protein expression in relation to apoptotic potential and its prognostic significance in bladder urothelial carcinoma.  
**Diamantopoulou K**, Lazaris A, Mylona E, Zervas A, Stravodimos K, Nikolaou I, Athanassiadou S, Nakopoulou L.  
Anticancer Res. 2005 Nov-Dec;25(6C):4543-9.
13. D.Apessou, E.Papaliodi, S.Skafida, **K.Diamantopoulou**, C.Papantoni, N.Kokkinakis. Angiogenesis in Squamous Cell Carcinomas of The Cervix. European Journal of Gynaecological Oncology, XVII n.5, 1996

## **B. ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ**

1. Νευροϊνωμα. **Κ. Διαμαντοπούλου** Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής, τόμος 17, παρ2, 2003, σελ 22-23 (**μονογραφία**)
2. Λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης – περιγραφή μιας περίπτωσης με έμφαση στην ανοσοϊστοχημεία και ανασκόπηση της

βιβλιογραφίας. Δ. Κοζυράκης, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ε. Τσαγκλή, Δ. Δελακάς  
Ελληνική Ουρολογία 2007, 19:81-84

3. Ινοεπιθηλιακοί πολύποδες ουροδόχου κύστεως. Αναφορά σε μια περίπτωση. Λεοντάρα Β., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Χρανιώτη Σ., Σεραφετινίδης Σ., Θωμά – Τσαγκλή Ε. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής 2008, 22(1-3):41-46
4. Ενδομυελικό οστεσάρκωμα. **Κ. Διαμαντοπούλου** Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, τόμος 22, παρ1, 2008, σελ 124-25 (**μονογραφία**)
5. Καρκίνωμα του προστάτη αδένου: Μοριακή παθογένεση και διαγνωστικά προβλήματα στην εξέτασή του **Κ. Διαμαντοπούλου** Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, τόμος 24, παρ1, 2010, σελ 54-57 (**μονογραφία**)
6. Συμμετοχή στο Βιβλίο Κατευθυντήριων Οδηγιών για την Ιστολογική Διάγνωση Κακοήθων Νεοπλασμάτων της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής με θέματα: α) «Συνοπτική ερμηνεία των χρήσιμων δεδομένων για την ιστοπαθολογική έκθεση των όγκων της αποχετευτικής μοίρας του ουροποιητικού συστήματος (νεφρική πύελος, ουρητήρας, ουροδόχος κύστη, ουρήθρα). **Κ. Διαμαντοπούλου** 2010, σελ 187-193. β) Απόδοση στην ελληνική γλώσσα της ορολογίας των όγκων του ουροποιογεννητικού συστήματος, **Κ. Διαμαντοπούλου** 2010 σελ 194-198. (**μονογραφίες**)
7. Igoumenakis D., Dais P., **Diamantopoulou K.**, Mezitis M., Papadogeorgakis N., Rallis G. Odontogenis myxoma of the maxilla: report of a rare ossifying variant. Δίγλωσση Ελληνο-Αγγλική έκδοση Hellenic Archives of Oral & Maxillofacial Surgery, 2012, Volume 13, page 5.

#### **Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ (CITATIONS)**

- 24 για το άρθρο: Expression of hypoxia-related tissue factors in astrocytic gliomas. A multivariate survival study with emphasis upon carbonic anhydrase IX. Korkolopoulou P, Perdiki M, Thymara I, Boviatsis E, Agrogiannis G, Kotsiakis X, Angelidakis D, Rologis D, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Kaklamanis L, Gatter K, Patsouris E. Hum Pathol. 2007 Apr;38(4):629-38.
- 14 για το άρθρο: Cyclooxygenase-2 expression in astrocytomas. Relationship with microvascular parameters, angiogenic factors expression and survival. Perdiki M, Korkolopoulou P, Thymara I, Agrogiannis G, Piperi C, Boviatsis E, Kotsiakis X, Angelidakis D, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Patsouris E.

- 6 για το άρθρο: D-type cyclins in superficial and muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: correlation with clinicopathological data and prognostic significance. Levidou G, Saetta AA, Karlou M, Thymara I, Pratsinis H, Pavlopoulos P, Isaiadis D, **Diamantopoulou K**, Patsouris E, Korkolopoulou P.
- 4 για το άρθρο: Prognostic significance of replication protein A (RPA) expression levels in bladder urothelial carcinoma. Levidou G, Gakiopoulou H, Kavantzias N, Saetta AA, Karlou M, Pavlopoulos P, Thymara I, **Diamantopoulou K**, Patsouris E, Korkolopoulou P.
- 15 για το άρθρο: Clinical significance of nuclear factor (NF)-kappaB levels in urothelial carcinoma of the urinary bladder. Levidou G, Saetta AA, Korkolopoulou P, Papanastasiou P, Gioti K, Pavlopoulos P, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsagli E, Xiromeritis K, Patsouris E.
- 15 για το άρθρο: Acute lung injury in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion: the potential time depended role of phospholipases A(2). Kostopanagiotou G, Avgerinos E, Costopanagiotou C, Arkadopoulos N, Andreadou I, **Diamantopoulou K**, Lekka M, Smyrniotis V, Nakos G.
- 9 για το άρθρο: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in urothelial carcinomas of the bladder: association with differentiation, proliferation and clinical outcome. Mylona E, Giannopoulou I, **Diamantopoulou K**, Bakarakos P, Nomikos A, Zervas A, Nakopoulou L.
- 4 για το άρθρο: Cyclooxygenase-2 protein expression in relation to apoptotic potential and its prognostic significance in bladder urothelial carcinoma. **Diamantopoulou K**, Lazaris A, Mylona E, Zervas A, Stravodimos K, Nikolaou I, Athanassiadou S, Nakopoulou L.

#### **Δ. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ/ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ**

1. **Συντονίστρια Επιστημονικών Ομάδων** Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής:
  - A. **Ουροποιογεννητικού Συστήματος** (2007-2009 και 2009-2011). Συντονιστής: Α. Λάζαρης
  - B. **Κεντρικού Νευρικού Συστήματος** (2011-2013 και 2013-2015). Συντονιστής: Δ. Κανάκης
2. Στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Παθολογικού Ανατομείου, ΕΚΠΑ, «Νεοπλασματική Νόσος στον άνθρωπο: Σύγχρονη Κλινικοπαθολογοανατομική Προσέγγιση και Έρευνα», Επιστ. Υπεύθυνος: Καθ. Ε. Πατσούρης, **Κ. Διαμαντοπούλου**: Εκπαιδύτρια – Ομιλήτρια στα χειμερινά και εαρινά εξάμηνα (2010-2013) με θέματα: 1) Κύριοι όγκοι μαλακών μορίων 2) Μοριακή παθογένεση καρκίνου του προστάτη αδένα

3. Στα πλαίσια Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (IUCP – Καθ. Ν. Αγκάντη): Bone pathology, 1) Slide Seminar Pitfalls in Bone Pathology 2) Tumor-like bone lesions Tutor: **K. Diamantopoulou**, 27-28/5/2008, Ιοαννίνα. Η περίληψη της 2<sup>ης</sup> εισήγησης περιλαμβάνεται σε τόμο των Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων IUCP
4. Συμμετοχή στο Διευρωπαϊκό Πρόγραμμα **HIPON** (Υπεύθυνος για την Ελλάδα: Αν. Καθ. Α. Λάζαρης) με αντικείμενο ενδιαφέροντος τους όγκους μαλακών μορίων

#### Δημοσιευμένες Περιλήψεις Εργασιών:

1. **Διαμαντοπούλου Κ.**, Αρμόνης Β., Παπαπαρασκευά Κ., Παπαλιώδη Ε., Γιάννου Π., Κοντογεώργος Γ. Η κατανομή των κερατινών στο ενδομητριοειδές καρκίνωμα του προστάτη. 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, Ηράκλειο-Φόδελε 14-17/4/1994. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
2. Παπαπαρασκευά Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Ζώης Ε., Χαρόνης Κ., Τριτάκης Γ., Φραγκιά Κ. Σπάνια περίπτωση μελανοκυτταρικού νευριλειώματος (σβαννώματος). 15<sup>ο</sup> Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων 10-13/11/1994, Θεσσαλονίκη. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
3. Μανίκα Ζ., Απέσσου Δ., Σταυρίδου Α., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Μαγιάκος Γ. Γλοιωμάτωση περιτοναίου. Παρουσίαση μιας περιπτώσεως. 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, Ηράκλειο-Φόδελε 14-17/4/1994. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
4. Απέσσου Δ., Φραγκιά Κ., Παπαλιώδη Ε., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Αναγνωστόπουλος Ν. Περιπτώσεις πλασματοκυτώματος ρινικού βλεννογόνου 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής Ηράκλειο-Φόδελε 14-17/4/1994. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
5. K.Papaparaskeva, C. Papandoni, **K.Diamandopoulou**, E.Zoes, K.Frangia. The Origin of Melanocytic Schwannoma: an Immunohistochemical Study. Pathology Research and Practice 191, No 7-8,599-826, 1995, XVth European Congress of Pathology Copenhagen Denmark Sept. 3-8, 1995 (περίληψη)
6. Παπαπαρασκευά Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Κοντογεώργος Γ. Καρκινοειδές σε struma ovarii. 2<sup>ο</sup> Συνέδριο Γυναικολογικής Ογκολογίας 6-8/10/1995, Δελφοί. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου
7. Παπαντώνη Χ., Γιάννου Π., Σκαφιδά Σ, **Διαμαντοπούλου Κ.**, Βεντουρή Κ., Φραγκιά Κ. Αναζήτηση του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (HP) σε λεμφώματα στομάχου. Ιωάννινα 27/5/1995. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά
8. Κ.Φραγκιά, Ο.Καστανά, Κ.Παπαπαρασκευά, Κ.Βεντουρή, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Δ. Αλεξάκης, Ι. Ιωάννοβιτς. Άτυπο λίπωμα: Όρος παγίδα για τον παθολογοανατόμο και τον χειρουργό. 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής

- Χειρουργικής 16-18/11/1995, Θεσσαλονίκη. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
9. D.Apessou, E.Papaliodi, S.Skafida, **K.Diamantopoulou**, C.Papantoni, N.Kokkinakis. Angiogenesis in Squamous Cell Carcinomas of The Cervix. European Journal of Gynaecological Oncology, XVII n.5, 1996
  10. Απέσσου Δ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σαμπαζιώτης Δ., Οικονόμου Κ., Φραγκιά Κ. Αγγειογένεση σε καρκινώματα μεταβατικού επιθηλίου ουροδόχου κύστεως. 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996, Ιωάννινα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου
  11. Βεντουρή Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σαμπαζιώτης Δ., Ζώης Ε., Φραγκιά Κ. Γαγγλιονεύρωμα οπισθοπεριτοναϊκού χώρου. 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  12. Παπαντώνη Χ., Παπαλιώδη Ε., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Ζώης Ε., Φραγκιά Κ. Ογκοκέρκωμα δέρματος. Μοναδική εκδήλωση της νόσου. 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  13. Παπαλιώδη Ε., Παπαντώνη Χ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σκανδάλης Ν., Φραγκιά Κ. Καλοήθης λεμφοειδής πολύποδας τυφλού. 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  14. Φραγκιά Κ., Γιάννου Π., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Αναγνωστόπουλος Ν., Ιωακειμίδης Δ. Οστεοσκληρυντικό μυέλωμα. 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  15. Φραγκιά Κ., Παναγιώτου Π., Παπαπαρασκευά Κ., Απέσσου Δ., **Διαμαντοπούλου Κ.** Κυτταροβριθής κυανούς σπίλος. Αναφορά δυο περιπτώσεων. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής 6-8/11/1997, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  16. Φραγκιά Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Κυροδήμου Ε., Μεσσήνη Ρ., Σαμπαζιώτης Δ., Παπαλιώδη Ε. Λεμφοεπιθηλιακές αλλοιώσεις παρωτίδας. 3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής 6-8/11/1997, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  17. Παντελιδάκη Α., Κιτσαντά Π., Ελευθερίου Ι., Μαθιουδάκη Μ, Ευσταθιάδου Π., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Καραβάνα Β. Ανοσοϊστοχημική διερεύνηση των ιστολογικών κριτηρίων υποστροφής σε κακοήθη μελανώματα. 6<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 21-24/5/1998, Αλεξανδρούπολη. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
  18. Βουρλάκου Χ., Λαρίου Κ., Ευσταθιάδου Π., Μάστορης Κ., Βάμβουκα Χ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σπηλιάδη Χ., Σότσιου Φ. Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των κολλοειδών σε ηπατοκυτταρικά καρκινώματα. 6<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 21-24/5/1998, Αλεξανδρούπολη. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.

19. **Διαμαντοπούλου Κ.**, Παπακωνσταντίνου Ε., Δουλγεράκης Γ., Αγιάζη Α., Μανατάκη Α., Χριστοπούλου Ε. Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα της χοληδόχου κύστεως. Παρουσίαση περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 8<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 18-21/4/2002, Βόλος. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής τόμος 16, παράρτημα 1, 2002, σελ.270
20. Θωμά-Τσαγκλή Ε., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Δρακουλάκης Ε., Λαρίου Κ., Κορκολοπούλου Π. Διαυγοκυτταρικό σάρκωμα/ κακόηθες μελάνωμα των μαλακών μορίων. Συζήτηση της ιστογενετικής προέλευσης, της διαφορικής διάγνωσης και της χειρουργικής αντιμετώπισης. 1<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος 27-28/9/2002, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου
21. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Π. Καπράλος, Ε. Θωμά- Τσαγκλή. Κακοήθη νεοπλασμάτα αναπτυχθέντα σε έδαφος εκκολπωμάτων της ουροδόχου κύστεως. Αναφορά σε δυο περιπτώσεις: Καρκινοσάρκωμα- Υψηλόβαθμο ουροθηλιακό καρκίνωμα με πλακώδη διαφοροποίηση. 1<sup>ο</sup> Διαιτηρικό Αντικαρκινικό Συνέδριο 20-23/3/2003, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου.
22. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ι. Γιαννοπούλου, Ι. Μαυρομάτης, Κ. Στραβοδήμος, Ε. Θωμά-Τσαγκλή, Α. Γιαννόπουλος, Λ. Νακοπούλου. Η σημασία της έκφρασης της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) σε επιφανειακά και διηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα. 9<sup>ο</sup> Παν. Συνέδριο Παθολ. Ανατομικής, Καβάλα Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής τόμος 18, παράρτημα9,2004, σελ. 152 (περίληψη)
23. Γ.Βοσβοτέκας, Ι.Μυριοκεφαλιτάκης, Ε.Βρίτζαλη, Π.Παμπουδάκης, Α.Αδαμίδου, **Κ.Διαμαντοπούλου**, Γ.Βεζύρογλου, Ε.Τσαγκλή: «Τρεις περιπτώσεις σαρκοείδωσης, τρεις διαφορετικές κλινικές εικόνες». 1-4/12/2004 XVIII Πανελλήνιο Ρευματολογικό Συνέδριο, Αθήνα Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου
24. Ε.Παυλάκης, Α.Ξιάρχος, Ε.Αυγερινός, Ν.Ψαλίδας, Α.Σταθουλόπουλος, Δ.Γοδέβενος, **Κ.Διαμαντοπούλου**, Ε.Θωμά-Τσαγκλή, Π.Τσατσούλης Ευμεγέθης στρωματικός όγκος στομάχου. Παρουσίαση ενός σπάνιου ιστολογικού τύπου. 2-5/10/2004 24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Διεθνές Χειρουργικό Forum 2004, Θεσσαλονίκη Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου
25. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ε. Θωμά – Τσαγκλή. Ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης του VEGF-R3 και MDM-2 στους στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού συστήματος. 2<sup>ο</sup> Διαιτηρικό Αντικαρκινικό Συνέδριο 17-20/3/2005, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου, σελ. 78-79
26. Korkolopoulou P., Givalos N., Saetta A., Goudopoulou A., Gakiopoulou H., Thymara I., **Diamantopoulou K.**, Thomas-Tsangli E., Patsouris E. Minichromosome maintenance protein (MCM) 2 and 5 expression in muscle invasive urothelial cancer: a multivariate survival study including proliferation markers and cell cycle regulators. Virchows Archiv Vol.447, 2, Aug.2005
27. **Diamantopoulou K.**, Leodara V., Chranioti S., Thoma-Tsangli E. Expression of EGFR, VEGF-R3 and MDM-2 in human gliomas. Virchows Archiv Vol 448 No 5, May 2006, pp 679-680 (περίληψη)



28. Leodara V., **Diamantopoulou K.**, Chranioti S., Thoma-Tsangli E. Intestinal metaplasia of the urinary bladder. Report of 2 cases. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, Τόμος 20, Παράρτημα 10, 2006, σελ.250 (περίληψη)
29. Chranioti S., **Diamantopoulou K.**, Leontara V., Thoma-Tsangli E. Prostatic blue nevus : Report of 3 cases. . Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, Τόμος 20, Παράρτημα 10, 2006, σελ.251 (περίληψη)
30. **Διαμαντοπούλου K.**, Λεοντάρα Β., Θωμά – Τσαγκλή Ε. Αναρτημένη Ανακοίνωση: «Ανοσοϊστοχημική μελέτη των VEGF, VEGF-R3, CD31 και CD34 σε μελανοκυτταρικούς σπίλους και μελανώματα» 2-14/1/2006 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στον τόμο Πρακτικών του Συνεδρίου
31. Κ. Κουζέλης, Ι. Αντωνιάδης, Μ. Παπαδόπουλος, Ι. Μακρυγιαννάκης, Α. Ρόβλιας, Δ. Δημογέροντας, Ι. Σπανός, Σ. Πλάκας, Ε. Θωμά – Τσαγκλή, **K. Διαμαντοπούλου**, Ε. Κωνσταντινίδης. Αναδρομική μελέτη 184 ασθενών με γλοιώματα του εγκεφάλου και ανάλυση της έκφρασης προγνωστικών ανοσοϊστοχημικών δεικτών.20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, 8-11/6/2006, Χαλκιδική. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου A36 σελ.55
32. P. Korkolopoulou, M. Perdiki, I. Thymara, E. Boviatsis, G. Agrogiannis, X. Kotsiakis, D. Angelidakis, D. Rologis, **K. Diamantopoulou**, E. Thomas-Tsangli, L. Kaklamanis, K. Gatter, E. Patsouris. Expression of hypoxia – related tissue factors in astrocytic gliomas. A multivariate survival study with emphasis upon carbonic anhydrase IX. Hum Pathol. 2007 Apr;38(4):629-38
33. Δ. Κοζυράκης, **K. Διαμαντοπούλου**, Ε. Θωμά-Τσαγκλή, Δ. Δελακάς. Λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης. Περιγραφή μιας περίπτωσης με έμφαση στην ανοσοϊστοχημεία με ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Ελλ. Ουρολογία 2007, 19: 81-84
34. D-type cyclins in superficial and muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: correlation with clinicopathological data and prognostic significance. Levidou G, Saetta AA, Karlou M, Thymara I, Pratsinis H, Pavlopoulos P, Isaiadis D, **Diamantopoulou K**, Patsouris E, Korkolopoulou P. Virchows Arch (2009) (Suppl 1):S1-S482 pp. 65
35. R. Dimitra, N. Maounis, G. Rigos, E.Goupou, **K.Diamantopoulou**, K. Pikoulas, A. Emmanouilidou, E. Mahera, Chondrosarcomas of small bones of the hands and feet. 28<sup>th</sup> International Congress of the International Academy of Pathology, 10-15/10/2010, Histopathology, October 2010, Vol 57 Supp 1, pp15
36. E. Goupou, **K. Diamantopoulou**, D. Riga, K. Nikolopoulos, K. Pikoulas, E. Machaira. Erdheim-Chester disease (ECD): a case report and review of literature. 28<sup>th</sup> International Congress of Pathology, 10-15/10/2010, Histopathology, October 2010 Vol 57 Supp 1, pp 150
37. **K. Diamantopoulou**, C. Eftychiadis, F. Danglis, I. Famelos, E. Kavoura, D. Karras, H. Mahera. Immunohistochemical and molecular study of synovial sarcoma a case report. 23rd European Congress of Pathology, 27/9-2/8/2011, Virchow Arch (2011) 459 (Suppl 1):S1-S329 p. 196

38. **K. Diamantopoulou**, Ch. Zorzos, Ch. Eftychiadis, I. Famellos, G. Piagkos, G. Karamanis, I. Babalis, SC. Binder, H. Mahera. Virchows Arch (2012) 461 (Suppl 1):S1-S332, p S327. 24th European Congress of Pathology, 8-12/9/2012, Prague
39. **K. Diamantopoulou**, P. Korkolopoulou, G. Piagkos, A. Stamatelopoulos, P. Mihos, H. Mahera. Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma: A case report and review of treatment modalities. 25<sup>th</sup> European Congress of Pathology. 31 August – 2 September 2013, Lisbon Portugal. Virchows Archive Vol. 463, Number 2, August 2013, p.192
40. Μικροκυτταρικό γλοιοβλάστωμα: Αναφορά περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Β. Σαμαράς, Β. Λευθεριώτης, Κ. Δημητρίου, Χ. Κωστόπουλος, Ε. Τσιακάλου, Φ. Χατζηγεωργίου 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου.
41. Σάρκωμα Karosi του νεφρού. Περιγραφή ενδιαφέρουσας περίπτωσης. Β. Σαμαράς, Φ. Δαγκλής, Χ. Πούλλου, Κ. Δημητρίου, Π. Μπροτζάκης, **Κ. Διαμαντοπούλου**. 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου.
42. Διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα παραρρινίου οφθαλμικού κόγχου με οστικές διαβρώσεις: Αναφορά περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Β. Σαμαράς, Β. Λευθεριώτης, Κ. Δημητρίου, Ο. Παντζαρτζή, Δ. Λεφαντζής, Κ. Μπαρμπάτη. 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου.
43. Αδένωμα μέσου ωτός. Περιγραφή ενδιαφέρουσας περίπτωσης. Β. Σαμαράς, Χ. Πούλλου, Φ. Δαγκλής, Β. Λευθεριώτης, Γ. Τσιούμα, Κ. Χρηστίδης, **Κ. Διαμαντοπούλου**. 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου.
44. Πτωχής διαφοροποίησης καρκίνωμα θυρεοειδούς αδένου: Αναφορά περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας **Κ. Διαμαντοπούλου**, Β. Σαμαράς, Β. Λευθεριώτης, Κ. Δημητρίου, Μ. Τσοπανομίχαλου, Σ. Καλαντζάκης, Β. Αρμόνης. 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του Συνεδρίου.

#### **Προφορικές και Αναρτημένες Ανακοινώσεις σε Διεθνή και Ελληνικά Συνέδρια**

1. **Διαμαντοπούλου Κ.**, Αρμόνης Β., Παπαπαρασκευά Κ., Παπαλιώδη Ε., Γιάννου Π., Κοντογεώργος Γ. Η κατανομή των κερατινών στο ενδομητριοειδές καρκίνωμα του προστάτη. 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, Ηράκλειο-Φόδελε 14-17/4/1994. (Εισηγητής προφορικής ανακοίνωσης: **Διαμαντοπούλου Κ.**)

2. Μανίκα Ζ., Απέσσου Δ., Σταυρίδου Α., Διαμαντοπούλου Κ., Μαγιάκος Γ. Γλοιωμάτωση περιτοναίου. Παρουσίαση μιας περιπτώσεως. 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, Ηράκλειο-Φόδελε 14-17/4/1994. (poster)
3. Απέσσου Δ., Φραγκιά Κ., Παπαλιώδη Ε., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Αναγνωστόπουλος Ν. Περιπτώσεις πλασματοκυτώματος ρινικού βλεννογόνου 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής Ηράκλειο-Φόδελε 14-17/4/1994 (poster)
4. Παπαπαρασκευά Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Ζώης Ε., Χαρώνης Κ., Τριτάκης Γ., Φραγκιά Κ. Σπάνια περίπτωση μελανοκυτταρικού νευριλεϊμώματος (σβαννώματος). 15ο Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων 10-13/11/1994, Θεσσαλονίκη (poster)
5. Σκαφιδά Σ., Παπαντώνη Χ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Απέσσου Δ., Πατεράκη Μ., Παπαλιώδη Ε. Αγγειογένεση σε πλακώδη καρκινώματα τραχήλου μήτρας. 2ο Συνέδριο Γυναικολογικής Ογκολογίας 6-8/10/1995, Δελφοί (poster)
6. Παπαπαρασκευά Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Κοντογεώργος Γ. Καρκινοειδές σε struma ovarii. 2ο Συνέδριο Γυναικολογικής Ογκολογίας 6-8/10/1995, Δελφοί
7. Παπαντώνη Χ., Γιάννου Π., Σκαφιδά Σ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Βεντουρή Κ., Φραγκιά Κ. Αναζήτηση του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (HP) σε λεμφώματα στομάχου. Ιωάννινα 27/5/1995. (poster)
8. Κ.Φραγκιά, Ο.Καστανά, Κ.Παπαπαρασκευά, Κ.Βεντουρή, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Δ. Αλεξάκης, Ι. Ιωάννοβιτς. Άτυπο λίπωμα: Όρος παγίδα για τον παθολογοανατόμο και τον χειρουργό. 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής 16-18/11/1995, Θεσσαλονίκη (poster)
9. Papaparaskeva K., Papandoni C., **Diamantopoulou K.**, Zoes E., Frangia K. The Origin of Melanocytic Schannoma. XVth European Congress of Pathology, Copenhagen Denmark 3-8 Sept.1995. (poster)
10. Απέσσου Δ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σαμπαζιώτης Δ., Οικονόμου Κ., Φραγκιά Κ. Αγγειογένεση σε καρκινώματα μεταβατικού επιθηλίου ουροδόχου κύστεως. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996, Ιωάννινα.  
**(Εισηγητής προφορικής ανακοίνωσης: Διαμαντοπούλου Κ.)**
11. Βεντουρή Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σαμπαζιώτης Δ., Ζώης Ε., Φραγκιά Κ. Γαγγλιονεύρωμα οπισθοπεριτοναϊκού χώρου. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα (poster)
12. Παπαντώνη Χ., Παπαλιώδη Ε., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Ζώης Ε., Φραγκιά Κ. Ογκοκέρκωμα δέρματος. Μοναδική εκδήλωση της νόσου. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα (poster)
13. Παπαλιώδη Ε., Παπαντώνη Χ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σκανδάλης Ν., Φραγκιά Κ. Καλοήθης λεμφοειδής πολύποδας τυφλού. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα (poster)
14. Φραγκιά Κ., Γιάννου Π., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Αναγνωστόπουλος Ν., Ιωακειμίδης Δ. Οστεοσκληρυντικό μυέλωμα. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996 Ιωάννινα (poster)

15. Φραγκιά Κ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Κυροδήμου Ε., Μεσσήνη Ρ., Σαμπαζιώτης Δ., Παπαλιώδη Ε. Λεμφοεπιθηλιακές αλλοιώσεις παρωτίδας. 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής 6-8/11/1997, Αθήνα (poster)
16. Φραγκιά Κ., Παναγιώτου Π., Παπαπαρασκευά Κ., Απέσσου Δ., **Διαμαντοπούλου Κ.** Κυτταροβριθής κυανούς σπίλος. Αναφορά δυο περιπτώσεων. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Χειρουργικής 6-8/11/1997, Αθήνα (**Εισηγητής προφορικής ανακοίνωσης: Διαμαντοπούλου Κ.**)
17. Παντελιδάκη Α., Κιτσαντά Π., Ελευθερίου Ι., Μαθιουδάκη Μ, Ευσταθιάδου Π., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Καραβάνα Β. Ανοσοϊστοχημική διερεύνηση των ιστολογικών κριτηρίων υποστροφής σε κακοήθη μελανώματα. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 21-24/5/1998, Αλεξανδρούπολη (poster)
18. Βουρλάκου Χ., Λαρίου Κ., Ευσταθιάδου Π., Μάστορης Κ., Βάμβουκα Χ., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Σπηλιάδη Χ., Σότσιου Φ. Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των κολποειδών σε ηπατοκυτταρικά καρκινώματα. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 21-24/5/1998, Αλεξανδρούπολη (poster)
19. **Διαμαντοπούλου Κ.**, Παπακωνσταντίνου Ε., Δουλγεράκης Γ., Αγιάζη Α., Μανατάκη Α., Χριστοπούλου Ε. Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα της χοληδόχου κύστεως. Παρουσίαση περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 8ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 18-21/4/2002, Βόλος. (poster)
20. Θωμά-Τσαγκλή Ε., **Διαμαντοπούλου Κ.**, Δρακουλάκης Ε., Λαρίου Κ., Κορκολοπούλου Π. Διαυγοκυτταρικό σάρκωμα/ κακόηθες μελάνωμα των μαλακών μορίων. Συζήτηση της ιστογενετικής προέλευσης, της διαφορικής διάγνωσης και της χειρουργικής αντιμετώπισης. 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος 27-28/9/2002, Αθήνα (poster)
21. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Π. Καπράλος, Ε. Θωμά- Τσαγκλή. Κακοήθη νεοπλάσματα αναπτυχθέντα σε έδαφος εκκολπωμάτων της ουροδόχου κύστεως. Αναφορά σε δυο περιπτώσεις: Καρκινοσάρκωμα- Υψηλόβαθμο ουροθηλιακό καρκίνωμα με πλακώδη διαφοροποίηση. 1ο Διαιτηρικό Αντικαρκινικό Συνέδριο 20-23/3/2003, Αθήνα (poster)
22. Βοσβοτέκας, Ι.Μυριοκεφαλιτάκης, Ε.Βρίτζαλη, Π.Παμπουδάκης, Α.Αδαμίδου, **Κ.Διαμαντοπούλου**, Γ.Βεζύρογλου, Ε.Τσαγκλή 1-4/12/2004 XVIII Πανελλήνιο Ρευματολογικό Συνέδριο, Αθήνα Αναρτημένη Ανακοίνωση: «Τρεις περιπτώσεις σαρκοειδωσης, τρεις διαφορετικές κλινικές εικόνες» (poster)
23. Ε. Παυλάκης, Α. Ξιάρχος, Ε. Αυγερινός, Ν. Ψαλίδας, Α. Σταθουλόπουλος, Δ. Γοδέβενος, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ε. Θωμά-Τσαγκλή, Π. Τσατσούλης Αναρτημένη Ανακοίνωση: Ευμεγέθης στρωματικός όγκος στομάχου. Παρουσίαση ενός σπάνιου ιστολογικού τύπου 2-5/10/2004, 24ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής, Διεθνές Χειρουργικό Forum 2004, Θεσσαλονίκη (poster)
24. **Κ. Διαμαντοπούλου**: Εισήγηση με θέμα: «Φλεγμονώδεις επεξεργασίες της σπονδυλικής στήλης», 22/6/2004, Δράμα, στα πλαίσια Προσυνεδριακής Εκδήλωσης Ομάδας ΚΝΣ, 9ο Πανελλήνιο Παθολογοανατομικό Συνέδριο, 23-26/6/2004 Καβάλα
25. Korkolopoulou P, Givelos N, Saetta A, Goudopoulou A, Gakiopoulou H, Thymaras I, **Diamantopoulou K**, Thomas-Tsangli E, Patsouris E. 3-8/9/2005

- 20th European Congress of Pathology ,Παρίσι. Minichromosome Maintenance Protein (MCM) 2 and 5 expression in muscle invasive urothelial cancer: A multivariate survival study including proliferation markers and cell cycle regulators. 3-8/9/2005 20th European Congress of Pathology ,Παρίσι (poster)
26. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ε. Θωμά – Τσαγκλή. Ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης του VEGF-R3 και MDM-2 στους στρωματικούς όγκους του γαστρεντερικού συστήματος. 2ο Διαιτηρικό Αντικαρκινικό Συνέδριο 17-20/3/2005, Αθήνα (poster)
27. **Diamantopoulou K.**, Leodara V., Chranioti S., Thoma-Tsangli E. Expression of EGFR, VEGF-R3 and MDM-2 in human gliomas. 2nd Intercongress of the European Society of Pathology, Ioannina Greece, 25-27/5/2006 (poster)
28. **Διαμαντοπούλου Κ.**, Λεοντάρα Β., Θωμά – Τσαγκλή Ε. Αναρτημένη Ανακοίνωση: «Ανοσοϊστοχημική μελέτη των VEGF, VEGF-R3, CD31 και CD34 σε μελανοκυτταρικούς σπίλους και μελανώματα» 2-14/1/2006 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος, Αθήνα. (poster)
29. Leodara V., **Diamantopoulou K.**, Chranioti S., Thoma-Tsangli E. Intestinal metaplasia of the urinary bladder. Report of 2 cases. 10ο Πανελλήνιο Παθολογοανατομικό Συνέδριο, 23-24/5/2006, Ιωάννινα (poster)
30. Chranioti S., **Diamantopoulou K.**, Leontara V., Thoma-Tsangli E. Prostatic blue nevus : Report of 3 cases. 10ο Πανελλήνιο Παθολογοανατομικό Συνέδριο, 23-24/5/2006, Ιωάννινα (poster)
31. Κ. Κουζέλης, Ι. Αντωνιάδης, Μ. Παπαδόπουλος, Ι. Μακρυγιαννάκης, Α. Ρόβλιας, Δ. Δημογέροντας, Ι. Σπανός, Σ. Πλάκας, Ε. Θωμά – Τσαγκλή, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ε. Κωνσταντινίδης. Αναδρομική μελέτη 184 ασθενών με γλοιώματα του εγκεφάλου και ανάλυση της έκφρασης προγνωστικών ανοσοϊστοχημικών δεικτών. 20ο Πανελλήνιο Νευροχειρουργικό Συνέδριο, 8-11/6/2006, Χαλκιδική (poster)
32. Chranioti S., **Diamantopoulou K.**, Leodara V., Thoma-Tsangli E. Growth factors' expression EGFR, PDGF and Thyroid Transcription Factor - 1 (TTF-1) in intestinal well differentiated endocrine carcinomas. 1ο Ελληνο-Ιορδανικό Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 29-30/4/2007, Φόδελε, Κρήτη (poster)
33. Chranioti S., **Diamantopoulou K.**, Leodara V., Thoma-Tsangli E. Growth factors' expression EGFR, PDGF and Thyroid Transcription Factor - 1 (TTF-1) in intestinal well differentiated endocrine carcinomas. 1ο Hellenic-Jordanian Congress of Pathology, 29-30/4/2007, Fodele Crete (poster)
34. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ι. Γιαννοπούλου, Ι. Μαυρομάτης, Κ. Στραβοδήμος, Ε. Θωμά- Τσαγκλή, Α. Γιαννόπουλος, Λ. Νακοπούλου. Η σημασία της έκφρασης της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) σε επιφανειακά και διηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα. 9ο Παν. Συνέδριο Παθολ. Ανατομικής, Καβάλα (poster)
35. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Β. Λεοντάρα, Σ. Χρανιώτη, Ε. Θωμά-Τσαγκλή. Ανοσοϊστοχημική έκφραση VEGF, VEGF-R3, MDM-2, EGFR και CD117 σε καλοήθεις και κακοήθεις χονδρικούς οστικούς όγκους. 3ο Πανελλήνιο Διαιτηρικό Συνέδριο, 26-29/4/2007, Αθήνα (poster)

36. Β. Λεοντάρα, **Κ Διαμαντοπούλου**, Σ. Χρανιώτη, Ε. Θωμά-Τσαγκλή. Σύγχρονη ανάπτυξη νεοπλασμάτων στο ίδιο ή σε διαφορετικά όργανα 3ο Πανελλήνιο Διατμηματικό Συνέδριο, 26-29/4/2007, Αθήνα (poster)
37. Δ. Μουρτζούκου, Β. Βλάχου, Ε. Διακάτου, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Κ. Ντούμας, Θ. Χορευτάκη. Παρουσίαση σπάνιου περιστατικού σαρκωματοειδούς τύπου ουροθηλιακού τύπου καρκινώματος. 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ογκολογίας 13-15/11/2009, Ξενοδοχείο Divani Caravel. (poster)
38. **Κ. Diamantopoulou**, C. Eftychiadis, F. Danglis, I. Famelos, E. Kavoura, D. Karras, H. Mahera. Immunohistochemical and molecular study of synovial sarcoma a case report. 23<sup>rd</sup> European Congress of Pathology, 27/9-2/8/2011, Virchow Arch (2011) 459 (Suppl 1):S1-S329 p. 196 (poster)
39. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Χ. Παπαζαχαρίας, Χ. Ζώρζος, Φ. Δαγκλής, Ε. Κάβουρα, Λ. Γρηγοράκος, Ε. Μαχαίρα. Μυελοειδές καρκίνωμα θυρεοειδούς αδένος: Οικογενές ή σε πλαίσια συνδρόμου MEN 2Α: **Βραβείο** στα πλαίσια του Πολυθεματικού Ιατρικού Συνεδρίου Λακωνίας, 27-29/5/2011, Οίτυλο Μάνης. Δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του συνεδρίου. (poster)
40. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Χ. Ευτυχιάδης, Ρ. Καλτσά, Ι. Φάμελος, Δ. Καρράς, Λ.Γρηγοράκος, Ε. Μαχαίρα. Στρωματικοί όγκοι γαστρεντερικού συστήματος (GIST): Ανοσοϊστοχημική μελέτη και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Πολυθεματικό Ιατρικό Συνέδριο Λακωνίας, 27-29/5/2011, Οίτυλο Μάνης. Δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του συνεδρίου. (poster)
41. Σ. Σταυρόπουλος, Ν. Σακελλαρίδης, **Κ. Διαμαντοπούλου**, Δ. Ρήγα, Λ.Ρούσσοι, Α. Μπαρλογιάννης. Περιγραφή ασθενούς με ραβδομυοσάρκωμα. 25<sup>ο</sup> Συνέδριο Νευροχειρουργικής, Ιούνιος 2011, Αθήνα. Δημοσιεύτηκε στα πρακτικά του συνεδρίου. (poster)
42. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Χ. Ευτυχιάδης, Σ.Ζέρβας, Η. Σουρτζής, Ε. Μαχαίρα. Νευροκύττωμα εγκεφάλου: αναφορά περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 13-16/6/2012, Καλαμάτα. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, Τόμος 26, Παρ. 1, σελ.177 (poster)
43. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Π. Βραχνός, Χ. Ευτυχιάδης, Ε. Μαχαίρα. Λέμφωμα BURKITT μείζονος επιπλόου: αναφορά περιστατικού και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 13-16/6/2012, Καλαμάτα. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, Τόμος 26, Παρ.1, σελ. 259 (poster)
44. **Κ. Διαμαντοπούλου**, Ρ. Καλτσά, Π. Παναγιώτου, Χ. Ευτυχιάδης, Β. Μπουκουβάλας, Ο. Γκλεζάκου, Ε. Γκόγκα, Ε. Μαχαίρα. Ραβδοειδές μελάνωμα: περιγραφή περίπτωσης και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 13-16/6/2012, Καλαμάτα. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, Τόμος 26, Παρ.1, σελ.298 (poster)
45. Igoumenakis D., Dais P., **Diamantopoulou K.**, Mezitis M., Papadogeorgakis N., Rallis G. Odontogenis myxoma of the maxilla: report of a rare ossifying variant. Δίγλωσση Ελληνο-Αγγλική έκδοση Hellenic Archives of Oral & Maxillofacial Surgery, Volume 13, page 5. 26<sup>ο</sup> Συνέδριο ΕΕΣΓΠΧ, Ιούνιος 1-3, 2012 (poster)

46. **K. Diamantopoulou**, Ch. Zorzos, Ch. Eftychiadis, I. Famellos, G. Piagkos, G. Karamanis, I. Babalis, SC. Binder, H. Mahera. Virchows Arch (2012) 461 (Suppl 1):S1-S332, p S327. 24<sup>th</sup> European Congress of Pathology, 8-12/9/2012, Prague (poster)

**Συμμετοχή σε Προεδρεία Ελεύθερων Ανακοινώσεων / Στρογγυλών Τραπέζων / Επιστημονικών Εκδηλώσεων Ελληνικών Συνεδρίων / Σεμιναρίων**

1. **K. Διαμαντοπούλου**, Ε. Παπαλιώδη: Προεδρείο σε ελεύθερες ανακοινώσεις Παθολογικής Ανατομικής, Κυτταρολογίας και Ιατροδικαστικής 1/5/2004, 30ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 27/4/2004-1/5/2004, Αθήνα.
2. **K. Διαμαντοπούλου**, Α. Λάζαρης: Προεδρείο σε Προσυνεδριακή Εκδήλωση της Ομάδας Ουροποιογεννητικού Συστήματος με θέμα: «Προδιηθητικές ουροθηλιακές αλλοιώσεις ουροδόχου κύστης» 11ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 7-10/5/2008, Πάτρα
3. **K. Διαμαντοπούλου**, Α. Λάζαρης: Προεδρείο σε Επιστημονική Εκδήλωση της Ομάδας Ουροποιογεννητικού Συστήματος με θέμα: «Ανοσοϊστοχημική προσέγγιση των όγκων ουροποιογεννητικού συστήματος – συνοπτική καταγραφή των απαραίτητων δεδομένων» Δημερίδα Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής, /4/2011, Λιτόχωρο Περίας
4. **K. Διαμαντοπούλου**: Προεδρείο στις αναρτημένες ανακοινώσεις (posters) Ουροποιογεννητικού και Νευρικού Συστήματος (p018-048), 14/6/2012, στα πλαίσια του 13ου Πανελλήνιου Συνεδρίου Παθολογικής Ανατομικής, 13-16/6/2012, Καλαμάτα
5. **K. Διαμαντοπούλου**, Δ. Κανάκης: Προεδρείο σε Στρογγύλη Τράπεζα της Ομάδας ΚΝΣ με θέμα: «Νευροεκφυλιστικές νόσοι του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος», 13ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 13-16/6/2012, Καλαμάτα
6. **K. Διαμαντοπούλου**, Δ. Κανάκης: Προεδρείο σε Επιστημονική Εκδήλωση της Ομάδας ΚΝΣ με θέμα: «Νεότερα δεδομένα στη μοριακή βιολογία των γλοιωμάτων», Δ' Πανελλήνια Δημερίδα Παθολογικής Ανατομικής, 19-21/4/2013, Δελφοί
7. **K. Διαμαντοπούλου**, Δ. Κανάκης: Προεδρείο σε Στρογγύλη Τράπεζα της Ομάδας ΚΝΣ με θέμα: «Νεότερα δεδομένα της Μοριακής Παθολογικής Ανατομικής σε όγκους ΚΝΣ», 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα.
8. **K. Διαμαντοπούλου**, Κ. Πετράκη: Προεδρείο στις αναρτημένες ανακοινώσεις (posters) Ουροποιητικού Συστήματος, 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα

## **Παρακολούθηση Διεθνών και Ελληνικών Συνεδρίων, Ημερίδων, Συμποσίων**

1. Γ' Σεμινάριο Μοριακής Βιολογίας για Ιατρούς 28-31/1/1992, Αθήνα
2. 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κυτταρολογίας 13-15/2/1992, Αθήνα
3. Επιστημονική Εκδήλωση Ελληνικής Εταιρείας Γυναικολογικής Ογκολογίας 15/2/1992, Αθήνα
4. 19TH International Congress of International Academy of Pathology (IAP) and 10th International Congress of Pathology 18-23/10/1992, Madrid, Spain
5. 19ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 4-8/5/1993, Αθήνα
6. Teaching Course on Correlative Mammography- Pathology 6-9/6/1993, Athens
7. Slide Seminar on Lymph Node Pathology 14-17/4/1994 Herakleio-Fodele
8. 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 14-17/4/1994, Ηράκλειο-Φόδελε
9. 15ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων 10-13/11/1994, Θεσσαλονίκη
10. 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας 16-20/11/1994, Αθήνα
11. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μαιευτικής και Γυναικολογίας 23-26/11/1994, Αθήνα
12. 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γυναικολογικής Ογκολογίας 6-8/10/1995, Δελφοί
13. 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Επανορθωτικής και Αισθητικής Χειρουργικής 16-18/11/1995, Θεσσαλονίκη
14. 35th I.C.A.A.C. (Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy) 17-20/9/1995, San Francisco, California
15. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 23-26/5/1996, Ιωάννινα
16. 22ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 7-11/5/1996, Αθήνα
17. 8ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS 14-16/11/1996, Αθήνα
18. 6ο Πολυθεματικό Ιατρικό Συμπόσιο 13-15/12/1996, Αθήνα
19. 37th I.C.A.A.C. 24-27/9/1997, Ontario, Canada
20. 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πλαστικής Επανορθωτικής και Αισθητικής Χειρουργικής 6-8/11/1997, Αθήνα
21. 3ο Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός» 20-21/2/1998, Αθήνα
22. 1ο Συμπόσιο Γηριατρικής – Γεροντολογίας 28/3/1998, Αθήνα
23. 38th I.C.A.A.C. 24-27/9/1998, San Diego, California
24. 7ο Πολυθεματικό Ιατρικό Συνέδριο 26-27/2/1998, Αθήνα
25. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 21-24/5/1998, Αλεξανδρούπολη
26. 18ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας 25-28/11/1998, Αθήνα
27. 9η Νοσηλευτική Ημερίδα «Η Ανθρωπιστική Διάσταση της Νοσηλευτικής» 30/1/1999, Αθήνα
28. Ημερίδα Πλαστικής Χειρουργικής «Καρκίνος Κεφαλής και Τραχήλου» 30/4/1999, Αθήνα
29. Σεμινάριο «Ηλεκτροκαρδιογράφημα» 4-8/5/1999
30. Κλινικό Φροντιστήριο «Εργαστηριακός και Απεικονιστικός Έλεγχος Ήπατος και Χοληφόρου Συστήματος» 4-8/5/1999, Αθήνα
31. Κλινικό Φροντιστήριο «Επώδυνα Μυϊκά Σύνδρομα» 4-8/5/1999, Αθήνα



32. 1ο Πανελλήνιο Συμπόσιο Κυτταρομετρίας 20-23/5/1999, Αθήνα
33. Ημερίδα της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Μελανώματος «Μελάνωμα-Η έρευνα στην Ελλάδα σήμερα» 18/12/1999, Αθήνα
34. 39th I.C.A.A.C. 24-27/9/1999, San Francisco, California
35. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσοκομειακών Λοιμώξεων και Υγιεινής στο χώρο του Νοσοκομείου 3-5/3/1999, Αθήνα
36. 2ο Εθνικό Συνέδριο AIDS και Σεξουαλικά Μεταδιδόμενων Νοσημάτων 22-25/4/1999, Αθήνα
37. 25ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 4-8/5/1999, Αθήνα
38. 5ο Ελληνικό Συνέδριο για το Ελικοβακτηρίδιο του Πυλωρού 4/3/2000, Αθήνα
39. 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 12-16/4/2000, Γλυφάδα, Αθήνα
40. 19ο Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας – 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας 18-21/4/2000, Αθήνα
41. Neuro Creutzfeldt- Jacob Disease and Prion Disease Meeting 15/4/2000, Athens
42. HIV and Treatment 2000 18/5/2000, Athens
43. 12ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS 2-4/11/2000, Αθήνα
44. 1ο Ετήσιο Μονοθεματικό Συμπόσιο με θέμα «Ηπατίτιδα Β» 4/3/2000, Αθήνα
45. 6ο Ελληνικό Συνέδριο για το Ελικοβακτηρίδιο του Πυλωρού 10/3/2001, Αθήνα
46. 13ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS 31/10-2/11/2001, Αθήνα
47. 8ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής 18-21/4/2002, Βόλος
48. 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος 27,28/9/2002, Αθήνα
49. 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Δεικτών Καρκίνου 29,30/11 και 1/12/2002, Αθήνα και Καπανδρίτι Αττικής
50. Intraeuropean Mediterranean Conference of the International Academy of Pathology 8-10/5/2003, Αστέρας Βουλιαγμένης, Αθήνα
51. 1ο Εθνικό Συνέδριο Κλινικής Μικροβιολογίας – 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσοκομειακών Λοιμώξεων και Υγιεινής 30,31/1 & 1/2/2003, Αθήνα
52. 1ο Διαιτητικό Αντικαρκινικό Συνέδριο 20-23/3/2003, Αθήνα
53. 19ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 20-24/5/2003 Αθήνα.(Συμμετοχή σε Προεδρείο αξιολόγησης Επιστημονικών Εκθεμάτων στις 23/5/03)
54. Ημερίδα: «Μοριακή κυτταρογενετική: Τεχνολογικές εξελίξεις και εφαρμογές στη σύγχρονη διαγνωστική πρακτική και θεραπευτική αξιολόγηση» 17/1/2003, Αθήνα
55. Επιστημονική ημερίδα με Διεθνή Συμμετοχή τη Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας της Ελλ. Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής «Gliomas – What's New – Differential Diagnosis» 2/6/2004 , Athens
56. 9ο Πανελλήνιο Παθολογοανατομικό Συνέδριο, 23-26/6/2004 Καβάλα
57. 5ο Συνέδριο Δεικτών Καρκίνου και Στοχευμένης Θεραπείας, Royal Olympic, 27-29/11/2004 , Αθήνα
58. 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παγκρεατολογίας, 10-11/12/2004, Αθήνα
59. 4th Symposium on New Molecules in Cancer Therapeutics, Αθήνα, 21-23/10/2005

60. 4th International Workshop. Highlights in Basic and Clinical Neuroendocrinology 2005. Growth Hormone and Growth Factors in Acromegaly and Beyond, 4/11/2005, Αθήνα.
61. 2nd Intercongress of the European Society of Pathology, 25-27/5/2006, Ioannina, Greece
62. 1st Hellenic – Jordanian Congress of Pathology, 29-30/4/2007, Fodele Crete
63. 57ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελλ. Εταιρείας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, 9-11/12/2005, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών
64. 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μελανώματος, 12-14/1/2006, Αθήνα
65. 10ο Πανελλήνιο Συνέδριο για το Ελικοβακτηρίδιο του Πυλωρού, 11/3/2006, Πολεμικό Μουσείο, Αθήνα
66. 10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 23-24/5/2006, Ιωάννινα
67. 2η Εκπαιδευτική Ημερίδα Ανασκόπηση ASCO 2006 9-10/9/2006 Οργάνωση: Παν/κή Παθ. Ογκολ. Κλινική ΠαΓΝΗ
68. Επιστημονική Ημερίδα « FISH: Πρόκληση και αναγκαιότητα εφαρμογής του FISH στην καθ' ημέρα πράξη», 31/10/2006, Αθήνα
69. 12ο Ελληνικό Συνέδριο για το HP, 10/3/2007, Αθήνα
70. 3ο Πανελλήνιο Διαιτητικό Αντικαρκινικό Συνέδριο, 26-29/4/2007, Αθήνα
71. 11<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 7-10/5/2008, Πάτρα
72. 2<sup>nd</sup> Hellenic-Jordanian Pathology Congress, 5-8/11/2008, Amman, Ιορδανία
73. 22<sup>ο</sup> Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 4-9/9/2009, Φλωρεντία , Ιταλία
74. 23<sup>ο</sup> Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 27/8-2/9/2011, Ελσίνκι, Φινλανδία
75. 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδολογίας, Αθηροσκλήρυνσης και Αγγειακής Νόσου, 13-15/10/2011, Αθήνα
76. Επιστημονικό Συνέδριο με θέμα Ημερίδες Μεταβολισμού, 2-5/5/2012, Ευγενίδειο Ίδρυμα, Αθήνα
77. 24<sup>ο</sup> Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 8-12/9/2012, Πράγα Τσεχία
78. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 13-16/6/2012, Καλαμάτα
79. 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδολογίας, Αθηροσκλήρυνσης και Αγγειακής Νόσου, 18-20/10/2012, Αθήνα
80. 25<sup>th</sup> European Congress of Pathology, 31 August – 4 September 2013, Lisbon, Portugal
81. Δ' Πανελλήνια Διημερίδα Παθολογικής Ανατομικής, 19-21/4/2013, Δελφοί
82. Ημερίδα: «Τα λοιμώδη νοσήματα στην Ελλάδα σήμερα: μια αναδυόμενη απειλή.» 14/5/2013, Μέγαρο Μουσικής, Αθήνα

**Παρακολούθηση Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Παθολογικού Ανατομείου Πανεπιστημίου Αθήνας, Συνεδρίων Επιστημονικών Ομάδων Ελλ. Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής, «Ωρας ειδικευομένου», Ενδονοσοκομειακών & Ενδοεργαστηριακών Μαθημάτων**

1. Slide Seminar και ομιλία για παθήσεις των αρθρώσεων 12 & 19/3/1992, Αθήνα
2. Εφαρμογές Μοριακής Βιολογίας στην Παθολογική Ανατομική 10/2/1993, Αθήνα
3. Εφαρμογές Μοριακής Βιολογίας στην Παθολογική Ανατομική 10/2/1993, Αθήνα
4. Σεμινάριο για δυνατότητες και περιορισμούς της Ιστοπαθολογίας στη διάγνωση και αντιμετώπιση των πρωτοπαθών παθήσεων του θυρεοειδούς αδένος 1993, Αθήνα
5. Αγγειίτιδες. Σύγχρονη ταξινόμηση 12/5/1993, Αθήνα
6. Καρκίνος πνεύμονος. Δυσκολίες στη διάγνωση και νεώτερα δεδομένα με προγνωστική σημασία Νοέμβριος 1993, Αθήνα
7. Slide Seminar σε όγκους μαλακών μορίων 22/2/1994, Αθήνα
8. Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις Χειρουργικής Παθολογίας – Προβληματισμοί στην καθημερινή διαγνωστική πράξη Αθήνα
9. Ημερίδα: «Χρονία Γαστρίτις» Νοέμβριος 1995, Αθήνα
10. Συμπόσιο Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής: «Νεοπλασματικές παθήσεις οισοφάγου – στομάχου» 27/5/1995, Ιωάννινων
11. Κλινικοπαθολογοανατομική προσέγγιση όγκων ΚΝΣ Ιανουάριος 1996, Αθήνα
12. Ιστοπαθολογία ενδοκρινών αδένων (πλην θυρεοειδούς) Φεβρουάριος 1996, Αθήνα
13. Σεμινάριο: «Βιοψία με λεπτή βελόνη» Ιανουάριος – Φεβρουάριος 1997, Αθήνα
14. Κλινικοπαθολογοανατομική προσέγγιση νεοπλασμάτων παγκρέατος και περιοχής φύματος Vater 20/3/1998, Αθήνα
15. Διάγνωση των παθήσεων του θυρεοειδούς αδένος με βιοψία δια λεπτής βελόνης, Αθήνα
16. Μελαγχρωστικές αλλοιώσεις δέρματος 18,19/2/2000, Αθήνα
17. Φοιτητική Ημερίδα με θέματα Προληπτικής Ιατρικής του Εργ. Υγιεινής και Επιδημιολογίας Πανεπιστημίου Αθήνας 1/6/2000, Αθήνα
18. Μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις ΚΝΣ και Περιφερικών Νεύρων 16/3/2001, Αθήνα
19. Λεμφώματα και Ψευδολεμφώματα δέρματος 3/11/2001, Αθήνα
20. Νεοπλάσματα Ήπατος – Σεμινάριο Προγράμματος Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Παθολογικού Ανατομείου Παν. Αθήνας 24,25/1/2003, Αθήνα
21. Σεμινάριο Ομάδας Δερματοπαθολογοανατομίας «Αιμαγγειώματα και αγγειακές δυσπλασίες», με διεθνή συμμετοχή Αμφιθ. Astra-Zeneca, Αθήνα 29/11/2003
22. Επιστημονικό Σεμινάριο Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας: «Το φάσμα των Νεοπλασμάτων του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος» 28/2/2003, Αθήνα
23. Η Οστεομυελική Βιοψία στη διάγνωση αιματολογικών νοσημάτων – Σεμινάριο Προγράμματος Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Παθολ. Ανατομείου Παν. Αθήνας 28/3/2003, Αθήνα
24. Σεμινάριο Ομάδας Πεπτικού Συστήματος Ελλ. Ετ. Γεν. Παθ. Και Παθολ. Ανατομικής Θέμα: Ανοσοϊστοχημικοί δείκτες επιθηλιακών νεοπλασματικών παθήσεων γαστρεντερικού σωλήνα. Διάγνωση, πρόγνωση. 5/6/2003, Αθήνα
25. Η Ώρα του Ειδικευόμενου: Λεμφικές παθήσεις του πνεύμονα. Κοκκιωματώδεις πνευμονοπάθειες- Αγγειίτιδες- Κακοήθη λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα

- πνεύμονος. Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας και Παθολογ. Ανατομικής, 26/11/03, Αθήνα
26. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, Πανεπ. Αθήνας. Α. Προδιηθητικές αλλοιώσεις του προστάτη Β. Παρουσίαση ενδιαφερουσών περιπτώσεων. Εισηγητής: Κ. Πετράκη, 1/4/03
  27. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας, Πανεπ. Αθήνας 11/6/2003
  28. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Ελλ. Ετ. Γεν. Παθ. Και Παθολ. Ανατομικής. Controversial and difficult cases discussed by a panel of uropathologists από το Slide Seminar του 19ου Συνεδρίου της Παθολογικής Ανατομικής Sept. 2003 Ljubljana, Slovenia, 7/10/2003, Πανεπ. Αθηνών
  29. Τακτική συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας, Πανεπ. Αθήνας, 3/12/2003
  30. Τακτική συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Παθολογικής Ανατομικής : Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών από το Slide Seminar του 19ου Πανευρωπαϊκού Συνεδρίου Παθ. Ανατομικής Εκλογές Αθήνα, 2/12/2003
  31. Ενδοεργαστηριακό μάθημα 1. Τανικυτταρικό Επενδύωμα. Συζήτηση ενδιαφέροντος περιστατικού και εν γένει των επενδυωμάτων 2. Ηωσινόφιλο κοκκίωμα κρανίου. Langerhans cell histiocytosis Εισηγητής: Ε. Θωμά-Τσαγκλή 1/9/03
  32. Ενδοεργαστηριακό μάθημα Νόσος Paget των οστών: συζήτηση ενδιαφέροντος περιστατικού Εισηγητής: Ε. Θωμά-Τσαγκλή ,24/10/2003
  33. Ημερίδα Ελληνικής Ουρολογικής Εταιρείας και Ελληνικής Εταιρείας Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής: «Απαντήσεις των Παθολογοανατόμων στους Προβληματισμούς των Ουρολόγων» 15/1/2003, Αθήνα
  34. 1ο Διατομεακό Συμπόσιο Νοσοκ. Ασκληπιείου Βούλας, Αμφιθέατρο. «Χημειοπροφύλαξη με αντιβιοτικά» 18/3/2004
  35. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Πανεπ. Αθήνας, Παθολογικό Ανατομείο «Λιγότερο συνηθισμένοι επιθηλιακοί όγκοι παγκρέατος» Εισηγητής: Ε. Καρβούνη 21/1/2004
  36. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Πανεπ. Αθήνας, Παθολογικό Ανατομείο, Γουδί «Όγκοι και ογκόμορφες αλλοιώσεις οστών. Ενδιαφέροντα Περιστατικά» Εισηγητής: Ε. Θωμά- Τσαγκλή 4/3/2004
  37. Επιστημονικό Σεμινάριο Ομάδας Πεπτικού Συστήματος Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας και Παθ. Ανατομικής, Αμφιθ. Ελλ. Γαστρεντερολογικής Εταιρείας «Νοσήματα και βλάβες χολαγγείων» 4/3/2004
  38. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Πανεπ. Αθήνας, Παθολογ. Ανατομείο, Γουδί. «Κλινικοπαθολογοανατομική προσέγγιση μελαγχρωστικών αλλοιώσεων δέρματος- επίδειξη περιστατικών» Εισηγητής: Κ. Φραγκιά 6/5/2004
  39. Προσυνεδριακή Ημερίδα 23/6/2004, Δράμα
  40. Νευροπαθολογοανατομική Ομάδα Παθ. Ανατομικής «Επενδυώματα και φλεγμονώδεις παθήσεις της σπονδυλικής στήλης»

41. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Παθ. Ανατομείου Α. Λάζαρης: Επίδειξη περιπτώσεων προστάτη αδένα σε υλικό διουρηθρικής και βιοψίας δια λεπτής βελόνης 2/12/2004
42. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Παθολογικής Ανατομικής Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών ,3/2/2004, Αθήνα
43. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, Παθολογικό Ανατομείο 18/3/2004
44. Τακτική Συνεδρία Δερματοπαθολογοανατομικής Ομάδας Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας & Παθολογικής Ανατομικής, Παθ. Ανατομείο, Γουδί. Ενδιαφέροντα περιστατικά, 20/4/2004
45. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας & Παθολ. Ανατομικής, Παθ. Ανατομείο, Γουδί «Ιστολογικοί τύποι μυελοβλαστώματος και ενδιαφέροντα περιστατικά» 28/4/2004
46. 23/6/2004 Προσυνεδριακή Ημερίδα, Δράμα
47. Νευροπαθολογοανατομική Ομάδα Παθ. Ανατομικής «Επενδυώματα και φλεγμονώδεις παθήσεις της σπονδυλικής στήλης»
48. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθολογικής Ανατομικής Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών 5/10/2004
49. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παθολογικής Ανατομικής Βιοψία μυός Εισηγητής: Μ. Τσαμούρη-Μαντά 13/10/2004
50. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας Παθ. Ανατομικής Γ. Κοντογεώργος: Ογκόμορφες αλλοιώσεις υποφύσεως – Παρουσίαση περιστατικών 15/12/2004
51. 1ο Ενδοεργαστηριακό μάθημα. Εισηγητής Β. Λεοντάρα. Θέμα: Προκαρκινωμάτωσης αλλοιώσεις του προστάτη-Ανοσοϊστοχημεία-Μοριακή Βιολογία 20/10/2005
52. 3ο Ενδοεργαστηριακό Μάθημα. Εισηγητής Β. Λεοντάρα. Θέμα: Υμενίτιδες 5/12/2005
53. Σεμινάριο Διηθητικός καρκίνος μαστού 19/3/2005 Παν. Γεν. Νοσοκομείο Αττικόν
54. Ημερίδα Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παθ. Ανατομικής Θέμα: Dementia. Clinical and Neuropathological Features 22/6/2005, Αθήνα
55. Σεμινάριο Ομάδας Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Παθ. Ανατομικής. Θέμα: Όγκοι όρχεως – Νέες διαγνωστικές προσεγγίσεις. 5/4/2005 Πανεπ. Αθήνας
56. «Η ώρα του Ειδικευόμενου: Σύνδρομα πολυποδίασης του ΓΕΣ». Εισηγητής: Ε. Θωμά-Τσαγκλή 1/6/2005
57. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας, Παν. Αθήνας. Εισηγητής: **Κ. Διαμαντοπούλου** Θέμα: Ολιγοδενδρογλοίωμα-Νεότερα δεδομένα στη διάγνωση – Επίδειξη περιστατικών 12/10/2005
58. 8η Ετήσια Ημερίδα και μετεκπαιδευτικό μάθημα Παν. Αθήνας. «Καρκίνος του Μαστού. Εξελίξεις, αλλαγές και προβληματισμοί στη διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση» 22/10/2005, Αμφ. Νος. ΝΙΜΤΣ

59. Μετεκπαιδευτικό Μάθημα Παθολ. Ανατομικής Παν. Αθήνας Θέμα: Η διάγνωση της ενδοεπιθηλιακής υπερπλασίας προστάτη και η σημασία της – Επίδειξη περιπτώσεων Εισηγητής: Α. Λάζαρης 8/12/2005
60. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Παθ. Ανατομικής Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών 8/2/2005
61. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παθ. Ανατομικής Όγκοι ΚΝΣ στην παιδική ηλικία και παρουσίαση περιστατικών 9/2/2005
62. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παθ.Ανατομικής, Πανεπ. Αθήνας. Θέμα: Βλάβες εγκεφαλικών κυττάρων από μεταβολικές διαταραχές 13/4/2005
63. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας Παθ. Ανατομικής. Παν. Αθήνας. Επίδειξη ενδιαφερουσών περιπτώσεων από European Congress of Pathology, Paris 3-8 Sept 2005. Εισηγητής: Α. Λάζαρης 6/12/2005
64. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παθολ. Ανατομικής, Πανεπ. Αθήνας Θέμα: Θέματα Περιγεννητικής Νευροπαθολογοανατομίας. Εισηγητής: Α. Κωνσταντινίδου 8/2/2006
65. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Παθολογ. Ανατομικής, Πανεπ. Αθήνας. Επίδειξη ενδιαφερόντων περιστατικών από European Congress of Pathology, 3-8 Sept 2005 Paris, Μέρος Β΄. Εισηγητής: Α. Λάζαρης 28/2/2006
66. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθ/Ανατομικής Εταιρείας. Επίδειξη ενδιαφερόντων περιστατικών 3/10/2006
67. Σεμινάριο στα πλαίσια των Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Πανεπ. Αθήνας. Θέμα: Νεότερα δεδομένα στους όγκους κεφαλής και τραχήλου 17/2/2006
68. Εκπαιδευτικό Σεμινάριο της Γυναικολογικής Ομάδας και Ομάδας Μαστού. Θέμα: Γυναικολογικό Σύστημα και Μαστός – Επίδειξη περιστατικών – Slide Seminar 10/3/2006
69. Ημερίδα στα πλαίσια Μετεκπαιδευτικών Μαθημάτων Παν. Αθηνών Πρωτοπαθή δερματικά λεμφώματα, Αίγλη Ζαπτείου 31/3/2006
70. Σεμινάριο Νεφροουρολογικής Ομάδας, Αμφ. Γαστρεντερολογικής Εταιρείας Θέμα: Καρκίνος προστάτου 6/6/06
71. “Η ώρα του ειδικευόμενου” Θέμα: 1.Σπειραματονεφρίτιδες –πάθειες 4/10/2006
72. Χειρισμός παρασκευάσματος νεφρεκτομής Εισηγητές: Α. Νακοπούλου, Α. Κορδέλας
73. Επιστημονικό Σεμινάριο Ομάδας Πεπτικού Συστήματος Θέμα:Νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα πεπτικού συστήματος. Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών
74. “Η ώρα του ειδικευόμενου” Θέμα: Καλοήθεις και κακοήθεις όγκοι νεφρού πλην νεφροκυτταρικού και ουροθηλιακού καρκινώματος Εισηγητής:Σ. Χρανιώτη 1/11/2006
75. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας Παν. Αθηνών Θέμα: Επίδειξη ενδιαφερόντων περιστατικών από European Congress of Pathology Paris, 3-8/9/2006 Μέρος Γ Εισηγητής: Α. Λάζαρης 4/4/2006
76. 12/4/2006 Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παν. Αθηνών Επενδυώματα ΚΝΣ Εισηγητής: Ισμαήλου- Παράση 4/4/2006

77. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθ/Ανατομικής Εταιρείας Σεμινάριο Θέμα: Καρκίνος προστάτου 6/6/06
78. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθ/Ανατομικής Εταιρείας. Επίδειξη ενδιαφερόντων περιστατικών 5/12/2006
79. 4ο Ενδοεργαστηριακό Μάθημα Θέμα: Μηνιγγιώματα. Εισηγητής: Σ. Χρανιώτη 9/2/2006
80. Εκπαιδευτικό Μάθημα Μικροβιολογικού Τμήματος Γ. Ν. Ασκληπιείου Βούλας Θέμα: Γρίπη των πτηνών – Πανδημία γρίπης 2/3/2006
81. Εκπαιδευτικό Μάθημα Βαθμοποίηση προκαρκινικών αλλοιώσεων στοματικής κοιλότητας και λάρυγγα Εισηγητής: Ε. Θωμά – Τσαγκλή 6/4/2006
82. Μάθημα στην Ουρολογική Κλινική Θέμα: Ανοσολογία & Παθολογοανατομία του προστάτη αδένα Εισηγητής: Β. Λεοντάρα 26/4/2006
83. Ενδοεργαστηριακό μάθημα Θέμα: Στερεοτακτική βιοψία εγκεφάλου – Προσέγγιση στη διάγνωση γλοιωμάτων Εισηγητής: Β. Λεοντάρα 27/6/2006
84. Εκπαιδευτικό μάθημα Α Χειρουργικής Κλινικής Ασκληπιείου Βούλας Θέμα: Ca παγκρέατος Εισηγητής: Β. Λεοντάρα 25/10/2006
85. Ενδοεργαστηριακό μάθημα Θέμα: Σύγχρονη ταξινόμηση δυσπλασίας/ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας στομάχου Εισηγητής: Β. Λεοντάρα 30/11/2006
86. “Η ώρα του ειδικευόμενου” Θέμα: 1. Καρκίνος προστάτου: ο Ουρολόγος και το Παθολογοανατομικό Εργαστήριο Εισηγητής: Μητρόπουλος 2. Προκαρκινικές αλλοιώσεις προστάτου Εισηγητής: Κ. Πετράκη 10/1/2007
87. Επιστημονική Ημερίδα Ομάδας Πεπτικού Συστήματος Θέμα: Ανοσία και αυτοάνοσα νοσήματα ΓΕΣ 9/3/2007
88. Επιστημονική Ημερίδα Δερματοπαθολογοανατομικής Ομάδας Θέμα: Εξαρτηματικοί όγκοι δέρματος 30/3/2007, Αθήνα
89. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Παθολ. Ανατομικής Θέμα: Συγγενείς μυοπάθειες 16/1/2007
90. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθ/Ανατομικής Εταιρείας. Επίδειξη ενδιαφερόντων περιστατικών 6/2/2007
91. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθ/Ανατομικής Εταιρείας. Επίδειξη ενδιαφερόντων περιστατικών 3/4/2007
92. Ενδοεργαστηριακό μάθημα Θέμα: Συμβολή της ανοσοϊστοχημείας στη ΔΔ καλοήθων και κακοήθων όγκων λιπώδους ιστού Εισηγητής: Β. Λεοντάρα 20/3/2007
93. Συνεδρία Ελληνικής Ογκολογικής Ερευνητικής Ομάδας, 23-24/2/2007, Αθήνα
94. Β’ Πανελλήνια Δημερίδα Τακτική Συνεδρία Ελληνικής Παθολογικής Ανατομικής ως προς τη Νεφροουρολογική Ομάδα με θέμα: «Οδηγίες για τη σύνταξη των ιστολογικών εκθέσεων των συχνότερων κακοήθων νεοπλασμάτων – Απαραίτητες πληροφορίες», 23-24/5/2009, Λιτόχωρο Πιερίας
95. Τακτική Συνεδρία Ομάδας Νευρικού Συστήματος, 10/2/2010, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνα
96. «Η Ώρα του Ειδικευόμενου» με θέμα: «Ινοβλαστικοί όγκοι μαλακών μορίων», 10/2/2010, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνα

97. Ομάδα Περιγεννητικής Παθολογοανατομίας, θέμα: «Παιδιατρικοί όγκοι νεφρού», 17/5/2010, ΕΚΠΑ
98. Ημερίδα Αιμοπαθολογοανατομικής Ομάδας, θέμα: «Διαγνωστικές παγίδες στην Αιμοπαθολογοανατομία», 28/5/2010, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνα
99. 12<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 16-19/6/2010, Θεσσαλονίκη
100. Ενδοεργαστηριακό Μετεκπαιδευτικό μάθημα με θέμα: «Ανατομία – Ιστολογία νεφρού. Όγκοι νεφρού», 30/9/2010, Παθ/Αν Τμήμα ΚΑΤ
101. Ενδοεργαστηριακό Μετεκπαιδευτικό μάθημα με θέμα: «Φλεγμονή», 21/10/2010, Παθ/Αν Τμήμα ΚΑΤ
102. Δημερίδα Α' Μαιευτικής – Γυναικολογικής Κλινικής Πανεπ. Αθήνας – Τμήμα Παθολογίας Μαστού Θέμα: «Ο ρόλος του Γυναικολόγου στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού – Ο ειδικός θεραπεύει, ο μη ειδικός σώζει» 15-16/12/2006, Αθήνα
103. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 20/10/2011, ΕΚΠΑ
104. Ημερίδα Αιμοπαθολογοανατομικής Ομάδας, θέμα: «Η θέση της οστεομυελικής βιοψίας στη διαγνωστική προσέγγιση και παρακολούθηση των αιματολογικών νόσων», 16/12/2011, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνα
105. Στρογγυλή Τράπεζα στα πλαίσια του Εκπαιδευτικού Προγράμματος ΓΝ ΚΑΤ με θέμα: «Μελάνωμα» (Συντονιστής: Π. Παναγιώτου, Εισηγητής: Ε. Μαχαίρα)
106. Εκπαιδευτικές Ημέρες «Γ. Παπαδάκης» πρωτοβάθμιας φροντίδας, 6-10/2/2012, Ζάππειο, Αθήνα
107. Τακτική Συνεδρία Ομάδας Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, 15/2/2012, Παθολογικό Ανατομείο ΕΚΠΑ. Επίδειξη περιστατικών.
108. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 25/4/2012, Παθολογικό Ανατομείο ΕΚΠΑ
109. Ημερίδα Ομάδας ΓΕΣ με θέμα: «Ατροφική γαστρίτις – ΗΡ γαστρίτις». Εισηγητής: Κ. Μπαρμπάτη, 11/11/2013.
110. Ενδονοσοκομειακή Στρογγυλή Τράπεζα με θέμα: 1) «Νευροενδοκρινικοί Όγκοι Πεπτικού Συστήματος», Αμφιθέατρο Νοσοκομείου ΚΑΤ, 24/5/2012 2) Στρωματικοί Όγκοι Γαστρεντερικού Συστήματος – GIST», Αμφιθέατρο Νοσοκομείου ΚΑΤ, 21/3/2013
111. Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα ΕΚΠΑ με θέμα: «Ο ρόλος της Παθολογοανατομικής Νεκροτομής στην κλινική πράξη, στην επιδημιολογία και στην έρευνα», 31/1-1/2/2013
112. 13<sup>ο</sup> έτος Εκπαιδευτικές Ημέρες Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας «Γ. Παπαδάκης», 11-15/2/2013, Αθήνα
113. Ημερίδα Πανεπιστημιακής Κλινικής Στοματικής Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής «Οστικό μόσχευμα – Διαταραχές Οστικού Μεταβολισμού», 23/2/2013, Θεσσαλονίκη
114. Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Α' Εργ. ΕΚΠΑ με θέμα: Λεμφοϋπερπλαστικές επεξεργασίες, 4-5/4/2013. Συντονίστριες: Π. Κορκολοπούλου, Γ. Λεβίδου
115. Μοριακή Ιστοπαθολογία στα πλαίσια των μαθημάτων της Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής που απευθύνονταν στους ειδικευόμενους, 13/4/2013



116. Διήμερο σεμινάριο Α' Εργ. ΕΚΠΑ με θέμα: «Από το οπτικό μικροσκόπιο στο ηλεκτρονικό. Η συμβολή της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας στην παθολογοανατομική διάγνωση.» 25-26/4/2013
117. Ημερίδα: Ομάδα Αιμοπαθολογοανατομίας με θέμα: « Επιθετικά Β-λεμφώματα, νέα δεδομένα- διαγνωστική προσέγγιση», 1/6/2013, Αμφιθέατρο Γαστρεντερολογικής Εταιρείας, Αθήνα
118. 2<sup>ο</sup> Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο ΕΚΠΑ με θέμα: « Νέα δεδομένα στα ενδοπορικά νεοπλάσματα παγκρέατος – χολαγγείων», 27/2/2014 , Αθήνα
119. Ομιλία Μικροβιολογικού Εργαστηρίου ΝΕΕΣ με θέμα: «Εφαρμογή πρωτοτύπου EN ISO 15189 στα Κλινικά Εργαστήρια», 18/3/2014, Αίθουσα ΚΕΚ ΝΕΕΣ
120. Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Πανεπιστημίου Αθηνών με θέμα: «Επιθηλιακά νεοπλάσματα σιελογόνων αδένων: κλινικοπαθολογική – κυτταρολογική προσέγγιση και νέα δεδομένα». (Συντονιστές: Θεοχάρης Σ., Κορκολοπούλου Π.), 3-4/4/2014, Πανεπιστήμιο Αθηνών
121. 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα

**Ως Εκπαιδευτής στην Ώρα του Ειδικευόμενου, σε Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ομάδων Εταιρίας Γενικής Παθολογίας & Παθολογικής Ανατομικής και σε Ενδοεργαστηριακά & Ενδονοσοκομειακά Μαθήματα**

1. Ενδοεργαστηριακό μάθημα: Υπερπλασία / αδένωμα παραθυρεοειδών αδένων. Διαφορική διάγνωση 10/10/2003
2. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Παθολογικής Ανατομικής Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών Εισηγητής( περ. 5): **Κ. Διαμαντοπούλου**. «Σύγχρονη ανάπτυξη θηλώδους νεφροκυτταρικού καρκινώματος με ουροθηλιακό καρκίνωμα της νεφρικής πυέλου του ίδιου νεφρού» 3/2/2004, Αθήνα
3. Τακτική Συνεδρία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής, Παθολογικό Ανατομείο. Ενδιαφέροντα περιστατικά. Εισηγητής: **Κ. Διαμαντοπούλου** «Μυξοθηλώδες επενδύωμα τελικού νηματίου», 18/3/2004
4. Τακτική Συνεδρία Δερματοπαθολογοανατομικής Ομάδας Ελλ. Ετ. Γεν. Παθολογίας & Παθολογικής Ανατομικής, Παθ. Ανατομείο, Γουδί. Ενδιαφέροντα περιστατικά Εισηγητής: **Κ. Διαμαντοπούλου** «Οζώδες ερύθημα σε βιοψία δέρματος και σαρκοείδωση υποκείμενου μυός» 20/4/2004
5. Προσυνεδριακή Ημερίδα 23/6/2004, Δράμα
6. Νευροπαθολογοανατομική Ομάδα Παθ. Ανατομικής «Επενδυώματα και φλεγμονώδεις παθήσεις της σπονδυλικής στήλης» Εισηγητής: **Κ. Διαμαντοπούλου**
7. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής & Ανδρολογικής Ομάδας Παθολογικής Ανατομικής Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών «Κυανούς Σπίλος Προστάτη» Εισηγητής **Κ. Διαμαντοπούλου** 5/10/2004

8. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής και Ανδρολογικής Ομάδας Παθ. Ανατομικής Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών Εισηγητής: **Κ. Διαμαντοπούλου**: Λεμφοεπιθηλιακού τύπου καρκίνωμα ουροδόχου κύστεως 8/2/2005
9. Τακτική Συνεδρία/ Ομιλία Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας, Παν. Αθήνας. **Εισηγητής: Κ. Διαμαντοπούλου** Θέμα: Ολιγοδενδρογλοίωμα-Νεότερα δεδομένα στη διάγνωση – Επίδειξη περιστατικών 12/10/2005
10. 2ο Ενδοεργαστηριακό μάθημα Γ. Ν. Ασκληπιείου Βούλας Εισηγητής **Κ. Διαμαντοπούλου** Θέμα: Παραδοσιακοί και νεότεροι προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως 3/11/2005
11. Επιστημονικό Σεμινάριο Ομάδας Πεπτικού Συστήματος Θέμα:Νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα πεπτικού συστήματος. Παρουσίαση ενδιαφερόντων περιστατικών. Πολυεστιακό καρκινοειδές λεπτού εντέρου Εισηγητής: **Κ. Διαμαντοπούλου** 12/10/2006
12. Εισήγηση με θέμα: Ανατομία – Ιστολογία ουροδόχου κύστεως. Χειρισμός παρασκευάσματος ριζικής κυστεκτομής και διουρηθρικής εξαίρεσης ουροθηλιακού καρκινώματος (TUR-BT), 8/11/2006
13. Παρουσίαση ενδιαφέροντος περιστατικού από Β΄ Παθολογική Κλινική Γ. Ν. Ασκληπιείου Βούλας Θέμα: Αγγειοανοσοβλαστικό T- λέμφωμα. 28/3/2006
14. Μετεκπαιδευτικό Μάθημα στην Ουρολογική Κλινική Θέμα: Ανοσολογία – Παθολογοανατομία καρκίνου όρχεως Γ. Ν. Ασκληπιείου Βούλας, 7/6/2006
15. Ενδοεργαστηριακό μετεκπαιδευτικό μάθημα Γ. Ν. Ασκληπιείου Βούλας : Βλεννώδες κυσταδενοκαρκίνωμα ωοθήκης σχετιζόμενο με ψευδομύξωμα περιτοναίου (μεταστατικό από τη σκωληκοειδή απόφυση). 5/10/2006
16. Μετεκπαιδευτικό μάθημα Α΄ Γεν. Χειρουργικής Γ. Ν. Ασκληπιείου Βούλας Θέμα: Κίρρωση ήπατος vs ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα 29/11/2006
17. Σεμινάριο/ Τετράωρη εκδήλωση Νευροπαθολογοανατομικής Ομάδας Θέμα: Βαθμοποίηση όγκων ΚΝΣ – Νεότερα δεδομένα **Εισηγητής: Κ. Διαμαντοπούλου** (Μηνιγγιώματα) 20/2/2007
18. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 3/2/2009, ΕΚΠΑ
19. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας , «Παρουσίαση περιστατικού όγκου νεφρού» από ειδικευόμενη Ιατρό Π.Τζιάκου, ΓΝ ΚΑΤ- επιμέλεια: Διαμαντοπούλου Κ., Επ. Α΄ Παθ/Αν Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ), 7/4/2009, ΕΚΠΑ
20. Εισηγητής στη Β΄ Πανελλήνια Δημερίδα Τακτική Συνεδρία Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής ως προς τη Νεφροουρολογική Ομάδα με θέμα: «Οδηγίες για τη σύνταξη των ιστολογικών εκθέσεων των συχνότερων κακοήθων νεοπλασμάτων- Απαραίτητες πληροφορίες», 23-24/5/2009, Λιτόχωρο Πιερίας
21. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας , «Παρουσίαση περιστατικού από ειδικευόμενη Ιατρό Δ.Ρήγα ,ΓΝ ΚΑΤ – επιμέλεια : **Διαμαντοπούλου Κ.**, Επ.Α΄ Παθ/Αν Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ), 2/6/2009, ΕΚΠΑ
22. Εισηγητής σε Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας με θέμα «Ενημέρωση για τη θεματολογία του 22<sup>ου</sup> Πανευρωπαϊκού Συνεδρίου Παθολογικής Ανατομικής ως προς την ουροδόχο κύστη». Στην ίδια Συνεδρία «Παρουσίαση περιστατικού αλλοίωσης ουροδόχου κύστης από ειδικευόμενη Ιατρό Δ.Ρήγα ,ΓΝ

ΚΑΤ – επιμέλεια: **Διαμαντοπούλου Κ.**, Επ.Α' Παθ/Αν Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ), 6/10/2009, ΕΚΠΑ

23. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 1/12/2009, ΕΚΠΑ

24. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 2/2/2010, ΕΚΠΑ

25. Εισηγητής με θέμα «Μηχανισμοί μετάστασης» στα πλαίσια Ενδονοσοκομειακής Στρογγυλής Τράπεζας με θέμα: «Μεταστατικοί όγκοι» (Συντονίστρια: Ε. Μαχαίρα), 25/2/2010, Αμφιθέατρο ΚΑΤ

26. Εισηγητής στην «Ωρα του Ειδικευόμενου» με θέμα: «Αγγειακοί όγκοι μαλακών μορίων. Νεοπλάσματα αβέβαιης ιστογένεσης», 3/3/2010, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνα

27. Εισηγητής στην «Ωρα του Ειδικευόμενου» με θέμα: «Όγκοι αιμοποιητικού στα πλαίσια οστικών όγκων», 12/5/2010, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνα

28. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 1/6/2010, ΕΚΠΑ

29. Εισηγητής στο 12<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 16-19/6/2010, Θεσσαλονίκη, με: 1)Επίδειξη 2 περιστατικών σε slide seminar με θέμα: «Ογκόμορφες αλλοιώσεις οστών» και 2)Ομιλία «Μοριακή παθογένεση καρκίνου του προστάτη αδένου»

30. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 5/10/2010, ΕΚΠΑ

31. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 7/12/2010, ΕΚΠΑ

32. Εισηγητής σε Ενδονοσοκομειακό Μετεκπαιδευτικό Μάθημα με θέμα: «Όζοι ήπατος», 16/12/2010, ΒΓΧ ΓΝ «ΚΑΤ» (Συντονιστής: Π.Βραχνός, Συντ.Δ/ντής ΒΓΧ ΚΑΤ)

33. Εισηγητής με παρουσίαση περιστατικού (πρωτοπαθές λέμφωμα εγκεφάλου) σε Σεμινάριο Ομάδας Νευρικού Συστήματος με θέμα: «Η διάγνωση όγκων του ΚΝΣ στην καθ'ημέραν πράξη», 22/2/2011

34. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας με παρουσίαση περιστατικού από Χ.Ζώρζο , Επικ. Επιμελητή Β' Παθ/Αν Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ (επιμέλεια: **Διαμαντοπούλου Κ.** , Επ. Α' Παθ/Αν Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ), 1/2/2011, ΕΚΠΑ

35. Δημερίδα Νεφροουρολογικής Ομάδας με θέμα: «Διαφοροδιάγνωση νεοπλασιών ουροποιητικού συστήματος άρρενος βάσει ιστολογικών προτύπων και ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών», Συντονιστές: Α.Λάζαρης, **Κ. Διαμαντοπούλου**. Εισηγητές: Χ. Ευτυχιάδης, Επιμελητής Β' , Ε.Κάβουρα, ειδικευόμενη Ιατρός, Παθολογοανατομικό Τμήμα ΓΝ ΚΑΤ, 8-9/4/2011, Κτήριο Παθ/Αν Εταιρείας, Αθήνας

36. Τακτική Συνεδρία Νεφροουρολογικής Ομάδας, 7/6/2011, ΕΚΠΑ

37. Συμμετοχή ως διδάσκουσα στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα του Παθολογικού Ανατομείου Πανεπιστημίου Αθήνας (επιπέδου Master) με θέμα: «Νεοπλασματική Νόσος στον άνθρωπο: σύγχρονη παθολογοανατομική προσέγγιση». Μοριακή παθογένεση καρκίνου του προστάτη αδένου., 4/5/2010, 2/5/2011

38. Συμμετοχή ως διδάσκουσα στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα του Παθολογικού Ανατομείου Πανεπιστημίου Αθήνας με θέμα: «Νεοπλασματική Νόσος στον άνθρωπο: σύγχρονη παθολογοανατομική προσέγγιση». Κύριες κατηγορίες όγκων μαλακών μορίων, 8/12/2010, 13/12/2011

39. Τακτική Συνεδρία Ομάδας Νευρικού Συστήματος, θέμα: «Νεότερα δεδομένα στη μοριακή βιολογία των γλιωμάτων» Εισηγητής: Λεβίδου Γ.. Παρουσίαση περιστατικού από Γ. Πιάγκο, ειδικευόμενο Ιατρό Παθολογοανατομικού Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ- επιμέλεια: **Διαμαντοπούλου Κ.**, Επ. Α' Παθ/Αν Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ), 17/2/2012, ΕΚΠΑ
40. Εισηγητής στο 3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Τεχνολόγων/ Παρασκευαστών Ιατρικών Εργαστηρίων με θέμα: «Η σύμβολη της ανοσοϊστοχημείας στην ουρολογική νεοπλασία», 26-30/3/2012
41. Εισηγητής στα πλαίσια του Προγράμματος Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης του ΚΑΤ 2011-2012 και 2012-2013, Ενδονοσοκομειακή Στρογγυλή Τράπεζα με θέμα: 1) «Νευροενδοκρινικοί Όγκοι Πεπτικού Συστήματος», Αμφιθέατρο Νοσοκομείου ΚΑΤ, 24/5/2012, 2) «Στρωματικοί Όγκοι Γαστρεντερικού Συστήματος», Αμφιθέατρο Νοσοκομείου ΚΑΤ, 21/3/2013
42. Στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος του Παθολογικού Ανατομείου Πανεπιστημίου Αθήνας: «Νεοπλασματική νόσος στον άνθρωπο: σύγχρονη παθολογοανατομική προσέγγιση» 1) Εισήγηση με θέμα «Μοριακή Παθογένεση του Καρκίνου του Προστάτη», 9/5/2012, 2) Εισήγηση με θέμα «Κύριες κατηγορίες όγκων μαλακών μορίων» 4/12/2012
43. Τακτική Συνεδρία Ομάδας Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, 15/5/2012, Παθολογικό Ανατομείο ΕΚΠΑ. Επίδειξη περιστατικών. Εισηγητής: Γ. Πιάγκος, Ειδικευόμενος Ιατρός Παθολογοανατομικού Τμήματος ΚΑΤ – επιμέλεια: **Κ. Διαμαντοπούλου**, Επιμελήτρια Α' Παθολογοανατομικού Τμήματος ΚΑΤ
44. Στα πλαίσια Μετεκπαιδευτικού Σεμιναρίου ΕΚΠΑ με θέμα: «Όγκοι Κεφαλής και Τραχήλου», 27-28/1/2011, Εισηγητής με θέμα: «Κλινικώς προβάλλοντες όγκοι», 28/1/2011, Παθολογικό Ανατομείο ΕΚΠΑ
45. Συμμετοχή σε Ενδοκλινικό Μάθημα της ΩΡΛ Κλινικής ΝΕΕΣ «Κοργιαλένιο – Μπενάκειο» ως Ομιλήτριας με θέμα: «Επιθετικοί τύποι θηλώδους καρκινώματος», 14/11/2013
46. Εισήγηση στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα ΕΚΠΑ «Νεοπλασματική Νόσος στον Άνθρωπο» ( Υπεύθυνος: Ε. Πατσούρης) με θέμα: «Κύριες Κατηγορίες όγκων μαλακών μορίων», 3/12/2013
47. Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο ΕΚΠΑ με θέμα: «Ιστολογική Διάγνωση Όγκων Νεφρού» **Εισηγητής: Κ. Διαμαντοπούλου** με θέμα: «Παρουσίαση περιστατικού: Αταξινόμητο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα νεφρού», 23-24/1/2014
48. Εισηγητής στο 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Τεχνολόγων/ Παρασκευαστών Ιατρικών Εργαστηρίων (ΕΝΤΕΠΑ) με θέμα: «Νεότερα δεδομένα στην παθολογοανατομική προσέγγιση του καρκίνου του μαστού», 31/3-4/4/2014, Αθήνα
49. Εισηγητής στο 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, 18-21/6/2014, Αθήνα στα πλαίσια Στρογγυλής Τράπεζας της Ομάδας ΚΝΣ με θέμα: «Νεότερα δεδομένα της Μοριακής Παθολογικής Ανατομικής σε όγκους ΚΝΣ», με θέμα: «Νεότερα δεδομένα της Μοριακής Παθολογικής Ανατομικής στα μηνιγγιώματα».

## **Συμμετοχή στην εκπόνηση διδακτορικών διατριβών**

1. Συμμετοχή στην εκπόνηση (2) διδακτορικών διατριβών, το παρασκευαστικό τμήμα των οποίων έγινε στο Παθ/Αν Τμήμα ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας: Σεκούρης Νικόλαος, Κεφάλας Αθανάσιος, ειδικευόμενοι Ιατροί Ορθοπαιδικής Κλινικής Ασκληπιείου Βούλας με θέμα: «Κυτταρική ανταπόκριση των τενοντίων ελύτρων σε τραυματισμό τενόντων – πειραματική μελέτη σε κουνέλια Ν. Ζηλανδίας». Επιβλέπων Καθηγητής: Σουκάκος Π. Έχουν δημοσιευτεί τα αποτελέσματα των εν λόγω διατριβών.
2. Συμμετοχή στην εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, το παρασκευαστικό τμήμα της οποίας έγινε στο Παθ/Αν Τμήμα ΓΝ Ασκληπιείο Βούλας: Αυγερινός Ε., ειδικευόμενος Ιατρός Γεν. Χειρουργικής. Θέμα: «Ο δυναμικός ρόλος της φωσφολιπάσης Α2 στον οξύ τραυματισμό πνεύμονα σε ζωϊκό μοντέλο ισχαιμίας - επαναιμάτωσης». Επιβλέπων Καθηγητής: Σμυρνιώτης Β. Έχουν δημοσιευτεί τα αποτελέσματα της εν λόγω διατριβής.
3. Συμμετοχή στην εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, το παρασκευαστικό τμήμα της οποίας έγινε στο Παθ/Αν Τμήμα ΓΝ ΚΑΤ: Σπυρόπουλος Βασίλειος, Ιατρός, ειδικευόμενος Χειρουργικής, ΠΓΝ «Αττικόν». Θέμα: «Η επίδραση των προβιοτικών και συμβιοτικών στον εντερικό βλεννογόνο κατά την μετακτινική εντερίτιδα και κολίτιδα σε επιμύες». Επιβλέπων Καθηγητής: Καρατζάς Γ. Έχουν δημοσιευτεί τα αποτελέσματα της εν λόγω διατριβής.
4. Συμμετοχή στην εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, το παρασκευαστικό τμήμα των οποίων έγινε στο Παθ/Αν Τμήμα ΓΝ ΚΑΤ: Δανέβα Ελένη, Νοσηλεύτρια Νευροχειρουργικού Τμήματος ΓΝ ΚΑΤ. Θέμα: «Μηχανοϋποδοχείς σε τένοντες χοίρων». Επιβλέπων Καθηγητής: Καπετανάκης Στ., Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης
5. Συμμετοχή στην εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, το παρασκευαστικό τμήμα των οποίων έγινε στο Παθ/Αν Τμήμα ΓΝ ΚΑΤ: από ΦΙΑΠ ΓΝ ΚΑΤ, δυο Ιατροί, με θέμα: «Ανίχνευση ουσιών / μορίων, που συμμετέχουν στην επούλωση τραύματος εκ κατακλίσεως».

## **Συμμετοχή ως εισηγητή/κριτή σε συμβούλια κρίσεων για την επιλογή Επιμελητή Β' Παθολογικής Ανατομικής (2010-2012) στα Νοσοκομεία:**

- ΓΝΑ «ΚΑΤ»
- ΓΝΑ «Ευαγγελισμός» (Αιμοπαθολογοανατομικό)
- ΓΝΑ «Αγλαΐα Κυριακού»

## **Συμμετοχή σε Επιστημονικές Εταιρείες**

1. Ελληνική Εταιρεία Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής
2. European Society of Pathology

3. Euro-CNS
4. Ελληνικό Τμήμα της IAP
5. Επιστημονική Εταιρείας Μελέτης & Αντιμετώπισης του AIDS

### **Ξένες Γλώσσες**

1. Αγγλικά (Άριστα)
2. Γαλλικά (Άριστα)
3. Γερμανικά (Καλά)

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το ουροθηλιακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης είναι ο έβδομος πιο συχνός τύπος καρκίνου παγκοσμίως. Αποτελεί το δεύτερο συχνότερο κακοήθες νεόπλασμα του ουροποιογεννητικού και τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου από όλα τα νοσήματα του ίδιου συστήματος.

Ορισμένοι ασθενείς με διηθητικά καρκινώματα παρουσιάζουν συχνά υποτροπές (τάση για εξέλιξη του όγκου προς υψηλότερο βαθμό κακοήθειας) και δυσμενή πρόγνωση. Δεδομένου ότι οι κλασικοί προγνωστικοί δείκτες (όπως μέγεθος του όγκου, πολυεστιακότητα, βαθμός κακοήθειας και στάδιο της νόσου), αδυνατούν να προσδιορίσουν τους ασθενείς αυτούς, η τάση των ερευνών παγκοσμίως στρέφεται προς την ανεύρεση μοριακών βιολογικών δεικτών σχετιζομένων – σε ατομικό επίπεδο- με την πιθανότητα υποτροπής, την πρόγνωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Η κυκλοξυγενάση (COX) αποτελεί το κυριότερο ένζυμο μετατροπής του αραχιδονικού οξέος σε προσταγλανδίνες. Έχουν αναγνωρισθεί δύο (2) ισομορφές του ενζύμου, η COX-1, που συμμετέχει στη φυσιολογική λειτουργία σχεδόν όλων των ιστών και η COX-2, που επάγεται κατόπιν επίδρασης φλεγμονωδών και άλλων παραγόντων, όπως κυτοκινών, ενδοτοξινών, αυξητικών παραγόντων και μιτογόνων.

Οι προσταγλανδίνες ασκούν τη δράση τους είτε συνδεδεμένες σε υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων, είτε δρώντας σε μια οικογένεια πυρηνικών υποδοχέων, που προκαλούν υπερπλασία στα υπεροξυσώματα (PPARs), και ειδικά του PPAR-γ.

Ο PPAR-γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor-γ) είναι μέλος της οικογένειας πυρηνικών υποδοχέων (NHR), στην οποία ανήκουν οι υποδοχείς στεροειδών και θυρεοειδικών ορμονών. Εμφανίζει δράση μεταγραφικού παράγοντα και επηρεάζει τη μεταγραφή γονιδίων κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διήθησης καρκινικών κυττάρων και αγγειογένεσης. Επίσης φαίνεται να εμπλέκεται στο μεταβολισμό των λιπιδίων καθώς και στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των λιποκυττάρων, ευαισθητοποίηση στην ινσουλίνη, φλεγμονή, αθηροσκλήρυνση και καρκινογένεση.

**Σκοπός** της μελέτης αυτής είναι η διερεύνηση της έκφρασης των COX-2 και PPAR- $\gamma$  σε αρχειακό υλικό τομών παραφίνης από 134 επιφανειακά (μη διηθητικά και διηθητικά) ουροθηλιακά καρκινώματα ουροδόχου κύστης. Οι δείκτες αυτοί μελετήθηκαν με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους (δύο ή τριών βημάτων). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, συσχετίστηκαν με:

1. Κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους

2. Ολική επιβίωση ασθενών

3.α. Την έκφραση δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επιδιόρθωσης (ki-67, MLH1, hTERT).

β. Την έκφραση δεικτών απόπτωσης (bcl-2, p53, bax, caspase).

(Οι πληροφορίες για τις ανωτέρω παραμέτρους βρίσκονται σε βάση δεδομένων). Η στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε με πολυπαραγοντική και μονοπαραγοντική ανάλυση.

Η εκπόνηση της μελέτης έγινε στο Παθολογικό Ανατομείο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Ομότιμη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής κ. Λυδία Νακοπούλου για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω τη διατριβή, καθώς και για την επιστημονική καθοδήγηση, εποπτεία και την αμέριστη ηθική συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής. Ευχαριστώ θερμά την κ. Π. Κορκολοπούλου, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής και την κ. Α. Νόννη, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, μέλη της Τριμελούς Επιτροπής Παρακολούθησης της διδακτορικής διατριβής. Ευχαριστώ επίσης ιδιαίτερα την κ. Ι. Γιαννοπούλου, Βιολόγο, για την πολύτιμη βοήθειά της, καθώς και την κ. Ε. Δελιχά για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.



## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΑΝΑΤΟΜΙΑ - ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

Η ουροδόχος κύστη είναι κοίλο μυώδες όργανο, μεταξύ των δυο ουρητήρων και της ουρήθρας. Βρίσκεται στον υποπεριτοναϊκό χώρο της ελάσσονος πυέλου πίσω από την ηβική σύμφυση. Υποδέχεται και διατηρεί τα ούρα μεταξύ των ουρήσεων. Η χωρητικότητά της είναι 2-3 kgr, και έως 4kgr σε παθολογικές καταστάσεις και σε ελάττωση του τόνου της. Συνήθως 200-300 gr προκαλούν έπειξη για ούρηση, αίσθηση που θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως «καθρέφτης» της ψυχικής κατάστασης (1).

Η ουροδόχος κύστη διακρίνεται στα εξής μέρη: πυθμένας, σώμα και κορυφή. Ο μέσος ομφαλοκυστικός σύνδεσμος αποτελεί υπόλειμμα του αποφραχθέντος ουραχού. Οι δυο πλάγιοι ομφαλοκυστικοί σύνδεσμοι αντιστοιχούν στις αποφραχθείσες ομφαλικές αρτηρίες του εμβρύου.

Οι δυο ουρητήρες εισέρχονται στο οπίσθιο τοίχωμα της ουροδόχου κύστης και μια νοητή γραμμή ενώνει τις εισόδους των ουρητήρων. Το περιτόναιο καλύπτει εν μέρει την ουροδόχο κύστη, από την άνω επιφάνειά της (κορυφή) μέχρι τις εισόδους των ουρητήρων.

Σε μεγάλη πλήρωση της ουροδόχου κύστης, η κορυφή της ανεβαίνει μεταξύ περιτοναίου και πρόσθιου κοιλιακού τοιχώματος. Έτσι καθίσταται ασφαλής η υπερηβική παρακέντηση χωρίς κίνδυνο τρώσης του περιτοναίου. Στο παρακύστιο πορεύονται αγγεία και νεύρα (1).

**ΤΟΙΧΩΜΑ / ΧΙΤΩΝΕΣ:** Το τοίχωμα της ουροδόχου κύστης διακρίνεται στους εξής χιτώνες:

- Βλεννογόνος
- Υποβλεννογόνιος
- Μυϊκός: έξω επιμήκης στοιβάδα, μέση κυκλοτερής, έσω επιμήκης
- Ινώδης

Ο **βλεννογόνος** αποτελείται από το ουροθήλιο, ένα ειδικού τύπου επιθήλιο, για την προσαρμογή στο περιβάλλον των ούρων. Μια άλλη ονομασία είναι το μεταβατικό επιθήλιο. Το ουροθήλιο αποτελείται από 3-6 στιβάδες κυττάρων ανάλογα με τη διάταση της ουροδόχου κύστης. Τα κυπελλοειδή / ομπρελοειδή (Umbrella) κύτταρα καλύπτουν την ελεύθερη επιφάνεια του ουροθηλίου. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τα ομπρελλοειδή κύτταρα παρουσιάζουν ασύμμετρες κυτταρικές μεμβράνες με

ανώμαλη γωνιώδη επιφάνεια λόγω πρόσφυσης δύσκαμπτων τμημάτων και ποικιλίας των διακυττάρων συνδέσεων. Συμβάλλουν στην υποστήριξη του φραγμού αίματος / ούρων. Τα λοιπά ουροθηλιακά κύτταρα είναι μικρότερα, ομοιόμορφα, με κάθετο προσανατολισμό στη βασική μεμβράνη. Ανανεώνονται κατ' έτος. Η βασική στιβάδα των ουροθηλιακών κυττάρων κείται σε βασική μεμβράνη.

Ο **υποβλεννογόνος** αποτελείται από α) το χόριο, δηλαδή τον χαλαρό συνδετικό ιστό κάτωθεν του ουροθελίου ή αλλιώς υποεπιθηλιακό χώρο, β) τη βλεννογόνο μυϊκή στιβάδα (λεπτές δέσμες λείων μυϊκών ινών προερχόμενων από το μυϊκό χιτώνα της ουροδόχου κύστης), που έχει ποικίλο πάχος και γ) το συνδετικό ιστό κάτωθεν της βλεννογονίου μυϊκής στιβάδας με συστοιχία μεγαλύτερων αγγείων.

Ο **μυϊκός χιτώνας** αποτελείται από μεγάλες δέσμες μυϊκών ινών ανάμεικτες με χαλαρό συνδετικό ιστό. Διακριτές στοιβάδες παρατηρούνται μόνο στην περιοχή του έσω σφιγκτήρα. Στον αυχένα και στις ανώτερες μοίρες της ουροδόχου κύστης οι μυϊκές δέσμες είναι πιο ομοιόμορφες και στενά συνδεδεμένες μεταξύ τους. Στην περιοχή του κυστικού τριγώνου δεν παρατηρούνται πτυχές, η μέση στοιβάδα δεν υπάρχει και υπάρχει στενή σύνδεση της έσω στοιβάδας με το βλεννογόνο (1,3).

#### **ΑΓΓΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΑ**

Οι **αρτηρίες** της ουροδόχου κύστης είναι η άνω κυστική, κλάδος της ομφαλικής αρτηρίας και η κάτω κυστική, κλάδος της έσω λαγόνιας αρτηρίας. Μικροί κλάδοι, εκφυόμενοι από τη μέση αιμορροϊδική αρτηρία, συμβάλλουν στην αγγείωση του πυθμένα της κύστης. Ένα λεπτό υποβλεννογόνο **φλεβικό** δίκτυο μεταχωρεί σε σχηματισμό πυκνών φλεβικών πλεγμάτων στο τοίχωμα της κύστης. Τα πλέγματα αυτά συνδέονται με το αιδοϊκό και το προστατικό φλεβώδες πλέγμα και εκβάλλουν με τις κυστικές φλέβες στην έσω λαγόνια φλέβα. Τα **λεμφαγγεία** της κύστης φέρονται στους πρόσθιους και πλάγιους κυστικούς λεμφαδένες και τα λεμφαγγεία του κυστικού τριγώνου στους έσω λαγόνιους λεμφαδένες.

Η ουροδόχος κύστη νευρώνεται από **νευρικές** ίνες του κυστικού πλέγματος. Από αυτές, οι συμπαθητικές ίνες προέρχονται από την οσφυϊκή μοίρα του νωτιαίου μυελού και οι παρασυμπαθητικές ίνες από την ιερή μοίρα του παρασυμπαθητικού (1,3).

## **2. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ**

Η ουροδόχος κύστη προέρχεται από τον ουρογεννητικό κόλπο και το σπλαγχνικό μεσέγγυμα της γειτονικής περιοχής. Καθώς η κύστη μεγαλώνει, τα ουραία τμήματα των μεσονεφρικών πόρων εγκλωβίζονται μέσα στο ραχιαίο τοίχωμά της. Καθώς οι μεσονεφρικοί πόροι απορροφούνται, οι ουρητήρες έρχονται και εκβάλλουν ξεχωριστά στην ουροδόχο κύστη. Στην πρόωμη εμβρυογένεση, η αλλαντοΐδα προβάλλει επί τα εκτός του λεκιθικού ασκού εντός του συνδετικού μίσχου (μελλοντικού ομφάλιου λώρου). Καθώς η ουροδόχος κύστη σχηματίζεται, η αλλαντοΐδα παραμένει συνδεδεμένη με την κορυφή της. Ο ουραχός (η ενδοκοιλιακή δομή που συνδέει την κορυφή της ουροδόχου με τον ομφάλιο λώρο και περιέχει την αλλαντοΐδα) υποστηρίζει τη σύνδεση μεταξύ θόλου της κύστης και μίσχου. Κατά τη γέννηση, ο θόλος της κύστης είναι κοντά στον ομφάλιο λώρο, ενώ ο ουραχός συνήθως χωρίζεται σε τρεις στοιβάδες ινώδους ιστού, η μια των οποίων καταλήγει στο κοιλιακό τοίχωμα. Οι άλλες δυο στοιβάδες προσφύονται στον πρόσθετο χιτώνα των ομφαλικών αρτηριών (2).

## **3. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΟΓΚΩΝ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΕΩΣ – ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ**

Η ταξινόμηση της WHO/ISUP Consensus (2010) προκύπτει από την συνναίνεση των WHO και ISUP σε μια προσπάθεια για την ανάπτυξη ενός παγκόσμια αποδεκτού συστήματος ταξινόμησης της νεοπλασίας της ουροδόχου κύστης (4, 315). Έτσι, τα ουροθηλιακά νεοπλάσματα της ουροδόχου κύστης ταξινομούνται σύμφωνα με τις WHO και International Society of Urologic Pathologists - ISUP 2010) ως εξής:

### **Υπερπλασία του ουροθηλίου**

*α. Επίπεδη υπερπλασία*

*β. Θηλώδης υπερπλασία*

### **Επίπεδες αλλοιώσεις με κυτταρική ατυπία**

*α. Αντιδραστική (φλεγμονώδης) ατυπία*

*β. Δυσπλασία (χαμηλόβαθμη ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία)*

*γ. Καρκίνωμα in situ (υψηλόβαθμη ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία)*

### **Θηλώδη νεοπλάσματα**

α. Θήλωμα

β. Ανάστροφο θήλωμα

γ. Θηλώδες ουροθηλιακό νεόπλασμα χαμηλού δυναμικού κακοήθειας (*Papillary Urothelial Neoplasm of Low Malignant Potential – PUNLMP*)

δ. Θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα χαμηλού βαθμού κακοήθειας

ε. Θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα υψηλού βαθμού κακοήθειας

### **Διηθητικά νεοπλάσματα**

Το διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα μπορεί να παρουσιάζει τις εξής διαφοροποιήσεις: πλακώδη, αδενική και τροφοβλαστική. Οι ιστολογικές ποικιλίες είναι: τύπου φωλεών, μικροκυστικό, μικροθηλώδες, τύπου λεμφοεπιθηλιώματος, τύπου λεμφώματος, πλασματοκυτταροειδές, σαρκωματοειδές, γιγαντοκυτταρικό, αδιαφοροποίητο.

## **3.1 ΚΑΛΟΗΘΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ / ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ**

### **Κυστική και αδενική κυστίτιδα**

Η κυστική κυστίτιδα χαρακτηρίζεται από ομάδες φωλεών ουροθηλίου με κεντρική ηωσινόφιλη σύντηξη. Η αδενική κυστίτιδα χαρακτηρίζεται επιπρόσθετα από αδενική μετάπλαση του ουροθηλίου των φωλεών, τα δε βιβλιογραφικά δεδομένα τη συνδέουν με μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθειας, και συγκεκριμένα αδενοκαρκινώματος (395).

### **Νεφρογενής μετάπλαση ή νεφρογενές αδένωμα**

Θηλώδης ή πολυποειδής επεξεργασία διαμέτρου <1εκ. συνήθως, που αποκαλύπτεται μικροσκοπικά. Ιστολογικά, μπορεί να παρουσιάζει αδενική, κυστική, θηλώδη ή και διάχυτη ανάπτυξη. Συνδυάζεται συχνά με χρόνια κυστίτιδα ή με στρωματική ασβέστωση και υπάρχει κίνδυνος σύγχυσης κυρίως με αδενοκαρκίνωμα ουροδόχου κύστης (396).

### **Επίπεδη ουροθηλιακή υπερπλασία**

Ο βλεννογόνος είναι σημαντικά παχυσμένος χωρίς κυτταρολογική ατυπία και μπορεί να παρατηρηθεί σε παρακείμενες χαμηλόβαθμες ουροθηλιακές αλλοιώσεις. Όταν παρατηρείται αφ' εαυτού, δεν υποδηλώνει προκακότηες δυναμικό.

### **Θηλώδης ουροθηλιακή υπερπλασία**

Είναι συνήθως ασυμπτωματική και γενικά ανευρίσκεται σε κυστεοσκοπική παρακολούθηση ρουτίνας για θηλώδη ουροθηλιακά νεοπλάσματα. Χαρακτηρίζεται από κυματοειδή, ελαφρά εν είδει «τέντας» ή υπερυψωμένη διαμόρφωση του ουροθηλίου διαφόρου πάχους, χωρίς πυρηνική ατυπία. Η αλλοίωση έχει συχνά ένα ή λίγα μικρά, διατεταμένα τριχοειδή στη βάση της αλλά στερείται καλά αναπτυγμένου αγγειοσυνδετικού άξονα. Συχνά συσχετίζεται με προγενέστερο ή και με σύγχρονο ιστορικό θηλωδών ουροθηλιακών νεοπλασμάτων, υποδηλώνοντας μεταξύ τους συσχέτιση. Μια de novo διάγνωση θηλώδους ουροθηλιακής υπερπλασίας δεν θεωρείται πρόσθετος παράγοντας ανάπτυξης θηλώδους όγκου. Παρ' όλα αυτά, σε ασθενή με ιστορικό θηλώδους ουροθηλιακού όγκου, αυτή η αλλοίωση μπορεί να συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής θηλώδους νεοπλασίας.

### **Αντιδραστική ουροθηλιακή ατυπία**

Το ουροθήλιο φλεγμαίνει και παρουσιάζει οξεία ή χρόνια φλεγμονή. Η αλλοίωση χαρακτηρίζεται από ομοιόμορφα διογκωμένους πυρήνες με κενотоπιώδη χρωματίνη και κεντρικά πυρήνια. Μπορεί να υπάρχουν μιτώσεις. Η κυτοκερατίνη 20 (CK20) αναδεικνύει μόνο τη στοιβάδα των ομπρελλοειδών κυττάρων ενώ η πρωτεΐνη p53 είναι αρνητική, γεγονός που αποδεικνύει τη μη νεοπλασματική φύση της αλλοίωσης.

### **Δυσπλασία**

Παρατηρούνται αξιόλογες κυτταρολογικές αλλοιώσεις και απώλεια του προσανατολισμού των κυττάρων. Έχει αποδειχθεί ότι η δυσπλασία είναι μια πρόδρομη αλλοίωση του διηθητικού καρκινώματος σε τουλάχιστον μερικές περιπτώσεις. Συνήθως δεν εφαρμόζεται από τους ουρολόγους θεραπεία σε de novo δυσπλασία, ενώ σε συνύπαρξή της σε ασθενή με ιστορικό in situ καρκινώματος γίνεται ενδοκυστική χημειοθεραπεία.

### **Θήλωμα**

Το «ουροθηλιακό θήλωμα» ορίζεται ως μια διάκριτη θηλώδης ανάπτυξη του ουροθηλίου με κεντρικό αγγειοσυνδετικό άξονα, που επαλείφεται από ουροθήλιο φυσιολογικού πάχους και φυσιολογικής μορφολογίας. Πρόκειται για μια σπάνια καλοήγη κατάσταση, που συμβαίνει τυπικά σε νεότερους ασθενείς, μεμονωμένα και σε περιορισμένη έκταση στην κύστη.

### **Ανάστροφο θήλωμα**

Το ανάστροφο θήλωμα είναι καλοήθης ουροθηλιακός όγκος με ανεστραμμένο πρότυπο ανάπτυξης και φυσιολογική κυτταρολογία έως ελάχιστη ατυπία των νεοπλασματικών κυττάρων. Συνήθως εντοπίζεται στο κυστικό τρίγωνο. Συνηθέστερο σύμπτωμα είναι η αιματουρία. Μικροσκοπικά, η βάση της αλλοίωσης είναι καλά περιγεγραμμένη. Σχετικά ομοιόμορφες αναστομούμενες νησίδες και χορδές κυττάρων φαίνονται ως να «εγκολλώνονται» εντός του χορίου. Σε αντίθεση όμως με τα συμβατικά θηλώδη ουροθηλιακά νεοπλάσματα, οι κεντρικές μοίρες των χορδών περιλαμβάνουν ουροθηλιακά κύτταρα, ενώ η περιφέρεια εμφανίζει πασσαλωτή διάταξη βασικών κυττάρων. Η υποτροπή και η εξέλιξη σε καρκίνωμα είναι εξαιρετικά σπάνιες.

## **3.2 ΚΑΚΟΗΘΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ**

### **Καρκίνωμα in situ - CIS**

Το CIS είναι μια επίπεδη αλλοίωση του ουροθηλίου, που υποδηλώνει πρόδρομο διηθητικό καρκίνωμα. Χαρακτηρίζεται από την παρουσία κυττάρων με μεγάλους, ανώμαλους, υπερχρωματικούς πυρήνες, που μπορεί να βρίσκονται σε όλο το πάχος του επιθηλίου ή/και σε μέρος μόνο αυτού. Οι μιτώσεις παρατηρούνται συχνά στο μέσο και ανώτερο ουροθήλιο. Εξ ορισμού, όλα τα CIS είναι υψηλόβαθμες κακοήθειες αλλοιώσεις. Το CIS δεν υποκατηγοριοποιείται μέσω βαθμοποίησης. Το μέγεθος των καρκινικών κυττάρων του CIS είναι, συνήθως 5 φορές μεγαλύτερο από το μέγεθος των λεμφοκυττάρων, σε αντίθεση με το φυσιολογικό ουροθήλιο, που είναι μόνο 2 φορές μεγαλύτερο από το μέγεθος των λεμφοκυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν συχνά την κυτοκερατίνη 20 (CK20) και την p53.

Το CIS συχνά υποδιαγιγνώσκεται, επειδή εμφανίζει ιδιαιτερότητες σε σχέση με in situ καρκινώματα άλλων οργάνων και συγκεκριμένα: α) η κυτταρολογική ανωμαλία δεν χρειάζεται να περιλαμβάνει όλο το πάχος του ουροθηλίου β) πρότυπα του CIS περιλαμβάνουν αυτά με διάσπαρτα κύτταρα CIS, παζετοειδή επέκταση του CIS και περιπτώσεις όπου το εύθραυστο επιθήλιο μπορεί να διακοπεί είτε αυθόρμητα είτε λόγω βιοψίας, έτσι ώστε μόνο λίγα υπολειπόμενα καρκινικά κύτταρα να παραμένουν στην επιφάνεια (clinging CIS) γ) τα κύτταρα CIS δεν έχουν απαραίτητα υψηλή αναλογία πυρήνα / κυτταροπλάσματος και δ) μια κυτταρική στοιβάδα ομπρελλοειδών κυττάρων μπορεί να είναι ακόμη παρούσα στο CIS.

### **Θηλώδες ουροθηλιακό νεόπλασμα χαμηλού κακοήθους δυναμικού (PUNLMP)**

Είναι ένας θηλώδης ουροθηλιακός όγκος, που προσομοιάζει προς το εξωφυτικό ουροθηλιακό θήλωμα. Παρουσιάζει ομαλή διευθέτηση των κυττάρων σε θηλές με ελάχιστες αρχιτεκτονικές ανωμαλίες και ελάχιστη πυρηνική ατυπία, ανεξάρτητα του αριθμού των κυτταρικών στοιβάδων.

Το ουροθήλιο στα PUNLMPs είναι πολύ παχύτερο από ότι στα θηλώματα και/ή οι πυρήνες είναι σημαντικά διογκωμένοι και ελαφρά υπερχρωματικοί. Οι μιτώσεις είναι σπάνιες, συνήθως περιοριζόμενες στη βασική στοιβάδα. Το νεόπλασμα αυτό δεν συσχετίζεται με διήθηση, ούτε με μεταστάσεις. Παρ' όλα αυτά, είναι κλινικά σημαντική αλλοίωση, επειδή αυτοί οι ασθενείς βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης υποτροπιάζουσών ή νέων θηλωδών αλλοιώσεων. Αυτές οι νέες αλλοιώσεις ενίοτε είναι υψηλότερου βαθμού κακοήθειας και μπορεί να εξελιχθούν.

### **Χαμηλόβαθμο θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα**

Είναι ένα θηλώδες ουροθηλιακό νεόπλασμα με συνολική ομαλή εμφάνιση αλλά με εύκολα αναγνωρίσιμη ποικιλία αρχιτεκτονικών ή / και κυτταρολογικών χαρακτηριστικών, κυρίως ως προς την πολικότητα και το πυρηνικό μέγεθος, το σχήμα και την υφή της χρωματίνης. Οι μιτώσεις είναι σπάνιες και συνήθως παρατηρούνται στο κατώτερο ήμισυ, αλλά μπορούν και να παρατηρηθούν σε οποιοδήποτε επίπεδο του ουροθηλίου. Δεν είναι ασυνήθης η συγχώνευση των παρακείμενων θηλών. Κατά την προσπάθεια εκτίμησης της διαταραχής της πολικότητας, εφαπτόμενες τομές κοντά στη βάση του ουροθηλίου μπορεί να παραπλανήσουν και να έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ταπητίων ανώριμου ουροθηλίου με συχνή μιτωτική δραστηριότητα. Για το λόγο αυτό, είναι προτιμότερο να αξιολογούμε μόνο τους κάθετα διατεταγμένους αγγειοσυνδετικούς άξονες.

Τα χαμηλόβαθμα θηλώδη καρκινώματα είναι μη-διηθητικά ή διηθούν το χόριο. Στην τελευταία περίπτωση έχουν χαμηλό κίνδυνο (<5%) περαιτέρω εξέλιξης, και συχνά υποτροπιάζουν.

### **Υψηλόβαθμο θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα**

Είναι ένα θηλώδες ουροθηλιακό νεόπλασμα με εμφανώς διαταραγμένο πρότυπο ανάπτυξης και μέτρια ως εκσεσημασμένη αρχιτεκτονική και κυτταρολογική ατυπία. Τα κύτταρα συναθροίζονται ακανόνιστα και το επιθήλιο αποδιοργανώνεται. Η



πυρηνική χρωματίνη τείνει να συσσωρεύεται με εμφανή πυρήνια. Οι μιτώσεις, ακόμη και άτυπες, παρατηρούνται συχνά σε όλα τα επίπεδα του ουροθηλίου. Σε όγκους με ποικίλου βαθμού κακοήθεια, ο όγκος αξιολογείται με βάση τον υψηλότερο βαθμό κακοηθείας.

Τα υψηλόβαθμα θηλώδη ουροθηλιακά καρκινώματα παρουσιάζουν πολύ υψηλότερο κίνδυνο εξέλιξης σε σχέση με χαμηλόβαθμες αλλοιώσεις. Αυτοί οι όγκοι έχουν επίσης έναν υψηλό κίνδυνο συσχέτισης με διηθητική νόσο τη στιγμή της εμφάνισης. Ο παρακείμενος επίπεδος ουροθηλιακός βλεννογόμος μπορεί επίσης να παρουσιάζει καρκίνωμα *in situ*.

### **Διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα εντός του υποεπιθηλιακού συνδετικού ιστού (χορίου)**

Η διήθηση του υποεπιθηλιακού συνδετικού ιστού (χορίου) χαρακτηρίζεται από την παρουσία των ουροθηλιακών φωλεών και αθροίσεων ή / και μεμονωμένων κυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να παρουσιάζουν ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα. Συνυπάρχει σχετιζόμενη δεσμοπλαστική ή φλεγμονώδης αντίδραση στρώματος. Σε χαμηλόβαθμα θηλώδη καρκινώματα οι μεγάλες στρόγγυλες φωλεές του ουροθηλίου με περιφερική πασσαλωτή διάταξη εντός του χορίου, που ακόμη περιβάλλονται από φυσιολογικά εμφανιζόμενο στρώμα, αντιπροσωπεύουν ένα ανεστραμμένο πρότυπο ανάπτυξης μη διηθητικού καρκινώματος.

Σε περίπου μισές από τις διουρηθρικές εκτομές (TURs), μπορεί κανείς να διακρίνει ότι το μέσο επίπεδο του χορίου χαρακτηρίζεται από την παρουσία της βλεννογονίου μυϊκής στοιβάδας, όπως επίσης και από παρουσία παχυτοιχωματικών αγγείων. Σε περιπτώσεις με διήθηση του χορίου, συνιστάται η ακριβής, ξεκάθαρη διατύπωση, ώστε να μην συγχέεται από τον ουρολόγο η διήθηση της βλεννογονίου μυϊκής στοιβάδας με τη διήθηση του μυϊκού χιτώνα (detrusor muscle). Συνιστάται να αναφέρεται πάντοτε αν ο μυϊκός χιτώνας συμπεριλαμβάνεται στη βιοψία, ακόμα και επί παρουσίας CIS, PUNLMP και μη διηθητικού θηλώδους ουροθηλιακού καρκινώματος. Ο διηθητικός όγκος βαθμοποιείται ως χαμηλόβαθμος ή υψηλόβαθμος ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο σύστημα βαθμοποίησης των μη διηθητικών αλλοιώσεων.

### **Διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα εντός του μυϊκού χιτώνα (Εξωστήρα Μυός)**

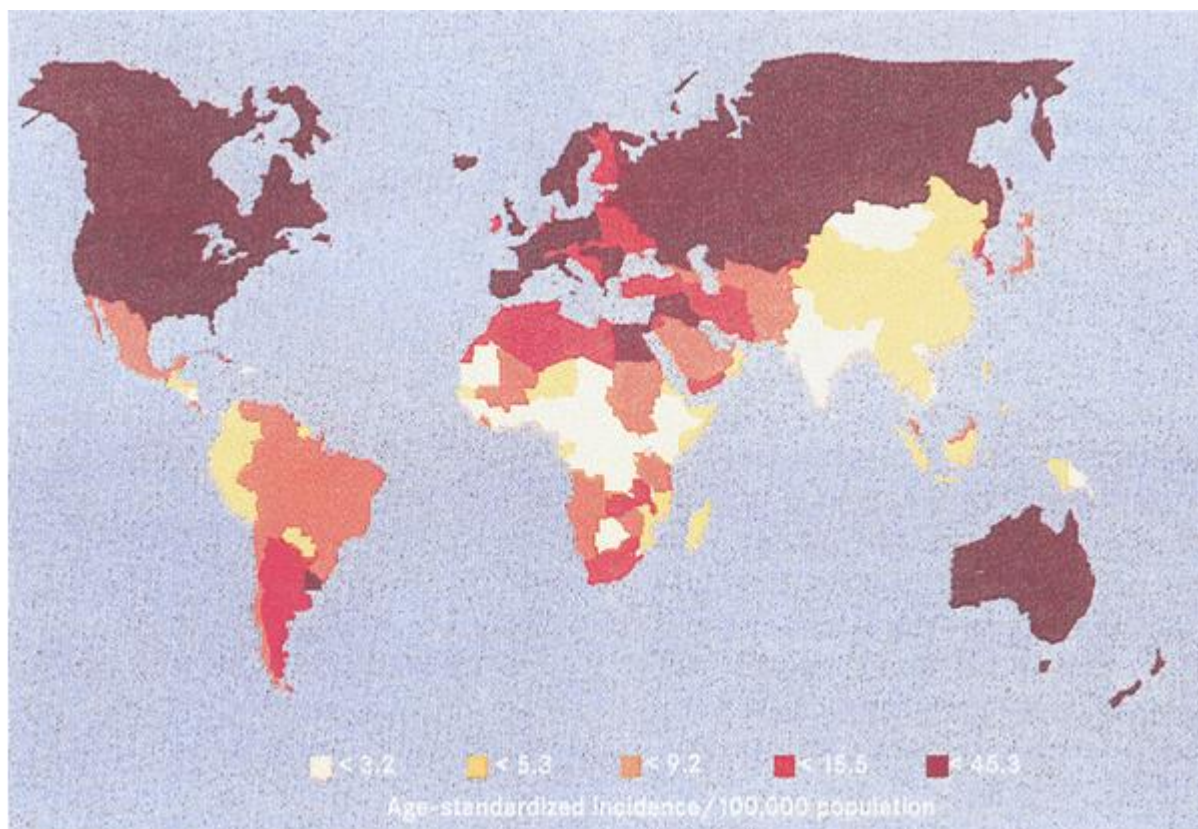
Η διήθηση του μυϊκού χιτώνα διαγιγνώσκεται όταν ο όγκος διηθεί παχιές δεσμίδες λείου μυός. Η διάκριση της διήθησης της βλεννογονίου μυϊκής στοιβάδας από τον μυϊκό χιτώνα σε υλικό διουρηθρικών εκτομών μπορεί, περιστασιακά, να είναι δύσκολη. Συνήθως πρόκειται για εκτεταμένο διηθητικό όγκο, όπου διάσπαρτα ελάχιστα τμήματα λείου μυός μπορούν να αντιπροσωπεύουν είτε τη βλεννογόνο μυϊκή στοιβάδα, είτε διακεκομένο ή παραμορφωμένο μυϊκό χιτώνα. Όταν υπάρχει αβεβαιότητα ως προς την παρουσία διήθησης της βλεννογονίου μυϊκής στοιβάδας, συνιστάται ο ουρολόγος να εκτελεί TUR επανασταδιοποίησης. Η παρουσία πολυάριθμων αγγείων στο μέσο επίπεδο του χορίου, όπου η βλεννογονίος μυϊκή είναι ασταθώς παρούσα, μπορεί να βοηθήσει στην ταξινόμηση μυϊκών δεσμίδων ως βλεννογονίου μυϊκής στοιβάδας παρά ως μυϊκό χιτώνα. Σε αντιπροσωπευτικό δείγμα TUR δεν είναι απαραίτητη η υποσταδιοποίηση του βάθους διήθησης του μυϊκού χιτώνα, ενώ η παρουσία όγκου εντός λίπους δεν σημαίνει απαραίτητα εξωκυστική επέκταση, καθώς ο λιπώδης ιστός μπορεί να παρατηρηθεί και στο χόριο.

## 4. ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

### 4.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης είναι ο 7<sup>ος</sup> συχνότερος καρκίνος παγκοσμίως με κατ' εκτίμηση 260.000 νέες περιπτώσεις σε άνδρες και 76.000 σε γυναίκες κάθε χρόνο (5). Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης αποτελεί το 3.2% όλων των καρκίνων σε παγκόσμια κλίμακα και είναι συχνότερος στους άνδρες παρά στις γυναίκες (Α:Γ = 3.5:1) (6). Η υψηλότερη συχνότητα του καρκίνου της ουροδόχου κύστης και στα δυο φύλα απαντάται στη Δυτική Ευρώπη, Βόρεια Αμερική και Αυστραλία (7).

Οι υψηλότεροι ρυθμοί επίπτωσης καρκίνου της ουροδόχου κύστης στους άνδρες στη δεκαετία του 1990 παρατηρήθηκαν σε Βέλγιο, Ιταλία, Ισπανία, ενώ στις γυναίκες σε Ζιμπάμπουε, Σκωτία, Βορειοδυτική Αγγλία και στο λευκό πληθυσμό του Κονέκτικατ (ΗΠΑ). (8)



Εικόνα 1. Η παγκόσμια επίπτωση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης στον ανδρικό πληθυσμό. Αν και η πλειονότητα των περιπτώσεων παρατηρείται στις ανεπτυγμένες περιοχές, ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης εμφανίζει υψηλούς ρυθμούς σε ορισμένες αναπτυσσόμενες περιοχές, περιλαμβάνοντας μέρη της Β.Αφρικής και της Ν.Αμερικής (Stewart και συν. 2003).

Ο συνηθέστερος τύπος καρκίνου ουροδόχου κύστης στις ανεπτυγμένες χώρες είναι το ουροθηλιακό καρκίνωμα, που αποτελεί άνω του 90% των περιπτώσεων καρκίνου της ουροδόχου κύστης σε ΗΠΑ, Γαλλία και Ιταλία. Παρόλα αυτά, σε άλλες περιοχές (Ανατολική και Βόρεια Ευρώπη, Αφρική, Ασία) η σχετική συχνότητα του ουροθηλιακού καρκινώματος της κύστης είναι χαμηλότερη. Γενικά, σύμφωνα με τις αναφορές επίπτωσης του καρκίνου στις πέντε ηπείρους (7), το ουροθηλιακό καρκίνωμα αποτελεί το 84% των καρκίνων ουροδόχου κύστης στους άνδρες και το 79% στις γυναίκες., ενώ άλλοι τύποι καρκινώματος, όπως το πλακώδες καρκίνωμα απαντάται σε ποσοστό 1.1% και 2.8% όλων των καρκίνων ουροδόχου κύστης σε άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα. Το αδενοκαρκίνωμα της ουροδόχου κύστης αντιστοιχεί στο 1.5 - 1.9% όλων των καρκίνων της ουροδόχου κύστης παγκοσμίως. Υπολογίζεται ότι περίπου 70-80% ασθενών με νέες διαγνώσεις καρκίνου ουροδόχου κύστης εμφανίζονται με μη-διηθητικό ή πρώιμα διηθητικό νεόπλασμα (π.χ. σταδίου Ta, Tis ή T1).

## 4.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

### *Παράγοντες κινδύνου*

Ανάμεσα σε αρκετούς γνωστούς και δυνητικούς παράγοντες κινδύνου καρκίνου της ουροδόχου κύστης, η χρήση καπνού (κάπνισμα) και η επαγγελματική έκθεση σε χρώματα ανιλίνης είναι οι πιο σημαντικοί (Πίνακας 1).

**Πίνακας 1.** Αιτιολογικοί παράγοντες του καρκίνου της ουροδόχου κύστης.

➤ Κάπνισμα
Νιτροζαμίνες
2-ναφθυλαμίνη
➤ Επαγγελματικοί παράγοντες
Βενζιδίνη
2-ναφθυλαμίνη
Χλωριωμένοι αλειφατικοί Η/С
Αρυλαμίνες
Νιτροζαμίνες
Άλλοι
➤ Φάρμακα
Φαινακετίνη
Κυκλοφωσφαμίδιο
➤ Ακτινοβολία
➤ Λοιμογόννοι παράγοντες
● <i>S.haematobium</i>

### **Κάπνισμα**

Το κάπνισμα είναι ο περισσότερο αποδεδειγμένος παράγοντας κινδύνου καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Εκτιμάται ότι ο κίνδυνος καρκίνου της ουροδόχου κύστης, που αποδίδεται στο κάπνισμα, είναι 66% για τους άνδρες και 30% για τις γυναίκες.()

Ο κίνδυνος καρκίνου της ουροδόχου κύστης στους καπνιστές είναι 2-6 φορές μεγαλύτερος από τους μη-καπνιστές.(10). Ο κίνδυνος αυξάνει με την αυξανόμενη διάρκεια του καπνίσματος και για εκείνους με τη μακρότερη ιστορία καπνίσματος (κάπνισμα επί 60 έτη και άνω) φτάνει να είναι περίπου 6 φορές υψηλότερος στους άνδρες και 5 φορές υψηλότερος στις γυναίκες. Ο μεγαλύτερος κίνδυνος παρατηρείται επίσης με την αυξανόμενη χρήση καπνού (αριθμός τσιγάρων ανά ημέρα): πιο

συγκεκριμένα τριπλασιάζεται για όσους καπνίζουν 40 ή περισσότερα τσιγάρα την ημέρα (10). Η αύξηση του κινδύνου με την αυξανόμενη διάρκεια και χρήση καπνού είναι παρόμοια στα δυο φύλα (9), αλλά ορισμένες μελέτες δηλώνουν υψηλότερο κίνδυνο στις γυναίκες από τους άνδρες στο αντίστοιχο επίπεδο έκθεσης (11). Ο κίνδυνος καρκίνου της ουροδόχου κύστης μειώνεται μετά τη διακοπή του καπνίσματος και μετά από 15 έτη διακοπής τείνει να είναι περίπου ίδιος με αυτόν των μη-καπνιστών (9). Η μείωση του κινδύνου κατόπιν διακοπής είναι παρόμοια στα δυο φύλα (11). Το μηδενικό status της Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) συσχετίζεται με μια μέτρια αύξηση του κινδύνου καρκίνου της ουροδόχου κύστης (12).

### **Επαγγελματική έκθεση**

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης συσχετίζεται με έναν αριθμό επαγγελμάτων ή επαγγελματικών εκθέσεων. Η συσχέτιση αυτή παρατηρήθηκε πρώτη φορά το 1895 από τον Rehn, ο οποίος ανέφερε υψηλούς ρυθμούς καρκίνου της ουροδόχου κύστης ανάμεσα σε άνδρες, που εργάζονταν σε βιομηχανία χρωστικών ανιλίνης (13).

Επόμενη έρευνα μεταξύ εργατών χρωστικών ανιλίνης προσδιόρισε τις αρωματικές αμίνες benzidine και 2-naphthylamine, και ίσως και 1-naphthylamine, ως καρκινογόνα της ουροδόχου κύστης (14). Έχει εκτιμηθεί ότι επαφή με επαγγελματικά καρκινογόνα προκαλεί έως 25% όλων των όγκων της ουροδόχου κύστης (15).

### **Φαινακετίνη**

Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι χρόνιος εθισμός σε αναλγητικά, που περιέχουν φαινακετίνη, ενισχύουν σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης ουροθηλιακού καρκίνου της νεφρικής πυέλου, του ουρητήρα και της ουροδόχου κύστης.

Ο σχετικός κίνδυνος έχει εκτιμηθεί σε μεγαλύτερο κατά 2.4 έως 6 φορές (14). Πρώιμες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί από την Σκανδιναβία (16), Ελβετία (17) και Αυστραλία (18).

### **Ιατρικά φάρμακα**

Ο κυτταροστατικός παράγοντας κυκλοφωσφαμίδη έχει επί μακρόν συσχετιστεί με την ανάπτυξη λευχαιμίας και λεμφώματος. Επιπρόσθετα η θεραπεία με κυκλοφωσφαμίδη έχει αναφερθεί ότι συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο πλακωδών καρκινωμάτων και

σαρκωμάτων, ειδικά λειομυοσαρκωμάτων (19). Παρόμοια η Clornaphazine συσχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου ουροδόχου κύστης (20).

### **Χρόνιες λοιμώξεις**

Η χρόνια κυστίτιδα, που προκαλείται από το *Schistosoma haematobium* είναι μια αποδεδειγμένη αιτία καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Οι επακόλουθοι καρκίνοι ουροδόχου κύστης είναι συνήθως πλακώδη καρκινώματα. Μερικοί συγγραφείς πρότειναν συσχέτιση μεταξύ καρκίνου της ουροδόχου κύστης και λοιμώξεων και λίθων του ουροποιητικού συστήματος (375). Ο υποκείμενος μηχανισμός μπορεί να οδηγήσει σε χρόνια ερεθισμό του επιθηλίου της ουροδόχου, που μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο καρκίνου της ουροδόχου κύστης.

### **Αρσενικό**

Μερικές μελέτες έδειξαν ότι η χρήση πόσιμου νερού, που περιέχει παραπροϊόντα χλωρίωσης ή μολυσμένο από αρσενικό μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο καρκίνου της ουροδόχου κύστης (21). Μια ομάδα IARC ανασκόπησε το 2004 τις σχετικές επιδημιολογικές μελέτες και συμπέρανε ότι το αρσενικό στο πόσιμο νερό είναι καρκινογόνο για τον άνθρωπο και ότι υπάρχουν αρκετές αποδείξεις ότι προκαλούν καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Η απόδειξη - κλειδί προήλθε από οικολογικές μελέτες στη Χιλή και στην Ταιβάν (Κίνα), όπου εξετέθησαν μεγάλοι πληθυσμοί (22).

### **Καφές**

Δεν υπάρχουν ξεκάθαρες αποδείξεις της καρκινογόνου επίδρασης του καφέ ή της καφεΐνης σε πειραματόζωα (23), αλλά μερικές επιδημιολογικές μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν αυξημένο κίνδυνο στους καταναλωτές καφέ σε σχέση με τους μη καταναλωτές καφέ (24). Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε αυξημένο κίνδυνο καρκίνου ουροδόχου κύστης, που προκλήθηκε από πόση καφέ μόνο σε μη καπνιστές, ενώ δεν παρατηρήθηκε αύξηση κινδύνου στους ανέκαθεν καπνιστές (25).

### **Τεχνητά γλυκαντικά**

Δεν υπάρχουν πειστικές αποδείξεις ότι τα τεχνητά γλυκαντικά (όπως η σακχαρίνη) παίζουν ρόλο στην αιτιολογία του καρκίνου της ουροδόχου κύστης (26). Η IARC πρόσφατα κατατάσσει την σακχαρίνη στην ομάδα 3, π.χ. μη κατατάξιμη ως προς την καρκινογόνο δράση της στους ανθρώπους (27).

### 4.3 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

#### Σημεία και συμπτώματα

Ο τύπος και η σοβαρότητα των κλινικών σημείων και συμπτωμάτων του διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος εξαρτάται από την έκταση και την εντόπιση του όγκου. Οι περισσότεροι ασθενείς με ουροθηλιακούς όγκους εμφανίζονται με τουλάχιστον μικροσκοπική αιματουρία (28). Το πιο σύνηθες σύμπτωμα εμφάνισης του καρκίνου της ουροδόχου κύστης είναι η ανώδυνη μακροσκοπική αιματουρία, που απαντάται στο 85% των ασθενών. Μπορεί να επακολουθήσουν θρόμβωση και επώδυνη ούρηση. Στην περίπτωση μεγάλων όγκων η ικανότητα της ουροδόχου κύστης μπορεί να μειωθεί, έχοντας ως αποτέλεσμα τη συχνουρία. Όγκοι, που εντοπίζονται στον αυχένα ή που καλύπτουν μεγάλη περιοχή της ουροδόχου κύστης μπορεί να οδηγήσουν σε συμπτώματα ερεθισμού π.χ. δυσουρία, έπειξη για ούρηση και συχνουρία. Παρόμοια συμπτώματα μπορεί να παρουσιαστούν στην περίπτωση εκτεταμένου καρκινώματος *in situ*. Όγκοι, που διηθούν το ουρητηρικό στόμιο μπορεί να οδηγήσουν σε υδρονέφρωση, που θεωρείται πτωχό προγνωστικό σημείο (29). Σπάνια, ασθενείς με εκτεταμένη νόσο εμφανίζονται με ψηλαφητή πυελική μάζα ή οίδημα του κατώτερου άκρου. Σε περίπτωση προχωρημένης νόσου μπορεί να παρουσιαστούν απώλεια βάρους ή κοιλιακός ή οστικός πόνος λόγω μεταστάσεων.

Αν και η διάγνωση ενός νεοπλασματος ουροδόχου κύστης μπορεί να πιθανολογηθεί μερικές φορές στο υπερηχογράφημα ή στην αξονική τομογραφία, αυτή επιβεβαιώνεται κυστεοσκοπικά. Η ιστολογική διάγνωση εξασφαλίζεται με εκτομή του όγκου βαθιά εντός της μυϊκής στοιβάδας του τοιχώματος της ουροδόχου κύστης. Ένα ποσοστό ασθενών με νόσο σταδίου T1 μπορούν να θεραπευτούν με επαναληπτική διουρηθρική εκτομή (TUR) μόνο. Παρόλα αυτά, σε περίπτωση εκτεταμένης νόσου, οι περισσότεροι ασθενείς είναι υποψήφιοι δυνατικά θεραπευτικής αγωγής.

Οι όγκοι του ανώτερου ουροποιητικού συστήματος απαντώνται σε λιγότερο από 10% των ασθενών με όγκους της ουροδόχου κύστης. Η μικροσκοπική αιματουρία μπορεί να είναι το πρώτο κλινικό σημείο διηθητικών όγκων της νεφρικής πυέλου και του ουρητήρα και σχεδόν οι μισοί ασθενείς παρουσιάζονται με μακροσκοπική αιματουρία. Σε περίπτωση θρόμβωσης αίματος, η απόφραξη μπορεί να είναι οξεία και να οδηγήσει σε επώδυνο ουρητηρικό λαγόνιο κωλικό και μπορεί να εκληφθεί λανθασμένα ως ουρητηρολιθίαση. Μπορεί να προκύψει υδρονέφρωση αλλά να



διαλάθει κλινικά, αν η απόφραξη αναπτυχθεί βραδέως. Ανουρία και νεφρική ανεπάρκεια προκύπτουν στην περίπτωση μονήρους νεφρού ή αμφοτερόπλευρης απόφραξης.

#### **4.4 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ**

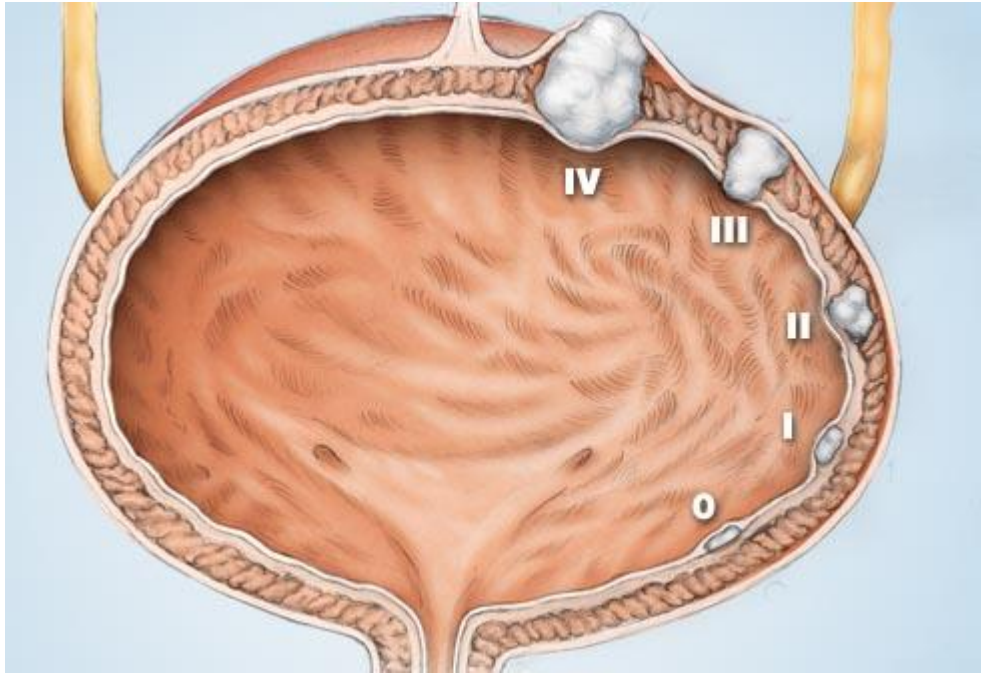
Ποικίλες μέθοδοι απεικόνισης χρησιμοποιούνται, όχι μόνο για την ανίχνευση αλλά και για τη σταδιοποίηση του διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος. Αυτές περιλαμβάνουν: υπερηχογράφημα, ενδοφλέβια ουρογραφία (IVU), υπολογιστική τομογραφία (CT) και μαγνητική τομογραφία / απεικόνιση (MRI). Το διακοιλιακό υπερηχογράφημα της ουροδόχου κύστης είναι γρήγορο, μη-διηθητικό, χαμηλού κόστους και διαθέσιμο στα περισσότερα ιδρύματα. Παρόλα αυτά, η ακρίβεια της σταδιοποίησης είναι λιγότερη από 70% για τους διηθητικούς όγκους της ουροδόχου κύστης (30). Η ευαισθησία πλησιάζει μόλις το 63%, με μια ειδικότητα του 99% (30). Υπάρχει ένας υψηλά αρνητικός ρυθμός της υπερηχογραφικής εξέτασης λόγω εντόπισης του όγκου, παχυσαρκίας του ασθενούς ή μετεγχειρητικών αλλοιώσεων. Το διουρηθρικό υπερηχογράφημα μπορεί να αυξήσει την ακρίβεια σε >95% για T2 ή T3 όγκους ουροδόχου κύστης (31). Η ενδοουρηθρική υπερηχογραφική εκτίμηση των νεοπλασμάτων ουρητήρα και νεφρικής πυέλου είναι τεχνικά εφικτή (32). Παρόλα αυτά, καθώς η ενδοαυλική υπερηχογραφία είναι επεμβατική και εξαρτώμενη από τον εξεταστή, δεν χρησιμοποιείται στη ρουτίνα. Οι λαγόνιοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν αξιόπιστα με το υπερηχογράφημα.

#### **4.5 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ**

Η σταδιοποίηση γίνεται με βάση το βάθος διήθησης του τοιχώματος της ουροδόχου κύστης. Η παθολογοανατομική σταδιοποίηση γίνεται ως εξής: Στάδιο TX: ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί T0: χωρίς απόδειξη πρωτοπαθούς όγκου Ta: ο όγκος είναι επιφανειακός, θηλώδης, μη-διηθητικός, στάδιο Tis: ενδοεπιθηλιακό (in situ) καρκίνωμα: «επίπεδος όγκος»

T1: το νεόπλασμα διηθεί τον υποεπιθηλιακό συνδετικό ιστό, στάδιο T2: το νεόπλασμα διηθεί το μυϊκό χιτώνα, υποδιαιρούμενο σε pT2a: όταν το νεόπλασμα διηθεί το επιπολής (έσω ½) του μυϊκού χιτώνα και pT2b: όταν το νεόπλασμα διηθεί το εν τω βάθει (έξω ½) του μυϊκού χιτώνα, στάδιο T3: ο όγκος διηθεί τον περικυστικό λιπώδη ιστό, υποδιαιρούμενο σε pT3a: σε περίπτωση μικροσκοπικής διήθησης και

pT3b: σε περίπτωση μακροσκοπικής διήθησης (εξωκυστική μάζα), στάδιο T4: ο όγκος διηθεί κατά συνέχεια ιστού παρακείμενα όργανα, υποδιαιρούμενο σε pT4a: όταν ο όγκος διηθεί προστάτη, μήτρα ή κόλπο και pT4b: ο όγκος διηθεί πνευλικό ή κοιλιακό τοίχωμα, στάδιο N1-3: ο όγκος διηθεί επιχώριους λεμφαδένες και στάδιο M: ο όγκος μεθίσταται σε απομακρυσμένες θέσεις.



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση του σταδίου διήθησης (T) του όγκου

### **T- πρωτοπαθής όγκος (T)**

TX ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί

T0 χωρίς απόδειξη πρωτοπαθούς όγκου

Ta μη διηθητικό θηλώδες καρκίνωμα

Tis ενδοεπιθηλιακό (in situ) καρκίνωμα: «επίπεδος όγκος»

T1 ο όγκος διηθεί τον υποεπιθηλιακό συνδετικό ιστό

1a διήθηση υποεπιθηλιακού χώρου χωρίς τη βλεννογόνο μυϊκή

1b διήθηση υποεπιθηλιακού χώρου έως κάτωθεν βλεννογονίου μυϊκής

T2 ο όγκος διηθεί το μυϊκό χιτώνα

2a διήθηση επιπολής μυϊκού (έσω ½) χιτώνα

2b διήθηση εν τω βάθει μυϊκού (έξω ½) χιτώνα

T3 ο όγκος διηθεί τον περικυστικό λιπώδη ιστό

- 3a μικροσκοπική διήθηση
- 3b μακροσκοπική διήθηση (εξωκυστική μάζα)
- T4 ο όγκος διηθεί προστάτη, μήτρα, κόλπο, πυελικό/κοιλιακό τοίχωμα
- 4a διήθηση προστάτη ή μήτρας ή κόλπου
- 4b διήθηση πυελικού ή κοιλιακού τοιχώματος

### **N επιχώριοι λεμφαδένες (N)**

*Οι κοινοί λαγόνιοι λεμφαδένες ορίζονται ως περιοχή δευτερογενούς αποχέτευσης επιχωρίων λεμφαδένων και όχι ως μεταστατική νόσος*

- NX οι επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν
- N0 χωρίς μετάσταση σε επιχώριους λεμφαδένες
- N1 ένας θετικός λεμφαδένας περιοχής πρωτογενούς αποχέτευσης
- N2 πολλαπλοί θετικοί λεμφαδένες περιοχής πρωτογενούς αποχέτευσης
- N3 εμπλοκή κοινού λαγόνιου λεμφαδένα

### **M απομακρυσμένη μετάσταση (M)**

- MX απομακρυσμένη μετάσταση δεν μπορεί να εκτιμηθεί
- M0 χωρίς απομακρυσμένη μετάσταση
- M1 απομακρυσμένη μετάσταση

### **Σταδιοποίηση**

Στάδιο 0a	Ta	N0	M0
Στάδιο 0is	Tis	N0	M0
Στάδιο I	T1	N0	M0
Στάδιο II	T2a, b	N0	M0
Στάδιο III	T3a, b	N0	M0
	T4a, b	N0	M0
Στάδιο IV	T4b	N0	M0
	Όποιο T	N1, N2, N3	M0
	Όποιο T	Όποιο N	M1

*Από Edge SB, Byrd DR, Compton CC, eds. AJCC Cancer Staging Manual. 7<sup>th</sup> ed. New York: Springer; 2010.*

#### **4.6 ΕΠΕΚΤΑΣΗ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ**

##### ***Ως προς την κατηγορία T:***

Η διορηθρική εκτομή (TURB) όλων των ορατών αλλοιώσεων ως τη βάση αυτών είναι απαραίτητη για την ακριβή εκτίμηση του βάθους διήθησης (33). Η κατηγοριοποίηση pT στις TURB επιτρέπει την αναγνώριση των σταδίων νόσου pT1 και pT2, αλλά η οριστική κατάταξη γίνεται κατόπιν εξέτασης δείγματος κυστεκτομής. Συνήθως εφαρμόζεται επανάληψη της βιοψίας σε διάστημα 1-6 εβδομάδων μετά την πρώτη εξαίρεση σε μεγάλους όγκους pTa και σε όλους τους όγκους pT1 (34).

##### ***Ως προς την κατηγορία N:***

Έχει διερευνηθεί και καταδειχτεί ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα των τεχνικών CT και MRI στον εντοπισμό των λεμφαδενικών μεταστάσεων έχουν περιορισμένη αξία (35). Παρόλα αυτά, η διόγκωση των λεμφαδένων είναι ισχυρά προβλεπτική της μεταστατικής νόσου (36).

##### ***Ως προς την κατηγορία M:***

Σε περίπτωση μυο-διηθητικού όγκου είναι απαραίτητος ο απεικονιστικός έλεγχος των πνευμόνων (με ακτινογραφίες) και του ήπατος (με υπερηχογράφημα, CT, MRI). Το σπινθηρογράφημα διενεργείται σε συμπτωματικούς ασθενείς για την ανίχνευση οστικών μεταστάσεων. Σε στάδιο νόσου T1 συστήνεται η κατηγοριοποίηση κατά M-πριν την κυστεκτομή (37).

#### **4.7 ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ**

Τα διηθητικά καρκινώματα μακροσκοπικά περιλαμβάνουν μια έκταση από θηλώδη, πολυποειδή, οζώδη, συμπαγή, ελκωτική ως διατοιχωματική διάχυτη ανάπτυξη. Μπορεί να είναι μονήρη ή πολυεστιακά. Ο υπόλοιπος βλεννογόνος μπορεί να είναι φυσιολογικός ή ερυθματώδης, ο οποίος μερικές φορές αντιπροσωπεύει τις μικροσκοπικές περιοχές του καρκινώματος *in situ*.

#### **4.8 ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ**

Η ιστολογία του διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος ποικίλλει. Οι περισσότεροι pT1 καρκίνοι είναι θηλώδεις, χαμηλόβαθμοι ή υψηλόβαθμοι, ενώ τα περισσότερα pT2-T4 καρκινώματα είναι μη θηλώδη και υψηλόβαθμα. Αυτά τα καρκινώματα

βαθμοποιούνται ως χαμηλόβαθμα ή/και υψηλόβαθμα ανάλογα με τον βαθμό της πυρηνικής αναπλασίας και ορισμένων αρχιτεκτονικών ανωμαλιών (38).

Το πιο σημαντικό στοιχείο στην παθολογοανατομική εκτίμηση του ουροθηλιακού καρκίνου είναι η αναγνώριση της παρουσίας και η έκταση της διήθησης (39). Στα πρώιμα διηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα (pT1) ή αλλιώς επιφανειακά, μη-μυοδιηθητικά, οι εστίες διήθησης χαρακτηρίζονται από φωλεές, ομάδες ή μεμονωμένα κύτταρα εντός των θηλωδών αξόνων ή/και του χορίου (38). Το βάθος διήθησης του χορίου αντιμετωπίζεται ως προγνωστική παράμετρος στον καρκίνο pT1.

Ιστολογικά, το διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα χαρακτηρίζεται από διηθητικές αναστομούμενες μεταξύ τους φωλεές κυττάρων με μέτριο έως άφθονο αμφίφιλο κυτταρόπλασμα και μεγάλους υπερχρωματικούς πυρήνες. Σε μεγαλύτερες φωλεές η πασαλωτή διάταξη των πυρήνων μπορεί να παρουσιαστεί στην περιφέρεια των φωλεών. Ο πυρήνας τυπικά είναι πολύμορφος και έχει συχνά ανώμαλο περίγραμμα με γωνιώδη χαρακτηριστικά. Τα πυρήνια ποικίλλουν ιδιαίτερα σε αριθμό και εμφάνιση με μερικά κύτταρα να περιέχουν μονήρη ή περισσότερα μικρά πυρήνια και άλλα να έχουν μεγάλα ηωσινόφιλα πυρήνια. Μπορεί να παρατηρηθούν εστίες εκσεσημασμένης πολυμορφίας με παράξενα και πολυπύρρηνα καρκινικά κύτταρα (39). Οι μιτώσεις είναι συχνές, με πολυάριθμες ανώμαλες μορφές. Οι διηθητικές φωλεές συνήθως επάγουν μια δεσμοπλαστική στρωματική αντίδραση, η οποία ενίοτε είναι έντονη και μπορεί να μιμηθεί κακόηθες ατρακτοκυτταρικό στοιχείο, ένα χαρακτηριστικό γνωστό ως ψευδοσαρκωματώδη αντίδραση στρώματος (40). Στις περισσότερες περιπτώσεις το στρώμα περιέχει λεμφοκυτταρική διήθηση με ποικίλο αριθμό πλασματοκυττάρων. Η φλεγμονή είναι συνήθως ήπια έως μέτρια και εστιακή, αν και μπορεί να είναι σοβαρή, πυκνή και εκτεταμένη. Τα πολυμορφοπύρρηνα και τα ηωσινόφιλα είναι σπάνια εμφανή. Οι σχισμές απόσυρσης (retraction clefts) συχνά παρουσιάζονται γύρω από φωλεές των καρκινωματωδών κυττάρων, μιμούμενες αγγειακή διήθηση. Είναι συχνές οι εστίες πλακώδους και αδενικής διαφοροποίησης και θα πρέπει να αναφέρονται (41). Η ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία, του καρκινώματος *in situ* συμπεριλαμβανομένου, είναι συχνή στο παρακείμενο ουροθήλιο (42). Ενίοτε, μπορεί να παρουσιαστούν βλενώδη κυτταροπλασματικά έγκλειστα.

#### **4.9 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ**

Το ουροθηλιακό καρκίνωμα έχει μια τάση για ευρεία διαφοροποίηση, με πιο συχνή την πλακώδη ακολουθούμενη από την αδενική. Η ευρεία διαφοροποίηση συχνά συσχετίζεται με τον υψηλό βαθμό και σταδίου ουροθηλιακό καρκίνο. Όταν παρατηρείται μικροκυτταρική διαφοροποίηση, έστω εστιακά, αυτό προμηνύει πτωχή πρόγνωση και έχει διάφορη θεραπευτική αντιμετώπιση, συνεπώς προτείνεται να διαγιγνώσκεται ως μικροκυτταρικό καρκίνωμα.

##### ***Διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα με πλακώδη διαφοροποίηση***

Η πλακώδης διαφοροποίηση, οριζόμενη από την παρουσία μεσοκυττάρων γεφυρών ή κερατινοποίησης, απαντάται στο 21% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης και στο 44% των όγκων της νεφρικής πυέλου (43). Η συχνότητα του εν λόγω καρκινώματος αυξάνεται με το βαθμό και το στάδιο. Αναλυτικοί ιστολογικοί χάρτες του ουροθηλιακού καρκινώματος με πλακώδη διαφοροποίηση έχουν δείξει ότι η αναλογία του πλακώδους στοιχείου μπορεί να ποικίλλει σημαντικά, με μερικές περιπτώσεις να παρουσιάζουν ουροθηλιακό καρκίνωμα *in situ* ως το μόνο ουροθηλιακό στοιχείο (44). Η διάγνωση του πλακώδους καρκινώματος τίθεται αποκλειστικά για αμιγείς αλλοιώσεις, χωρίς συσχετιζόμενο ουροθηλιακό στοιχείο, συμπεριλαμβανομένου του ουροθηλιακού καρκινώματος *in situ* (45). Η κλινική σημασία της πλακώδους διαφοροποίησης παραμένει ασαφής, αν και φαίνεται να είναι δυσμενές προγνωστικό χαρακτηριστικό σε ασθενείς, που υποβάλλονται σε ριζική κυστεκτομή, πιθανώς λόγω της συσχέτισης με υψηλόβαθμους όγκους (47). Η πλακώδης διαφοροποίηση ήταν προβλεπτική πτωχής ανταπόκρισης σε ακτινοθεραπεία και πιθανώς ίσως σε συστηματική χημειοθεραπεία (41).

##### ***Διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα με αδενική διαφοροποίηση***

Η αδενική διαφοροποίηση είναι λιγότερο συχνή από την πλακώδη και μπορεί να είναι παρούσα σε περίπου 6% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης. Ορίζεται ως η παρουσία αληθών αδενικών χώρων εντός του όγκου. Αυτά μπορεί να είναι σωληνώδη ή εντερικού τύπου αδένια με έκκριση βλέννης. Μπορεί να εμφανιστεί κάποιες φορές ένα κολλοειδές – βλενώδες πρότυπο ανάπτυξης, που χαρακτηρίζεται από φωλεές κυττάρων, που «κολλυμπούν» σε εξωκυττάρια βλέννη, ενίοτε με κύτταρα σφραγιδοφόρου δακτυλίου (*signet ring cells*). Η

κυτταροπλασματική βλέννη, που περιέχεται στα κύτταρα παρουσιάζεται σε 14-63% του τυπικού ουροθηλιακού καρκινώματος και δεν θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει αδενική διαφοροποίηση. Η διάγνωση του αδενοκαρκινώματος επιφυλάσσεται για αμιγείς όγκους (45). Ένας όγκος με μεικτή αδενική και ουροθηλιακή διαφοροποίηση κατατάσσεται ως ουροθηλιακό καρκίνωμα με αδενική διαφοροποίηση και θα πρέπει να υπάρχει μια εκτίμηση του ποσοστού του αδενικού στοιχείου. Η κλινική σημασία της αδενικής διαφοροποίησης και της βλέννης στο ουροθηλιακό καρκίνωμα παραμένει ασαφής (46).

### ***Τύπου φωλεών***

Είναι σπάνιο επιθετικό νεόπλασμα με σαφή υπεροχή των ανδρών και 70% των ασθενών να καταλήγουν σε 4-40 μήνες μετά τη διάγνωση, παρά τη θεραπεία (48). Παρουσιάζει αρχιτεκτονικό πρότυπο με «απατηλά καλοήγη» μορφολογία, προσομοιάζουσα προς φωλεές Von Brunn, που διηθούν το χόριο. Χρήσιμα χαρακτηριστικά στην αναγνώριση της αλλοίωσης ως κακοήθους είναι η τάση για αυξανόμενη κυτταρική αναπλασία στις βαθύτερες μοίρες της, η διηθητική της ανάπτυξη και η συχνή παρουσία μυϊκής διήθησης. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει: εμφανείς φωλεές Brunn, κυστική και αδενική κυστίτιδα, ανεστραμμένο θήλωμα, νεφρογενή μεταπλασία, καρκινοειδή όγκο, παραγαγγλιονικό ιστό και παραγαγγλίωμα (49).

### ***Μικροκυστική ποικιλία***

Ορισμένες φορές το ουροθηλιακό καρκίνωμα παρουσιάζει ένα εντυπωσιακά κυστικό πρότυπο με κύστεις, που κυμαίνονται από μικροσκοπικές έως 1-2 χιλ. σε διάμετρο. Οι κύστεις είναι στρόγγυλες ως ωοειδείς, κάποτε επιμηκυσμένες και μπορεί να περιέχουν νεκρωτικό υλικό ή ροδόχρους εκκρίσεις. Η επένδυση της κύστης μπορεί να απουσιάζει, να είναι αποπλατυσμένη ή ουροθηλιακή και μπορεί να δείχνει διαφοροποίηση προς βλεννώδη κύτταρα. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει το ουροθηλιακό καρκίνωμα με αδενοειδείς αυλούς, καθώς και καλοήθεις επεξεργασίες, όπως κυστική και αδενική κυστίτιδα και νεφρογενές αδένωμα. Το αρχιτεκτονικό πρότυπο θα πρέπει να διαχωριστεί από την φωλεακή ποικιλία του ουροθηλιακού καρκινώματος με σωληνώδη διαφοροποίηση. Το ουροθηλιακό καρκίνωμα με μικροκυστικό πρότυπο δεν συσχετίζεται με το πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα της ουροδόχου κύστης (50).

### ***Μικροθηλώδης ποικιλία***

Το μικροθηλώδες καρκίνωμα είναι μια διακριτή ποικιλία του ουροθηλιακού καρκινώματος, που προσομοιάζει με το θηλώδες ορώδες καρκίνωμα της ωοθήκης (51). Παρατηρείται επικράτηση των ανδρών με ηλικίες κυμαινόμενες από την 5<sup>η</sup> έως την 9<sup>η</sup> δεκαετία (Μ.Ο.: 66 έτη) και συνηθέστερο σύμπτωμα την αιματουρία. Ιστολογικά, παρατηρούνται λεπτές θηλώδεις αποφυάδες, συνήθως με κεντρικό αγγειοσυνδετικό άξονα. Αντίθετα, το διηθητικό τμήμα χαρακτηρίζεται από μικρές φωλεές κυττάρων ή λεπτές θηλές, που περιέχονται σε χώρους που προσομοιάζουν προς λεμφικούς χώρους. Το μικροθηλώδες καρκίνωμα είναι ένα υψηλού βαθμού και σταδίου ουροθηλιακό καρκίνωμα με υψηλή συχνότητα εμφάνισης μεταστάσεων και νοσηρότητας.

### ***Λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα***

Ιστολογικά το καρκίνωμα αυτό μοιάζει με το λεμφοεπιθηλίωμα του ρινοφάρυγγα. Οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζονται με αιματουρία και είναι ήδη σταδίου T2 έως T3 κατά τη διάγνωση. Ο υβριδισμός του RNA του ιού EBV δεν έχει συσχετιστεί σε διάφορες σειρές. Ιστολογικά, ο όγκος αποτελείται από φωλεές, ταπήτια και χορδές αδιαφοροποίητων κυττάρων με μεγάλους πολύμορφους πυρήνες και εμφανή πυρήνια. Το πρότυπο ανάπτυξης είναι συγκυτιακό. Το υπόστρωμα αποτελείται από λεμφοειδές στρώμα, που περιλαμβάνει T- και B- λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, ιστιοκύτταρα και πολυμορφοπύρηνα. Η κύρια διαφορική διαγνωστική προσέγγιση περιλαμβάνει το χαμηλής διαφοροποίησης ουροθηλιακό καρκίνωμα με λεμφοειδές στρώμα, το χαμηλής διαφοροποίησης πλακώδες καρκίνωμα και το λέμφωμα. Οι περισσότερες αναφερόμενες περιπτώσεις είχαν σχετικά ευνοϊκή πρόγνωση σε περίπτωση αμιγούς ή κυρίαρχου καρκινώματος, αλλά όταν το λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα εμφανίζεται σε κατά τα άλλα τυπικό ουροθηλιακό καρκίνωμα, αυτοί οι ασθενείς συμπεριφέρονται όπως οι ασθενείς με συμβατικό ουροθηλιακό καρκίνωμα του ίδιου βαθμού και σταδίου (52). Ως τώρα ο όγκος αυτός έχει βρεθεί να ανταποκρίνεται στη χημειοθεραπεία, όταν απαντάται στην αμιγή μορφή του (53).

### ***Τύπου λεμφώματος & πλασματοκυτταροειδές καρκίνωμα***

Οι τύπου λεμφώματος και πλασματοκυτταροειδείς ποικιλίες του ουροθηλιακού καρκινώματος είναι αυτές όπου τα κακοήθη κύτταρα μοιάζουν σε λέμφωμα ή



πλασμοκύττωμα (54). Ιστολογικά, τα καρκινώματα αυτά χαρακτηρίζονται από την παρουσία μονήρων κακοήθων κυττάρων σε χαλαρό ή μυξοειδές στρώμα. Τα νεοπλασματικά κύτταρα παρουσιάζουν διαυγές ή ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και έκκεντρα τοποθετημένο, υπερχρωματικό πυρήνα με μικρό πυρήνιο. Σχεδόν όλες οι αναφερθείσες περιπτώσεις είχαν και συνιστώσα υψηλόβαθμου ουροθηλιακού καρκινώματος. Κάθε ένα από αυτά τα καρκινώματα μπορεί να προκαλέσει σημαντικό διαφορικό διαγνωστικό δίλημμα, ειδικά σε περιπτώσεις που αποτελεί το κυρίαρχο ή το μοναδικό χαρακτηριστικό σε μικρό βιοπτικό υλικό. Η σημασία της αναγνώρισης αυτών των ποικιλιών εναπόκειται στο να μην εκληφθούν λανθασμένα ως λέμφωμα ή πλασμοκύττωμα.

### ***Σαρκωματοειδές καρκίνωμα (με / χωρίς ετερόλογα στοιχεία)***

Ο όρος σαρκωματοειδής ποικιλία ουροθηλιακού καρκινώματος χρησιμοποιείται για όλα τα διφασικά κακοήθη νεοπλάσματα, που παρουσιάζουν μορφολογικά και/ή ανοσοϊστοχημικά ευρήματα επιθηλιακής και μεσεγχυματικής διαφοροποίησης (με παρουσία ή απουσία ετερόλογων στοιχείων). Σε ορισμένες σειρές έχουν χρησιμοποιηθεί οι όροι καρκινοσάρκωμα και σαρκωματοειδές καρκίνωμα είτε ως 'σαρκωματοειδές' καρκίνωμα, είτε ως ξεχωριστές οντότητες. Οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζονται με αιματουρία, και προηγούμενο ιστορικό καρκινώματος, που θεραπεύτηκε με ακτινοβολία ή κυκλοφωσφαμίδη. Μακροσκοπικά, οι όγκοι είναι συνήθως πολυποειδείς, προβάλλοντας ως μεγάλες ενδοαυλικές μάζες. Μικροσκοπικά, το σαρκωματοειδές καρκίνωμα αποτελείται από ουροθηλιακό, αδενικό ή μικροκυτταρικό στοιχείο σε διάφορους βαθμούς διαφοροποίησης (40). Το μεσεγχυματικό στοιχείο παρατηρείται τις περισσότερες φορές ως αδιαφοροποίητο υψηλόβαθμο ατρακτοκυτταρικό νεόπλασμα. Το πιο συχνό ετερόλογο στοιχείο είναι το οστεοσάρκωμα ακολουθούμενο από χονδροσάρκωμα, ραβδομυοσάρκωμα, λειομυοσάρκωμα και άλλους τύπους ετερόλογης διαφοροποίησης (55). Η κυτταρολογική ατυπία του σαρκωματοειδούς καρκινώματος αποκλείει μη νεοπλασματικές αλλοιώσεις, όπως το μετεγχειρητικό οζίο και τον φλεγμονώδη ψευδοόγκο (56). Είναι συχνές οι λεμφαδενικές και απομακρυσμένες μεταστάσεις κατά τη διάγνωση και 70% των ασθενών καταλήγουν από καρκίνο σε 1 έως 48 μήνες (μ.ο. 17 μήνες) (40).

### ***Ουροθηλιακό καρκίνωμα με γιγαντοκύτταρα***

Το υψηλόβαθμο ουροθηλιακό καρκίνωμα μπορεί να περικλείει επιθηλιακά νεοπλασματικά γιγαντοκύτταρα ή ο όγκος μπορεί να εμφανίζεται αδιαφοροποίητος, μοιάζοντας προς γιγαντοκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα. Αυτή η ιδιαίτερα σπάνια ποικιλία πρέπει να διαχωριστεί από ορισμένες περιπτώσεις, που παρουσιάζουν γιγαντοκύτταρα (οστεοκλαστικού ή τύπου ξένου σώματος) στο στρώμα ή ουροθηλιακού καρκινώματος με τροφοβλαστική διαφοροποίηση. Σε μερικές περιπτώσεις η γιγαντοκυτταρική αντίδραση είναι τόσο εκτεταμένη, που μπορεί να μιμείται γιγαντοκυτταρικό όγκο των οστών (57).

### ***Ουροθηλιακό καρκίνωμα με τροφοβλαστική διαφοροποίηση***

Το υψηλόβαθμο διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα μπορεί να εκφράσει ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (HCG) και άλλες πλακουντιακές γλυκοπρωτεΐνες σε ανοσοϊστοχημικό επίπεδο μόνο ή μπορεί να περιέχουν πολυάριθμα συγκυτιοτροφοβλαστικά γιγαντοκύτταρα (58).

### ***Διαυγοκυτταρική ποικιλία***

Η διαυγοκυτταρική ποικιλία του ουροθηλιακού καρκινώματος ορίζεται από ένα διαυγοκυτταρικό πρότυπο ανάπτυξης με κυτταρόπλασμα πλούσιο σε γλυκογόνο (59). Το διαυγοκυτταρικό αρχιτεκτονικό πρότυπο μπορεί να είναι εστιακό ή εκτεταμένο και είναι σημαντικό στη διαφορική διάγνωση με το διαυγοκυτταρικό αδενοκαρκίνωμα της ουροδόχου κύστης και το μεταστατικό καρκίνωμα του νεφρού και του προστάτη. Το πρότυπο αυτό μπορεί να παρατηρηθεί σε τυπικές θηλώδεις ή αλλοιώσεις *in situ*, αλλά είναι σχετικά πιο συχνό σε χαμηλής διαφοροποίησης ουροθηλιακά καρκινώματα.

### ***Λιπιδόκυτταρική ποικιλία***

Πολύ σπάνια τα ουροθηλιακά καρκινώματα περιέχουν άφθονα λιπίδια, όπου τα λιποειδικά κύτταρα μιμούνται αδενοκαρκίνωμα τύπου ‘σφραγιδοφόρου δακτυλίου’ (60). Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει το τυπικό λιποσάρκωμα και το καρκίνωμα τύπου σφραγιδοφόρου δακτυλίου.

### ***Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα***

Η κατηγορία αυτή περικλείει όγκους, που δεν μπορούν να ταξινομηθούν αλλιώς. Είναι εξαιρετικά σπάνιοι. Στην κατηγορία αυτή είχαν παλαιότερα περιληφθεί το μικροκυτταρικό καρκίνωμα, το γιγαντοκυτταρικό καρκίνωμα και το λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα, αλλά τώρα αναγνωρίζονται ως ειδικοί υπότυποι όγκων (52). Το μεγαλοκυτταρικό αδιαφοροποίητο καρκίνωμα, όπως και στον πνεύμονα, είναι σπάνιο στην ουροδόχο κύστη και αυτά με νευροενδοκρινείς χαρακτήρες θα πρέπει να αναγνωρίζονται ως ειδικές υποποικιλίες του όγκου (61).

## **5. ΜΗ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ**

### ***Αδενοκαρκίνωμα***

Αποτελεί λιγότερο του 2% των διαφόρων τύπων καρκίνου της κύστης. Πρωτοπαθώς εμφανίζεται επί εδάφους φλεγμονών και αδενικής μεταπλασίας σε φυσιολογικές κύστεις, αλλά συνηθέστερα εμφανίζεται σε κύστεις με εκτροπή από εμβρυολογικά υπολείμματα αδενικών κυττάρων, εγκλωβισμένων στο φυσιολογικό ουροθήλιο (373). Περιλαμβάνει το πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα της ουροδόχου κύστης, το διαυγοκυτταρικό αδενοκαρκίνωμα και το καρκίνωμα του ουραχού. Το τελευταίο υποδιαιρείται στις ποικιλίες εντερικού τύπου, βλενώδους τύπου και τύπου κυττάρου σφραγιδοφόρου δακτυλίου (signet-ring cell) (374).

### ***Πλακώδες Καρκίνωμα***

Εμφανίζεται σε ποσοστό 5%-10%. Συχνά συνδέεται με ιστορικό χρόνιας φλεγμονής, λιθίασης της κύστης ή μόνιμου καθετήρα, καθώς και με την σχιστοσωμίαση (375).

### ***Μεικτά καρκινώματα***

Αποτελούν το 4-6% του συνόλου των νεοπλασμάτων της κύστης. Αποτελούνται από κύτταρα μεταβατικού τύπου, αδενικού τύπου, πλακώδη κύτταρα και αδιαφοροποίητα κύτταρα. Στην πλειονότητά τους είναι μεγάλοι διηθητικοί όγκοι την στιγμή της διάγνωσης (376).

### ***Σπάνιοι επιθηλιακοί και μη επιθηλιακοί όγκοι***

Περιλαμβάνονται το λαχνωτό αδένωμα, ο καρκινοειδής όγκος, το παραγαγγλίωμα και

όγκοι καλοήθεις ή κακοήθεις μεσεγγυματικής προέλευσης, όπως λειομύωμα, αιμαγγείωμα, κοκκιοκυτταρικός όγκος, νευροϊνωμα, λέμφωμα, μελάνωμα, ραβδομυοσάρκωμα, λειομυοσάρκωμα, αγγειοσάρκωμα, οστεοσάρκωμα, κακώθες ινώδες ιστιοκύτωμα (377, 378).

### ***Μεταστατικοί όγκοι***

Οι πιο συνηθισμένοι όγκοι, που μπορούν να δώσουν μετάσταση στην ουροδόχο κύστη είναι: το μελάνωμα, το λέμφωμα, ο καρκίνος του στομάχου, του μαστού, του νεφρού και των πνευμόνων (379).

## **6. ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ – ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ**

Υπάρχει μια δυναμική και λεπτή ισορροπία μεταξύ διαφόρων παραγόντων για τον έλεγχο της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού των φυσιολογικών κυττάρων. Αυτό επιτυγχάνεται σε βιοχημικό και μοριακό επίπεδο. Στο βιοχημικό επίπεδοσημαντικό ρόλο παίζει η συγκέντρωση διάφορων πρωτεϊνικών μορίων, ενώ στο μοριακό – γενετικό επίπεδο η ενεργοποίηση ή η αδρανοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων. Αυτή η αυστηρά ελεγχόμενη ισορροπία μπορεί να διαταραχθεί από την επίδραση περιβαλλοντικών, κληρονομικών ή ακόμη και τυχαίων παραγόντων. Το κύτταρο διαθέτει μια σειρά ρυθμιστικών μηχανισμών για την αποφυγή τέτοιων διαταραχών. Σε περίπτωση παράκαμψης των μηχανισμών αυτών οδηγούμαστε σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και καρκινογένεση.

Η αιτιολογία του καρκίνου δεν είναι πάντα σαφής και μονοδιάστατη, αν και παράγοντες όπως χημικές ουσίες, ακτινοβολία και ιοί έχουν συσχετισθεί με βλάβες του γονιδιώματος και την ανάπτυξη κακοήθειας. Όταν η αλλοίωση του DNA αφορά σε γεννητικά κύτταρα, τότε είναι κληρονομήσιμη και η προδιάθεση της αυτόνομης ανάπτυξης των κυττάρων αφορά σε περισσότερους του ενός ιστούς. Η κατανόηση του ρόλου των γονιδίων στην καρκινογένεση θα βοηθήσει στην κατανόηση των μηχανισμών, που διέπουν τη δημιουργία και ανάπτυξη των νεοπλασμάτων.

Ο καρκίνος δεν κληρονομείται ως απλός Μενδελικός χαρακτήρας, αλλά είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Επίσης, δεν προκαλείται από μια μετάλλαξη, αλλά από τη συσσώρευση αρκετών γενετικών

αλλαγών στα κύτταρα. Πριν μερικές δεκαετίες, μελέτες έδειξαν ότι η μετατροπή ενός φυσιολογικού κυττάρου σε καρκινικό προϋποθέτει τουλάχιστον έξι μεταλλάξεις (380). Αυτή η μετατροπή γίνεται πιθανόν με το συνδυασμό δυο παραγόντων:

α) Μερικές μεταλλάξεις ενισχύουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό δημιουργώντας έναν κυτταρικό πληθυσμό – στόχο για την επόμενη μετάλλαξη.

β) Κάποιες μεταλλάξεις επηρεάζουν τη σταθερότητα ολόκληρου του γονιδιώματος αυξάνοντας έτσι το συνολικό ρυθμό μεταλλάξεων.

Αναφέρονται τρεις κατηγορίες γονιδίων, τα οποία μεταλλάσσονται στον καρκίνο:

α) ογκογονίδια

β) ογκοκατασταλτικά γονίδια

γ) γονίδια επιδιορθωτικών ενζύμων

### **Γενετική προδιάθεση**

Το ουροθηλιακό καρκίνωμα δεν είναι οικογενής νόσος. Εντούτοις, έχουν αναφερθεί πολλές περιπτώσεις με οικογενειακό ιστορικό. Υπάρχουν ενδείξεις αυξημένου κινδύνου ουροθηλιακών καρκινωμάτων του ουρητήρα και της νεφρικής πυέλου, αλλά όχι της κύστης, σε οικογένειες με κληρονομικό καρκίνο παχέος εντέρου, που δεν έχει σχέση με την πολυποδίαση. Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι τα ουροθηλιακά καρκινώματα έχουν κάποιο οικογενειακό στοιχείο με 1,5-2 φορές αυξημένο κίνδυνο μεταξύ συγγενών α' βαθμού των ασθενών (381). Η μόνη ουσιώδης γενετική αλλαγή, που έχει καταδειχθεί μέχρι σήμερα σε μια οικογένεια με ουροθηλιακά καρκινώματα σε δυο γενιές είναι η ισορροπημένη διαμετάθεση t(5;20)(p15;q11). Δεν βρέθηκαν χρωμοσωμικές τροποποιήσεις σε 30 επιπλέον οικογένειες, με 2 τουλάχιστον προσβεβλημένα άτομα. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν ασθενείς με σποραδικά ουροθηλιακά καρκινώματα, που εμφανίζουν υψηλότερη ευαισθησία σε μεταλλαξογόνα σε σχέση με τους μάρτυρες, όπου ασθενείς με κληρονομικό καρκίνο της κύστης δεν παρουσίασαν αυξημένη ευαισθησία σε μεταλλαξογόνα. Έχει καταδειχθεί μια μικρή αύξηση του κινδύνου για καρκίνο της κύστης για πολυμορφικές ποικιλίες διαφόρων ενζύμων αποτοξικοποίησης, όπως το NAT2 και το GSTM1 (382).

## 6.1 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

Οι γενετικές μελέτες, μέχρι σήμερα, έχουν χρησιμοποιήσει την ταξινόμηση των όγκων κατά WHO 1973, ενώ μελέτες, που συσχετίζουν τις υπάρχουσες γενετικές πληροφορίες με τη σύγχρονη ταξινόμηση, είναι σε εξέλιξη.

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης είχε παλαιότερα κατηγοριοποιηθεί σε «επιφανειακό» (pTa, pT1, CIS) και «διηθητικό» (pT2-4) καρκίνο, ανάλογα με το αν υπήρχε νεοπλασματική διήθηση, επεκτεινόμενη στο μυϊκό τοίχωμα της ουροδόχου κύστης (98). Τα διαθέσιμα γενετικά δεδομένα προτείνουν μια άλλη υποδιαίρεση της νεοπλασίας της ουροδόχου κύστης. Δυο γενετικοί υπότυποι με αξιοσημείωτη διαφορά στο βαθμό της γενετικής τους αστάθειας, αντιστοιχούν σε μορφολογικά καθορισμένες οντότητες:

1. Η **γενετικά σταθερή κατηγορία** περιλαμβάνει χαμηλόβαθμους μη-διηθητικούς θηλώδεις όγκους (pTa).
2. Η **γενετικά ασταθής κατηγορία** περιλαμβάνει υψηλόβαθμα (συμπεριλαμβανομένων των pTa G3 και CIS) και διηθητικά καρκινώματα (σταδίου pT1-4).

Τα **γενετικά σταθερά νεοπλάσματα**, δηλαδή τα μη-διηθητικά χαμηλόβαθμα θηλώδη νεοπλάσματα (pTa, G1-2) έχουν μόνο λίγες γενωμικές αλλαγές και γι' αυτό αντιμετωπίζονται ως 'γενετικά σταθερά' (99). Απώλειες του χρωμοσώματος 9, που συχνά περιλαμβάνουν ολόκληρο το χρωμόσωμα και μεταλλάξεις του FGFR3 είναι οι πιο συχνά γνωστές γενετικές αλλαγές σε αυτούς τους όγκους. Οι γονιδιακές ενισχύσεις και οι μεταλλάξεις της TP53 είναι σπάνιες (100). Η ανευπλοϊδία DNA απαντάται σε λιγότερο από 50% (101).

Τα **γενετικά ασταθή νεοπλάσματα**, δηλαδή οι διηθητικά αναπτυσσόμενες και υψηλόβαθμες νεοπλασίες είναι αξιοσημείωτα διαφορετικές από μη διηθητικούς θηλώδεις χαμηλόβαθμους όγκους. Φαίνεται να είναι γενετικά ασταθείς και έχουν πολλές διαφορετικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, που συχνά περιλαμβάνουν υψηλού επιπέδου ενισχύσεις και μεταλλάξεις του P53 (102). Η ανευπλοϊδία DNA παρατηρείται σε >90% (101). Οι γενετικές διαφορές μεταξύ ελάχιστα διηθητικών (pT1) και ευρέως διηθητικών (pT2-4) καρκινωμάτων είναι μόνο ελάχιστες. Μερικές αναφορές έχουν υποθέσει ένα πιθανό ρόλο των 5p+, 5q- και 6q- για περαιτέρω

εξέλιξη σε καρκίνους pT1 σε pT2-4 (103). Μόνο μερικές μελέτες έχουν διερευνήσει μη διηθητικές υψηλόβαθμες πρόδρομες αλλοιώσεις (pTaG3, CIS) (104).

Αυτά τα δεδομένα προτείνουν μια ισχυρή ομοιότητα μεταξύ αυτών των όγκων και διηθητικά αναπτυσσόμενων καρκίνων, που είναι συμβατή με το υποθετικό ρόλο τους ως **πρόδρομων του διηθητικού καρκίνου** ουροδόχου κύστης. Ο μεγάλος αριθμός των ατομικών γενετικών αλλαγών, που είναι πολύ πιο συχνές σε υψηλόβαθμους ή διηθητικούς όγκους παρά σε νεοπλασίες pTaG1-G2, καθιστά απίθανο ένα σχετικό μέρος των διηθητικών καρκίνων να προέρχεται από μη διηθητικούς θηλώδεις χαμηλόβαθμους όγκους. Αυτό είναι επίσης συμβατό με την κλινική παρατήρηση ότι η μεγάλη πλειοψηφία των διηθητικών καρκίνων ουροδόχου κύστης δεν έχουν ως προηγούμενο έναν όγκο pTa G1/G2 (105).

Οι πρόδρομες αλλοιώσεις είτε διηθητικών είτε μη διηθητικών ουροθηλιακών όγκων περιλαμβάνουν την υπερπλασία, δεδομένου ότι σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορούν να βρεθούν σε αυτές τις αλλοιώσεις, επίσης απουσία δυσπλασίας. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορούν επίσης να παρατηρηθούν σε ιστολογικά 'φυσιολογικά εμφανιζόμενο ουροθήλιο' σε ουροδόχους κύστες από καρκινοπαθείς. Αυτό προτείνει ότι η γενετική ανάλυση μπορεί να είναι ανώτερη της ιστολογίας για διάγνωση πρώιμης νεοπλασίας (106). Μόνο μερικές μελέτες έχουν αναλύσει γενετικές αλλαγές στη δυσπλασία (104), οι οποίες έδειξαν ότι τροποποιήσεις, που είναι τυπικές για CIS μπορούν επίσης να βρεθούν σε μερικές δυσπλασίες, υποδηλώνοντας ότι τουλάχιστον ένα μέρος αυτών μπορεί να θεωρηθεί ως πρόδρομο του CIS.

### ***Πολυεστιακά νεοπλάσματα ουροδόχου κύστης***

Συνήθως οι νεοπλασίες του ουροθηλίου δεν περιορίζονται σε έναν μονήρη όγκο. Η πολυεστιακότητα, η συχνή υποτροπή και η παρουσία ορατών επίπεδων συνοδών αλλοιώσεων, όπως επίσης η υπερπλασία ή δυσπλασία, είναι χαρακτηριστικά γι' αυτούς τους όγκους. Μορφολογικές, κυτταρογενετικές και ανοσοϊστοχημικές χαρτογραφικές μελέτες δειγμάτων κυστεκτομής έχουν παρουσιάσει περιοχές ανώμαλων κυττάρων, παρακαείμενα σε μακροσκοπικά ορατούς όγκους (107). Η πλειοψηφία (80-90%) πολυκεντρικών νεοπλασιών ουροδόχου κύστης είναι μονοκλωνικής προέλευσης (108). Έχει υποτεθεί ότι τα νεοπλασματικά κύτταρα, που έχουν προέλθει σε μια περιοχή, αργότερα επεκτείνονται σε άλλες περιοχές είτε με ενεργή μετανάστευση μέσω του ουροθηλίου, είτε μέσω των ούρων μέσω

αποφολίδωσης και επανεμφύτευσης. Παρόλα αυτά, υπάρχουν επίσης αναφορές πολυκλωνικών καρκίνων, κυρίως σε όγκους πρώιμου σταδίου ή σε προκακοήθειες αλλοιώσεις (109). Αυτές οι παρατηρήσεις έχουν αναδείξει την υπόθεση «ελλειμματικού πεδίου», που προτείνει ότι περιβαλλοντικά μεταλλαξιογόνα μπορεί να προκαλέσουν πεδία /περιοχές γενετικά τροποποιημένων κυττάρων, που γίνονται η πηγή πολυκλωνικών πολυεστιακών όγκων (110). Φαίνεται πιθανό ότι η επιλογή και η υπερανάπτυξη του πιο γρήγορα αναπτυσσόμενου κλώνου από μια αρχικά πολυκλωνική νεοπλασία θα μπορούσε να οδηγήσει σε ψευδοκλωνικότητα σε μερικές περιπτώσεις πολλαπλού καρκίνου ουροδόχου κύστης. Η παρουσία ή απουσία μονοκλωνικότητας θα μπορούσε να έχει επίδραση στην κλινική θεραπεία.

## **6.2 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ / ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΜΗ-ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**

### *Χρωμοσωμικές ανωμαλίες*

Τα μη διηθητικά θηλώδη χαμηλόβαθμα νεοπλάσματα (pTaG1-2) έχουν μόνο λίγες κυτταρογενετικές αλλαγές, υποδηλώνοντας ότι αυτοί οι όγκοι είναι γενετικά σταθερά νεοπλάσματα (99).

**Ολικές ή μερικές απώλειες του χρωμοσώματος 9** είναι μακράν η πιο συχνή κυτταρογενετική αλλαγή σε αυτούς τους όγκους, που συμβαίνει σε περίπου 50% των καρκίνων της ουροδόχου κύστης όλων των βαθμών και σταδίων. Η απώλεια του χρωμοσώματος 9 μπορεί επίσης να βρεθεί στην υπερπλασία και ακόμα και σε μορφολογικά φυσιολογικά εμφανιζόμενο ουροθήλιο (111).

**Οι απώλειες του χρωμοσώματος Y** αντιπροσωπεύουν την επόμενη πιο συχνή κυτταρογενετική αλλαγή σε χαμηλόβαθμους όγκους (112). Η βιολογική σημασία αυτής της αλλαγής είναι ασαφής, δεδομένου ότι απώλειες του Y μπορούν επίσης να βρεθούν σε φυσιολογικό ουροθήλιο από ασθενείς χωρίς ιστορικό καρκίνου ουροδόχου κύστης. Οι υψηλόβαθμες μη διηθητικές πρόδρομες αλλοιώσεις (pTaG3, CIS) είναι πολύ διαφορετικές από τις χαμηλόβαθμες νεοπλασίες. Κυτταρογενετικά μοιάζουν με διηθητικά αναπτυσσόμενους όγκους και έχουν πολλές διαφορετικές γενωμικές αλλαγές (113). Μια μελέτη έδειξε επικρατέστερες απαλοιφές στα 2q,5q,10q και 18q καθώς επίσης και προσθήκες στα 5p και 20q σε όγκους pTaG3 (114). Μια υψηλή συχνότητα απώλειας ετεροζυγωτίας (LOH) σε διάφορους τόπους



παρατηρήθηκε επίσης σε δείγματα CIS, με κύριες αλλαγές τη LOH στα 3p, 4q, 5q, 8p, 9p, 9q, 11p, 13q, 14q, 17p και 18q (113).

**Αλλαγές στο περιεχόμενο του κυτταρικού DNA** απαντώνται συχνά στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης (115). Η ανευπλοϊδία συσχετίζεται ισχυρά με το στάδιο και το βαθμό και οι διαφορές είναι πιο εντυπωσιακές μεταξύ όγκων pT<sub>a</sub> και pT<sub>1</sub>. Η ανίχνευση ανευπλοϊδίας (π.χ. με FISH ή κυτταρομετρία) μπορεί να είναι κατάλληλο εργαλείο για την πρόμνη ανίχνευση καρκίνου ουροδόχου κύστης και υποτροπών. Έχει φανεί ότι ένα πάνελ 4 ιχνηθετών FISH είναι αρκετό για να ανιχνευτούν χρωμοσωμικές αλλαγές σε καρκίνους της ουροδόχου κύστης και καρκινικά κύτταρα στα ούρα (116).

### ***Το χρωμόσωμα 9***

Οι απώλειες παρόμοιας συχνότητας του χρωμοσώματος 9 σε μη-διηθητικούς θηλώδεις χαμηλόβαθμους όγκους και σε υψηλόβαθμους διηθητικούς καρκίνους πυροδότησε εκτεταμένη έρευνα για την εύρεση προτεινόμενου ενός ή περισσότερων ογκοκατασταλτικών γονιδίων επί του χρωμοσώματος 9, που φαίνεται να παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην έναρξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης (117). Οι χαρτογραφικές μελέτες, που χρησιμοποιούν μικροδορυφορική ανάλυση προσδιόρισαν πολλαπλές κοινές περιοχές απώλειας ετεροζυγωτίας (LOH). Δύο από αυτές τις περιοχές έχουν ταυτοποιηθεί στο 9p21, που είναι οι τόποι των γονιδίων ελέγχου κυτταρικού κύκλου CDKN2A (p16/p14<sup>ARF</sup>) και CDKN2B (p15) (118). Άλλοι τρεις υποτιθέμενοι τόποι κατασταλτικών γονιδίων έχουν χαρτογραφηθεί στα 9q13-q31, 9q32-q33 και 9q34, που περιέχουν τα γονίδια PTCH, DBCCR1 και TSC1. Η απώλεια της λειτουργίας TSC1 επισυμβαίνει στο 14.5% των UCCs, έχοντας ως αποτέλεσμα αυξημένη σηματοδότηση του mTOR και αντίσταση στην απόπτωση (383). Επειδή οι ομόζυγες απαλοιφές είναι ελαφρά πιο συχνές για το CDKN2A παρά για το CDKN2B, έχει πιθανολογηθεί ότι το p16/p14<sup>ARF</sup> μπορεί να είναι ο πρωταρχικός στόχος των απαλοιφών του 9p21. Στο 9q, ο υποτιθέμενος ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου DBCCR1 (deleted in bladder cancer chromosome region candidate 1), το οποίο θα μπορούσε να εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, φαίνεται να είναι ένας υποσχόμενος υποψήφιος ογκοκαταστολέας. Η απώλεια της έκφρασης της DBCCR1 έχει βρεθεί σε 50% των όγκων ουροδόχου

κύστης (119) και η ανάλυση FISH αποκάλυψε απαλοιφές του 9q33 στο 73% των δειγμάτων (120).

### ***O υποδοχέας 3 του FGF (FGFR3)***

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου, που εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 4p16.3, έχουν προσδιοριστεί ως χαρακτηριστική μοριακή τροποποίηση για όγκους pTa. Στη μεγαλύτερη μελέτη, που έχει αναφερθεί ως σήμερα, 74% των όγκων pTa είχαν μετάλλαξη του FGFR3 συγκρινόμενα με 16% των όγκων T2-4 (121). Όλες οι μεταλλάξεις, που έχουν περιγραφεί, είναι λανθασμένες (missense) μεταλλάξεις, εντοπιζόμενες στα εξόνια 7, 10 ή 15, που έχουν προηγουμένα περιγραφεί ως βλαστική μετάλλαξη σε σύνδρομο σκελετικής δυσπλασίας (122). Αυτές οι μεταλλάξεις προκαλούν συστατική ενεργοποίηση του υποδοχέα. Έχει αναφερθεί ότι μεταλλάξεις έχουν συνδεθεί με χαμηλότερο κίνδυνο υποτροπής, υποδεικνύοντας πιθανό προσδιορισμό μιας ομάδας ασθενών με ευνοϊκή πορεία νόσου. Σε πρόσφατη μελέτη έχει φανεί ότι συγκρίσιμες συχνότητες μετάλλαξης FGFR3 αναφέρθηκαν σε 9 από 12 θηλώματα (75%), 53 από 62 όγκους χαμηλού κακοήθους δυναμικού (85%) και 15 από 17 χαμηλόβαθμα θηλώδη καρκινώματα (88%) (384). Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι αυτές οι κατηγορίες αντιπροσωπεύουν παραλλαγές μιας οντότητας όγκου (μη διηθητικοί χαμηλόβαθμοι θηλώδεις όγκοι, γενετικά σταθεροί).

### ***TP53 και RB***

Αλλαγές του TP53 και του γονιδίου ρετινοβλαστώματος (RB) (123) απαντώνται σε ένα μέρος των μη διηθητικών θηλωδών χαμηλόβαθμων όγκων, που είναι πολύ μικρότερο από ό,τι στο διηθητικό καρκίνο.

### ***HER2 & EGFR***

Η υπερέκφραση των HER2 ή EGFR έχει περιγραφεί σε ποικίλο τμήμα των pTaG1/G2 όγκων, ανάλογα με την αναλυτική μεθοδολογία (124). Λίγες μελέτες έχουν εξετάσει τις γενετικές αλλαγές σε όγκους CIS ή pTaG3. Αυτοί έδειξαν συγκρινόμενες συχνότητες αλλαγών p53 (50-70%), υπερέκφρασης HER2 (50-75%) ή υπερέκφρασης EGFR (45-75%) και απώλεια του p21 (50-70%) ή του p27 (50%), όπως περιγράφηκε στους διηθητικούς καρκίνους (125). Η αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης RAS έχει περιγραφεί στα CIS και σε υψηλόβαθμους όγκους, αλλά όχι σε υπερπλασία ή χαμηλόβαθμους όγκους (126).

### 6.3 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ / ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ

Έχει υποτεθεί ότι οι διηθητικοί ουροθηλιακοί καρκίνοι προέρχονται κυρίως είτε από μη-διηθητικό υψηλόβαθμο θηλώδες ουροθηλιακό καρκίνωμα (pTaG3) ή ουροθηλιακό καρκίνωμα *in situ*. Όπως προαναφέραμε, σε γενετικό επίπεδο, οι διηθητικά αναπτυσσόμενοι ουροθηλιακοί καρκίνοι (σταδίου pT1-4) είναι πολύ διαφορετικοί από χαμηλόβαθμους μη-διηθητικούς θηλώδεις όγκους (δηλαδή τα PUNLMP και μη-διηθητικά χαμηλόβαθμα ουροθηλιακά καρκινώματα). Τα διηθητικά ουροθηλιακά καρκινώματα χαρακτηρίζονται από χρωμοσωμικές ανωμαλίες και παρουσία ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων.

#### Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες

Τα ουροθηλιακά καρκινώματα της κύστης χαρακτηρίζονται από την παρουσία μεγάλου αριθμού γενετικών αλλαγών, σε έλεγχο πολλών διαφορετικών χρωμοσωμικών περιοχών. Μελέτες, που χρησιμοποίησαν συγκριτικό γενωμικό υβριδισμό (CGH) έχουν περιγράψει περίπου 7-10 αλλαγές στο διηθητικό καρκίνο της κύστης. Οι επικρατέστερες κυτταρογενετικές αλλαγές στους διηθητικούς ουροθηλιακούς καρκίνους είναι: *απώλειες* στις περιοχές 2q, 5q, 8p, 9p, 9q, 10q, 11p, 18q και στο Y χρωμόσωμα, καθώς και *προσθήκες* στις περιοχές 1q, 5p, 8q και 17q (62).

Σημαντικό είναι το γεγονός πως παρατηρείται συχνά συν-επαύξηση και ταυτόχρονη υπερέκφραση πολλών γειτονικών ογκογονιδίων. Για παράδειγμα, η επαύξηση του CCND1 στο 11q13 μπορεί να συνοδεύεται από επαύξηση των FGF4/FGF3 στο 88% των περιπτώσεων. Η επαύξηση της MDM2 στο 12q15 συνοδεύεται από επαύξηση του CDK4 στο 11% των περιπτώσεων και η επαύξηση του HER2 στη θέση 17q23 περιλαμβάνει το TOP2A στο 15% των περιπτώσεων (63). Η ταυτόχρονη υπερέκφραση δυο ή περισσότερων παρακείμενων γονιδίων μπορεί να προσφέρει στα κύτταρα σημαντικό πλεονέκτημα αύξησης.

#### Ογκογονίδια

**Her2/neu:** είναι τρανσμεμβρανικός υποδοχέας τυροσινοκινάσης, η ενεργοποίηση του οποίου γίνεται μέσω αλληλεπίδρασης με άλλα μέλη της οικογένειας γονιδίων EGFR. Το γονίδιο του *Her2/neu* παρουσιάζει επαύξηση σε ποσοστό 10-20% και υπερέκφραση στο 10-50% των διηθητικών καρκινωμάτων της κύστης. Αντίθετα με

τον καρκίνο του μαστού, όπου η υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER2 οφείλεται σχεδόν πάντα σε γονιδιακή επαύξηση, η πλειοψηφία των HER2-θετικών καρκίνων της κύστης δεν παρουσιάζει γονιδιακή επαύξηση και ο λόγος αυτής της υπερέκφρασης του HER2 δεν είναι γνωστός σε αυτούς τους όγκους (64). Επαυξήσεις ή απαλοιφές της παρακείμενης τοποϊσομεράσης 2A (TOP2A) παρουσιάζονται σε περίπου 23% των HER2 ενισχυμένων περιπτώσεων. Η TOP2A είναι ο στόχος των ανθρακυκλινών και έτσι η ανατομία της περιοχής του γονιδίου 17q23, που παρουσιάζει επαύξηση, μπορεί να επηρεάσει επίσης την ανταπόκριση σε κυτταροτοξικές θεραπείες.

**H-ras:** Οι μεταλλάξεις στο H-ras περιορίζονται σχεδόν πάντα σε συγκεκριμένες τροποποιήσεις εντός των κωδικονίων 12, 13 και 61. Ανάλογα με τη μέθοδο ανίχνευσης, οι μεταλλάξεις του H-ras έχουν αναφερθεί σε άνω του 45% των καρκίνων ουροδόχου κύστης, χωρίς σαφή συσχέτιση με το στάδιο ή το βαθμό κακοηθείας του όγκου (65).

**EGFR :** είναι μια τρανσμεμβρανική τυροσινικινάση, που δρα ως υποδοχέας για αρκετούς συνδέτες, όπως τους epidermal growth factor (EGF) και transforming growth factor alpha (TFG- $\alpha$ ). Το γονίδιο του EGFR εμφανίζει επαύξηση στο 3-5% και υπερέκφραση στο 30-50% των διηθητικών καρκινωμάτων της κύστης (66).

**Κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες (CDKs) / Κυκλίνες :** Οι κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες και οι ρυθμιστικές υπομονάδες τους, οι κυκλίνες, είναι σημαντικοί προαγωγοί του κυτταρικού κύκλου. Το γονίδιο της κυκλίνης D1 (CCND1), που εντοπίζεται στην περιοχή 11q13 είναι ένα από τα πιο συχνά επαυξημένα (10-20%) και υπερεκφραζόμενα (30-50%) ογκογονίδια στα καρκινώματα της ουροδόχου κύστης (67). Έχουν αναφερθεί συσχετίσεις μεταξύ της έκφρασης του CCND1 και της υποτροπής του όγκου και της εξέλιξης της νόσου ή της επιβίωσης των ασθενών (68).

**MDM2 :** εντοπιζόμενο στο 12q14.3-q15, το γονίδιο MDM2 κωδικοποιεί άνω των 40 διαφορετικών ποικιλιών ματίσματος, μόνο δυο των οποίων αλληλεπιδρούν με το TP53 και έτσι αναστέλλουν την ικανότητά του να ενεργοποιεί τη μεταγραφή. Αντίστροφα, η μεταγραφή του MDM2 επάγεται από τον άγριο τύπο TP53. Η MDM2 επίσης προάγει την αποδόμηση της πρωτεΐνης TP53, μετατρέποντας την

υπερέκφραση της MDM2 σε έναν εναλλακτικό μηχανισμό για απενεργοποίηση της TP53. Έχει παρατηρηθεί μόνο σε 4-6% των διηθητικά αναπτυσσόμενων καρκίνων ουροδόχου κύστης. Ανιχνεύσιμη έκφραση πρωτεΐνης MDM2 έχει αναφερθεί σε 10-40% καρκίνων ουροδόχου κύστης, (69).

Η ενίσχυση της *MDM2* φαίνεται να είναι πιο συχνή σε υψηλού σταδίου και υψηλού βαθμού όγκους. Ένας πολυμορφισμός μονού νουκλεοτιδίου στον προαγωγέα της *MDM2*, ο SNP309, είναι ένα συχνό φαινόμενο στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και προβλέπει μια πιο πρόωμη έναρξη της μη-μυο-διηθητικής νόσου, και μπορεί να είναι ειδικά προγνωστικός όταν συνδεθεί με την κατάσταση της μετάλλαξης *TP53*.

Η μεταγραφή της *MDM2* αναστέλλεται από την p14. Το γονίδιο, που κωδικοποιεί την p14, το *p14ARF*, επάγεται από το E2F, το οποίο συνδέει το μονοπάτι της p53 με το μονοπάτι Rb. Το γονίδιο *Rb* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Rb, που παίζει κριτικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Το ενεργό αποφωσφορυλιωμένο Rb συνδέεται στο E2F και το αναστέλλει. Στη φωσφορυλιωμένη του κατάσταση, το Rb απελευθερώνει το E2F, το οποίο με τη σειρά του είναι ικανό να επάγει τη γονιδιακή μεταγραφή για σύνθεση DNA (317).

### **Ογκοκατασταλτικά γονίδια**

**TP53** : εντοπιζόμενο στο 17q23, κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 53 kDa, που παίζει ρόλο σε αρκετές κυτταρικές διεργασίες, όπως στον κυτταρικό κύκλο, απάντηση σε βλάβη DNA, κυτταρικό θάνατο και νεοαγγειογένεση. Το γονιδιακό του προϊόν ρυθμίζει την έκφραση διάφορων πολλαπλών γονιδίων. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου TP53, που εντοπίζονται κυρίως στο κεντρικό, DNA-συνδεόμενο, τμήμα του γονιδίου, αποτελεί βασικό σημείο των διηθητικά αναπτυσσόμενων καρκίνων ουροδόχου κύστης. Έχουν αναφερθεί από την IARC (International Agency for Research on Cancer, 2002) μεταλλάξεις του TP53 στο 40-60% των διηθητικών καρκίνων ουροδόχου κύστης (70). Σε ποσοστό άνω του 90%, οι μεταλλάξεις εντοπίζονται στα εξόνια 4-9. [ Φαίνεται ότι η πυρηνική συσσώρευση της p53 είναι προγνωστική της έκβασης, ειδικά σε ασθενείς που έχουν υποστεί ριζική κυστεκτομή. Σε σχετικές μελέτες, η τροποποιημένη έκφραση της p53 αυξάνει προοδευτικά σε δείγματα από φυσιολογικό ουροθήλιο σε μη-μυο-διηθητικό καρκίνωμα, μυο-διηθητικό καρκίνωμα και τελικά μεταστατικό σε λεμφαδένες. Δυο σύγχρονες μελέτες επιβεβαίωσαν περαιτέρω ότι η υπερέκφραση της p53 συσχετίζεται σημαντικά με το παθολογοανατομικό στάδιο

όγκου, βαθμό, λεμφαγγειακή διήθηση και λεμφαδενική μετάσταση, καθώς επίσης υποτροπή νόσου και καρκινο-ειδική θνησιμότητα. Σε συμφωνία με προηγούμενα ευρήματα, νεότερες μελέτες βρήκαν ότι η υπερέκφραση του p53 συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής νόσου και καρκινο-ειδικής θνησιμότητας. Αξιοσημείωτα, το status p53 ήταν πιο ισχυρός προγνωστικός δείκτης εκβάσεων ουροθηλιακών καρκινωμάτων σε ασθενείς που έχουν κάνει ριζική κυστεκτομή παρά οι χρωμοσωμικές τροποποιήσεις ή τα πρότυπα έκφρασης των p21, pRB, p27, p16, cyclin E1 ή cyclin D1 (319).

**MMPs:** Σε ουροθηλιακά καρκινώματα ουροδόχου κύστης τα επίπεδα των μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος MMP-2 και MMP-9, ενζύμων, που έχουν συσχετισθεί με καρκινική διήθηση και μετάσταση, είναι σημαντικά υψηλότερα στα διηθητικά και πτωχά διαφοροποιημένα καρκινώματα. Η έκφραση των MMP έχει συσχετιστεί με περισσότερο προχωρημένα στάδια και μειωμένους ρυθμούς ελεύθερης υποτροπής και νοσο-ειδικής επιβίωσης (385).

**PTEN:** το γονίδιο PTEN (Phosphatase and Tensin homology), γνωστό επίσης ως MMAC (Mutated in Multiple Advanced Cancers) και TEP1 (TGFbeta regulated and epithelial cell enriched phosphatase), είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο, εντοπιζόμενο στο χρωμόσωμα 10q23.3. Έχει αναφερθεί σχετικά υψηλή συχνότητα LOH (20-30%) στο 10q23 σε μυο-διηθητικό καρκίνο ουροδόχου κύστης (71), καθώς και μεταλλάξεις σε ποσοστό 0.6-17% (72). Έτσι, παραμένει το ερώτημα ως προς τον επικρατέστερο μηχανισμό απενεργοποίησης του δεύτερου αλληλίου ή υποδεικνύει ότι το PTEN δεν είναι ο μόνος γονιδιακός στόχος στο 10q23. Η απώλεια του PTEN συσχετίζεται με επιθετική ανάπτυξη του όγκου, μεταστάσεις και μη-ευνοϊκή πρόγνωση. Σε διηθητικά καρκινώματα, το PTEN μεταλλάσσεται ή παρουσιάζει απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH) σε άνω του 30% των περιπτώσεων, ποσοστό που μειώνεται σε 6.6% σε επιφανειακούς όγκους (pTa/pT1). Πράγματι, μια ομάδα ανέφερε μειωμένη έκφραση πρωτεΐνης στο 94% σε δείγματα προχωρημένου σταδίου καρκίνου ουροδόχου κύστης, ενώ μόλις 42% δειγμάτων επιφανειακών όγκων και 8% καρκινώματος in situ (CIS) είχαν μειωμένη έκφραση PTEN. Ερευνητές έχουν επίσης βρει ότι η κατάσταση του PTEN μπορεί να είναι σημαντική στην επιρροή ανταπόκρισης στη θεραπεία (383).

**RB1 (Retinoblastoma):** το RB1, εντοπίζεται στο 13q14 και παίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Απενεργοποίηση του RB1 εμφανίζεται στο 30-80% των μυο-διηθητικών καρκίνων ουροδόχου κύστης, πιο συχνά ως συνέπεια ετερόζυγων 13q απαλοιφών σε συνδυασμό με μετάλλαξη του υπολειπόμενου αλληλίου (73). Έχει βρεθεί μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ απενεργοποίησης του RB1 και μυικής διήθησης (74) και έχει αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ τροποποιημένης έκφρασης του Rb και μειωμένης επιβίωσης ασθενών (75).

**MicroSatellite Instability – MSI:** Οι τροποποιήσεις των γονιδίων επιδιόρθωσης του DNA είναι σημαντικές για πολλούς τύπους καρκίνου. Στον διηθητικό καρκίνο ουροδόχου κύστης είναι σπάνιες οι τροποποιήσεις των γονιδίων επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας. Έχει βρεθεί μικροδορυφορική αστάθεια (MicroSatellite Instability – MSI) σε πολύ μικρό ποσοστό (2.2%), υποδηλώνοντας ότι η MSI δεν συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης (386).

**p16, p15:** τα γονίδια, που κωδικοποιούν το p16 (CDKN2A) και το p15 (CDKN2B), χαρτογραφούνται στο χρωμόσωμα 9p21, μια θέση που συχνά εμπλέκεται σε ετερόζυγες και ομόζυγες απαλείψεις στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης όλων των τύπων. Οι τροποποιήσεις του 9p21 και p15/p16 ανήκουν στις λίγες γενετικές αλλαγές, που είναι εξίσου συχνές ή και πιο συχνές σε μη-διηθητικά χαμηλόβαθμα νεοπλάσματα παρά σε διηθητικά αναπτυσσόμενους / υψηλόβαθμους όγκους (387).

## **7. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΜΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ**

Οι προγνωστικοί παράγοντες για την υποτροπή και μετέπειτα εξέλιξη του καρκίνου διακρίνονται σε **κλασικούς προγνωστικούς παράγοντες** και σε **βιολογικούς-μοριακούς προγνωστικούς παράγοντες**.

### **7.1 ΚΛΑΣΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ & ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΗ-ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ**

#### ***Κλινικοί παράγοντες***

Δεν υπάρχουν ειδικά συμπτώματα από το ουροποιητικό σύστημα των μη διηθητικών όγκων ουροδόχου κύστης. Η μικροσκοπική ή μακροσκοπική αιματουρία είναι τα πιο

κοινά ευρήματα (127). Συμπτώματα ερεθισμού της ουροδόχου κύστης, όπως δυσουρία, έπειξη για ούρηση και συχνότητα απαντώνται αν ο όγκος εντοπίζεται στην περιοχή του τριγώνου, σε περίπτωση μεγάλου όγκου του νεοπλάσματος, λόγω μείωσης της ικανότητας της ουροδόχου ή σε περίπτωση καρκινώματος *in situ*. Μεγάλοι όγκοι (>5εκ) είναι σε αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και εξέλιξης (137). Κατά την πρώτη διάγνωση, 70% των όγκων είναι μη-διηθητικοί και μόλις 5-10% από αυτούς θα εξελιχθούν σε διηθητικούς όγκους (128). Παρόλα αυτά, περίπου οι μισοί όγκοι θα υποτροπιάζουν.

- **Μεγάλοι, πολυεστιακοί, με διάχυτη ανάπτυξη όγκοι** έχουν υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής (129).
- Σε περίπτωση **υποτροπιάζοντος όγκου**, η πιθανότητα μελλοντικής υποτροπής ανέρχεται **στο 80%**.
- Η **συνύπαρξη *in situ* καρκινώματος** έχει κακή πρόγνωση (130).

Καθώς η διάκριση μεταξύ μη διηθητικών και διηθητικών όγκων δεν είναι αξιόπιστα δυνατή βασιζόμενη μόνο στην κυστεοσκόπηση, συνήθως πραγματοποιείται η ολική διουρηθρική εκτομή οποιασδήποτε ορατής αλλοίωσης της ουροδόχου κύστης συμπεριλαμβανομένου των εν των βάθει μυικών στοιβάδων.

Η κανονική κυστεοσκοπική παρακολούθηση συστήνεται σε όλους τους ασθενείς με μη – διηθητικούς όγκους, ώστε να ανιχνευθεί ο υποτροπιάζων όγκος σε πρώιμο στάδιο. Ο κίνδυνος υποτροπής μειώνεται με κάθε φυσιολογική κυστεοσκόπηση και είναι μικρότερος από 10% στα 5 έτη και εξαιρετικά χαμηλός στα 10 έτη, αν όλες οι ενδιάμεσες κυστεοσκοπήσεις έχουν υπάρξει φυσιολογικές (387).

### ***Μορφολογικοί παράγοντες***

Ο **ιστολογικός βαθμός κακοηθείας** είναι ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας υποτροπής και εξέλιξης σε μη-διηθητικούς ουροθηλιακούς όγκους (131).

Το ουροθηλιακό θήλωμα έχει το χαμηλότερο κίνδυνο είτε υποτροπής, είτε εξέλιξης (426), ενώ το PUNLMP έχει έναν υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής (άνω του 35%) και έναν πολύ μικρό κίνδυνο εξέλιξης του σταδίου (132). Ασθενείς με θήλωμα και PUNLMP έχουν ουσιαστικά ένα φυσιολογικό ηλικιο-εξαρτώμενο προσδόκιμο ζωής. Τα μη-διηθητικά χαμηλόβαθμα καρκινώματα υποτροπιάζουν συχνά (άνω του 70%), αλλά μόνο έως 12% των ασθενών εξελίσσονται στο στάδιο (133).



Η πρόγνωση των μη-διηθητικών υψηλόβαθμων καρκινωμάτων είναι φανερά διαφορετική. Οι όγκοι συχνά **εξελίσσονται σε στάδιο** και η συχνότητα κατάληξης λόγω της νόσου μπορεί να φθάνει έως 65% (134).

Οι ασθενείς με **πολυεστιακούς όγκους** στην ουροδόχο κύστη, που περιλαμβάνουν άλλες περιοχές του ουροθηλιακού συστήματος (ουρητήρας, ουρήθρα, νεφρική πύελος), βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο υποτροπής, εξέλιξης ή θανάτου λόγω της νόσου (135).

Η παρουσία **δυσπλασίας και CIS** στο μη θηλώδες ουροθήλιο συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σε στάδιο και κατάληξη λόγω της νόσου. Το CIS είναι ένας ισχυρότερος δυσμενής παράγοντας (136).

## **7.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ – ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΗ-ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ**

Πολλές μελέτες έχουν αναλύσει την προγνωστική σημασία των μοριακών χαρακτηριστικών του μη διηθητικού καρκίνου της ουροδόχου κύστης (138). Συνολικά, δεν υπάρχει μοριακός δείκτης πλήρως εκτιμημένος, που να έχει ικανή προβλεπτική ισχύ, ώστε να έχει κλινική αξία σε αυτούς τους όγκους. Υπάρχουν έμμεσες αποδείξεις ότι σε μερικές μελέτες οι ουσιαστικές βιολογικές διαφορές μεταξύ μη διηθητικών (pTa) και διηθητικά αναπτυσσόμενων (pT1) νεοπλασιών δεν ελήφθησαν υπόψιν(99). Δεδομένου ότι ο κίνδυνος εξέλιξης είναι πολύ υψηλότερος σε όγκους pT1 παρά σε pTa και η συχνότητα των περισσότερων μοριακών αλλαγών είναι πολύ διαφορετική μεταξύ όγκων pTa και pT1, θα πρέπει να υποθεθεί ότι η μεταβλητότητα μεταξύ παρατηρητών στη διάκριση των όγκων pTa και pT1 μπορεί να επηρεάσει ιδιαίτερα τα αποτελέσματα (139). Μια συστηματική ανασκόπηση μεγάλων σειρών όγκων pT1 είχε ως αποτέλεσμα τη σταδιοποίηση προς τα κάτω προς το στάδιο pTa σε 25-34% των όγκων (140). Επομένως, το ποσοστό των καρκίνων pT1 ποικίλλει μεταξύ 20% και 70% σε διαδοχικές σειρές «επιφανειακών καρκίνων ουροδόχου κύστης».

### ***Κίνδυνος Υποτροπής***

Η μη διηθητική ουροθηλιακή νεοπλασία περιλαμβάνει συχνά μη ορατές επίπεδες νεοπλασματικές αλλοιώσεις επιπλέον σε έναν ορατά θηλώδη όγκο (141). Κατόπιν πλήρους εκτομής ενός όγκου, ο κίνδυνος υποτροπής καθορίζεται από το ποσό και τις βιολογικές ιδιότητες των νεοπλασματικών κυττάρων, που παραμένουν στην ουροδόχο κύστη. **Πολυκεντρικές νεοπλασματικές αλλοιώσεις** της ουροδόχου

κύστης συσχετίζονται κλωνικά σε περίπου 80-90% των περιπτώσεων (142). Μόνο σε αυτές τις περιπτώσεις τα μοριακά χαρακτηριστικά του εξαιρεθέντος όγκου μπορούν να είναι αντιπροσωπευτικά «ολόκληρης» της νόσου. Οι καλύτεροι υποψήφιοι για πρόβλεψη πρώιμης υποτροπής περιλαμβάνουν μοριακές αλλαγές, που σχετίζονται με **αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό** του όγκου ή με ένα βελτιωμένο δυναμικό για **πολυκεντρική επέκταση του όγκου**. Πράγματι, αρκετές μελέτες έδειξαν ότι ο ταχύς κυτταρικός πολλαπλασιασμός του όγκου, όπως αυτός εκτιμάται με **κυτταρομετρία ροής**, μιτωτικό δείκτη **PCNA** ή **δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67**, προβλέπει έναν αυξημένο κίνδυνο ή υποτροπή σε αυτούς τους όγκους (143). **Η έκφραση της κυτοκερατίνης 20 και οι μεταλλάξεις του FGFR** αποτελούν παραδείγματα δεικτών, που θα μπορούσαν να είναι αντιπροσωπευτικοί για έναν κλινικά διακριτό υπότυπο όγκου, χωρίς να έχουν άμεσο ρόλο στην ανάπτυξη της πρώιμης υποτροπής. Η **κυτοκερατίνη 20** εκφράζεται φυσιολογικά στα επιφανειακά και ανώτερα ενδιάμεσα ουροθηλιακά κύτταρα. Σε μια μελέτη 51 μη διηθητικών θηλωδών όγκων, κανένας από 10 όγκους με φυσιολογικό χρωστικό πρότυπο κυτοκερατίνης 20 δεν υποτροπίασε (144). Οι μεταλλάξεις του **FGFR3** έχουν πρόσφατα προσδιοριστεί ότι απαντώνται σε περισσότερα από 2/3 των μη διηθητικών χαμηλόβαθμων ουροθηλιακών καρκινωμάτων (121). Πρώιμες μελέτες προτείνουν ότι οι μεταλλάξεις συνδέονται με μειωμένο κίνδυνο υποτροπής. Άλλα μοριακά χαρακτηριστικά που προτάθηκαν για πρόβλεψη υποτροπής όγκου σε μη διηθητικούς θηλώδεις χαμηλόβαθμους όγκους περιλαμβάνουν την **υπερέκφραση της proline – directed protein kinase F**, **υπερμεθυλίωση του p14<sup>ARF</sup> promoter**, **υπερέκφραση της clusterin**, **έκφραση του αποτυπωμένου γονιδίου H19** και **μειωμένη έκφραση της e-cadherin** (145).

Η πρώιμη υποτροπή όγκου θα μπορούσε επίσης να προβλεφθεί με την **ανάλυση κυττάρων από τα ούρα** κατόπιν χειρουργικής εξαίρεσης όλων των ορατών όγκων. Μελέτες που χρησιμοποιούν **φθορίζοντα υβριδισμό in situ (FISH)** έχουν πράγματι δείξει μια ισχυρή προγνωστική σημαντικότητα γενετικά ανώμαλων κυττάρων για πρώιμη υποτροπή σε κυστεοσκοπικά και κυτταρολογικά φυσιολογικές ουροδόχους κύστες (146).

### ***Κίνδυνος Εξέλιξης***

Τα δεδομένα ως προς την προγνωστική σημασία των γενετικών αλλαγών για εξέλιξη των μη διηθητικών χαμηλόβαθμων νεοπλασιών γενικά ελλείπουν, λόγω της

σπανιότητας της εξέλιξης σε αυτούς τους ασθενείς. Θεωρητικά, οι μοριακές αλλαγές, που μειώνουν τη γενετική σταθερότητα αναμένονται να επιφυλάσσουν πτωχή πρόγνωση σε αυτούς του ασθενείς, επειδή πολλαπλές επιπρόσθετες μοριακές αλλαγές θα μπορούσαν να οδηγήσουν μια μη διηθητική χαμηλόβαθμη νεοπλασία σε διηθητικό καρκίνο. Πράγματι, οι **αλλαγές του p53**, γνωστές ότι μειώνουν τη γενωμική σταθερότητα, έχουν προταθεί ως προγνωστικός δείκτης σε όγκους pTa (147).

Οι μοριακές παράμετροι, που προτάθηκαν ως δείκτες ιδιαίτερα υψηλού κινδύνου εξέλιξης περιλαμβάνουν τη **συσσώρευση p53** (148), **μειωμένη έκφραση thrombospondin** (149), **απώλεια έκφρασης p63** (150), **απώλεια έκφρασης e-cadherin** (151), **ανώμαλη έκφραση του pRb** (963), **LOH στο χρωμόσωμα 16p13** (152), καθώς και **τροποποιήσεις των χρωμοσωμάτων 3p, 4p, 5p, 5q, 6q, 10q και 18q** (153).

## **8. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΥ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ**

Οι πιο χρήσιμοι προγνωστικοί παράγοντες για την υποτροπή και μετέπειτα εξέλιξη του καρκίνου διακρίνονται σε **κλασικούς προγνωστικούς παράγοντες** και σε **βιολογικούς-μοριακούς προγνωστικούς παράγοντες**.

### **8.1 ΚΛΑΣΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ**

Οι κλασικοί προγνωστικοί παράγοντες περιλαμβάνουν α) κλινικούς και β) μορφολογικούς παράγοντες.

#### ***Κλινικοί παράγοντες***

Η ατομική πρόγνωση των διηθητικών όγκων ουροδόχου κύστης δεν μπορεί να προβλεφθεί επαρκώς, στηριζόμενη μόνο σε κλινικούς παράγοντες. Η **πολυεστιακότητα** του όγκου, το **μέγεθος** του όγκου >3εκ. και η **συνύπαρξη καρκινώματος in situ** έχουν αναγνωριστεί ως παράγοντες κινδύνου για υποτροπή και εξέλιξη (75). Η **επέκταση του όγκου πέραν της ουροδόχου κύστης** στην αμφίχειρη

εξέταση, **διήθηση του ουρητηρικού στομίου, λεμφαδενικές μεταστάσεις** και **παρουσία συστηματικής διασποράς (στάδιο)** συσχετίζονται με πτωχή πρόγνωση.

### **Μορφολογικοί παράγοντες**

Οι μορφολογικοί προγνωστικοί παράγοντες περιλαμβάνουν βαθμό, στάδιο και ειδικά μορφολογικά χαρακτηριστικά.

Ο **ιστολογικός βαθμός** έχει προγνωστική σημασία για όγκους pT1. Καθώς οι περισσότεροι pT2 και υψηλότερου σταδίου όγκοι είναι υψηλόβαθμοι, η αξία του βαθμού ως ανεξάρτητου προγνωστικού δείκτη παραμένει αμφισβητήσιμη.

Το **βάθος της διήθησης**, είναι ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας. Για τον περαιτέρω διαχωρισμό των όγκων pT1, έχει προταθεί ως βάση το επίπεδο της διήθησης στο χόριο (υποεπιθηλιακός συνδετικός ιστός). Οι όγκοι, που διηθούν πέραν της βλεννογόνιας μυϊκής στοιβάδας, έχουν υψηλότερο ρυθμό εξέλιξης (77). Εναλλακτικά, μπορούν να διαχωριστούν οι ασθενείς σύμφωνα με το επίπεδο διήθησης στο χόριο, που μετριέται με μικρομετρικό φακό. Το **στάδιο T1** ανευρίσκεται συχνά σε **υψηλόβαθμους όγκους** και οι σταδίου T1 όγκοι, που είναι υψηλόβαθμοι έχουν ποσοστό υποτροπής 80%, εξέλιξης 60% και 10-ετούς επιβίωσης 35%.

Το **καρκίνωμα in situ** είναι πιο συχνό με αυξανόμενο βαθμό και στάδιο του συσχετιζόμενου όγκου. Το καρκίνωμα in situ με μικροδιήθηση φαίνεται να αυξάνει την πιθανότητα επιθετικής συμπεριφοράς (42).

Η **λεμφική και/ή αγγειακή διήθηση** συσχετίζεται με μειωμένη επιβίωση σε όγκους pT1 (44% 5-ετής επιβίωση). Επειδή η αγγειακή διήθηση συχνά υπερδιαγιγνώσκεται, η προγνωστική σημασία αυτού του παράγοντα παραμένει αβέβαιη (78).

**Ειδικοί υπότυποι ή ιστολογικές ποικιλίες** ουροθηλιακού καρκινώματος, όπως μικροκυτταρικό καρκίνωμα, σαρκωματοειδές καρκίνωμα, ποικιλία τύπου φωλεών, μικροθηλώδες καρκίνωμα και λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα, μπορούν να είναι κλινικά σχετικοί με την πρόγνωση του ασθενούς.

Τα **εγχειρητικά όρια κατόπιν κυστεκτομής** είναι επίσης σημαντικός δείκτης πρόγνωσης.

Ως προς το **πρότυπο ανάπτυξης του όγκου** έχει αναφερθεί ότι ένα απωθητικού τύπου όριο / μέτωπο διήθησης είχε ευνοϊκότερη πρόγνωση σε σχέση με πλοκαμοειδή διήθηση (79).

## 8.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ-ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ

Παρά τις αξιοσημείωτες διαφορές στην πρόγνωση μεταξύ των καρκίνων pT1 και pT2-4, αυτοί οι όγκοι ομοιάζουν πολύ σε γενετικό επίπεδο (62). Θα ήταν γι' αυτό αναμενόμενο, ότι παρόμοιες γενετικές τροποποιήσεις θα μπορούσαν να συσχετίζονται με την πρόγνωση σε όλα τα στάδια. Έχει αναλυθεί πλήθος μοριακών χαρακτηριστικών για πιθανό προγνωστικό ρόλο σε διηθητικά αναπτυσσόμενους καρκίνους ουροδόχου κύστης.(80). Παρ' όλη την εκτεταμένη έρευνα, δεν υπάρχει μέχρι στιγμής μοριακή παράμετρος με ικανή προγνωστική ισχύ, ώστε να έχει αποδεχτεί κλινική αξία σε αυτούς τους όγκους.

**TP53:** Πρώιμες μελέτες πρότειναν μια ισχυρή προγνωστική σημασία της ανοσοϊστοχημικά ανιχνευόμενης πυρηνικής έκφρασης της πρωτεΐνης TP53 τόσο σε pT1 όσο και σε pT2-4 καρκίνους (81), εύρημα που δεν επιβεβαιώθηκε μεταγενέστερα. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση βρήκε ασθενή αλλά σημαντική συσχέτιση μεταξύ θετικότητας στην TP53 και πτωχής πρόγνωσης.(82) Έχει βρεθεί ανεξάρτητος προγνωστικός ρόλος των αλλαγών TP53 περίπου στο 1/3 των μελετών, που εξέτασαν καρκίνους pT2-4. Οι αλλαγές TP53 μπορεί να είναι κλινικά πιο σημαντικές σε καρκίνο pT1, δεδομένου ότι άνω του 50% αυτών των μελετών βρήκαν ανεξάρτητη προγνωστική ισχύ, αν και θεωρείται ότι υπερσταδιοποιημένοι όγκοι pTa, TP53-αρνητικοί, συνέβαλαν στα αποτελέσματα αυτά (83).

**Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου (p21, p27):** τα p21 και p27 αναστέλλουν ή διεγείρουν κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες. Οι Stein και συν. (84) σε μια σειρά διηθητικών καρκίνων, που αντιμετωπίστηκαν με κυστεκτομή, έδειξαν ότι όγκοι TP53+/p21- συσχετίστηκαν με χειρότερη πρόγνωση συγκριτικά με εκείνους με φαινότυπο TP53+/p21+. Παρόμοιο αποτέλεσμα απέδωσαν οι Qureshi και συν. (85) σε σειρά μνο-διηθητικών μη-μεταστατικών όγκων, που αντιμετωπίστηκαν με ριζική ακτινοθεραπεία. Η έκφραση της πρωτεΐνης p27 ήταν ένας εντυπωσιακός προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με κυστεκτομή και επικουρική χημειοθεραπεία (86). Παρατηρήθηκε ένα 60% μακροπρόθεσμης επιβίωσης σε ασθενείς με όγκους p27+ συγκριτικά με 0% ασθενών με όγκους p27-,

ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά επιβίωσης μεταξύ p27 θετικών και αρνητικών όγκων σε ασθενείς, που δεν έλαβαν επικουρική χημειοθεραπεία.

*Απενεργοποίηση* του γονιδίου του **ρετινοβλαστώματος (RB)** εμφανίζεται στο 30-80% των καρκίνων ουροδόχου κύστης, πιο συχνά ως συνέπεια ετερόζυγων 13q απαλοιοφών σε συνδυασμό με μετάλλαξη του υπολειπόμενου αλληλίου ( 87). Έχει αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ τροποποιημένης έκφρασης Rb και μειωμένης επιβίωσης ασθενών σε μυο-διηθητικούς καρκίνους και με εξέλιξη όγκου σε καρκινώματα pT1(75).

Η υπερέκφραση του **HER2** απαντάται σε 30-70% των διηθητικών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης. Έχει υποτεθεί ότι η έκφραση της Her2 είναι προγνωστικός δείκτης επιβίωσης ασθενών ή μεταστατικής ανάπτυξης (88). Πρόσφατα, οι Gandour-Edwards και συν. περιέγραψαν μια ενδιαφέρουσα σχέση μεταξύ έκφρασης Her2 και βελτιωμένης επιβίωσης κατόπιν χημειοθεραπείας βασιζόμενης σε paclitaxel (89).

Η συν-επαύξηση και συν-έκφραση της παρακείμενης **τοποϊσομεράσης 2A (TOP2A)** μπορεί επίσης να παίζει ρόλο στην τροποποιημένη χημειοευαισθησία των HER2 ενισχυμένων όγκων (90).

Ο **EGFR** υπερεκφράζεται σε 30-50% των διηθητικών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης (91). Πρώιμες μελέτες συσχέτισαν την έκφραση του EGFR με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής όγκου και εξέλιξης, καθώς και μειωμένης επιβίωσης (92). Έχει αναφερθεί η έκφραση του EGFR ως ανεξάρτητου προγνωστικού δείκτη εξέλιξης και επιβίωσης (93).

### **Δείκτες απόπτωσης**

Η απόπτωση είναι κριτικά σημαντική στην ανάπτυξη, εξέλιξη και μετάσταση του ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης. Οι τροποποιήσεις στην απόπτωση (προ- και αντιαποπτωτικά μονοπάτια σηματοδότησης) είναι σημαντικές στην ογκογένεση, επειδή επιτρέπουν στα κακοήθη κύτταρα να επιβιώνουν, να αντιστέκονται σε ποικιλία stress και να πολλαπλασιάζονται.

Η **Caspase-3** είναι μια πρωτεάση, που προάγει την απόπτωση. Σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Karam et al έδειξαν ότι οι μισοί (49%) των 226 ασθενών που θεραπεύτηκαν με ριζική κυστεκτομή έδειξαν απώλεια της έκφρασης της Caspase-3. Η

τροποποιημένη έκφραση της caspase-3 συσχετίστηκε με παθολογοανατομικό στάδιο, υψηλότερο grade και παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και προέβλεψε ανεξάρτητα την καρκινο-ειδική θνησιμότητα κατόπιν ριζικής κυστεκτομής (390).

Η *survivin* είναι ένα μέλος της οικογένειας αναστολέων της απόπτωσης και η υπερέκφρασή της αναστέλλει εξωτερικά και εσωτερικά μονοπάτια απόπτωσης, τουλάχιστον μερικώς, μέσω αναστολής της καθοδικής δραστηριότητας της caspase-3. Έχει φανεί ότι η υπερέκφρασή της σχετίζεται με την παρουσία καρκίνου, υψηλότερο grade του όγκου και προχωρημένο παθολογοανατομικό στάδιο, όπως επίσης υποτροπή της νόσου και θνησιμότητα (391).

Η υπερέκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης *Bcl2* βρέθηκε σε 32% των δειγμάτων ριζικής κυστεκτομής και συσχετίστηκε με προχωρημένο παθολογοανατομικό στάδιο, υποτροπή νόσου και καρκινο-ειδική θνησιμότητα. [Η αυξημένη παραγωγή της πρωτεΐνης Bcl-2 συσχετίζεται με μειωμένη ογκο-ειδική επιβίωση σε καρκινώματα ουροδόχου κύστης T1G3. Όταν συνδυάζεται με την p53, η Bcl-2 έχει δείχτει ότι είναι καλό προγνωστικό εργαλείο στην πρόβλεψη έκβασης σε ασθενείς με μη-μυο-διηθητικό καρκίνο ουροδόχου κύστης (390).

Η οικογένεια *JAK* περιλαμβάνει μια ομάδα τυροσινוקινασών, που ενεργοποιούνται από διάφορες κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες, και επηρεάζουν διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια. Η ενεργοποίηση του JAK οδηγεί στην ενεργοποίηση των STATs, που ελέγχουν τη μεταγραφή αρκετών γονιδίων, μεταξύ των οποίων και αυτό που κωδικοποιεί τη Bcl-2. Σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, η υπερέκφραση του *STAT3* μπορεί να προβλέψει αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και μειωμένη επιβίωση για ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστης (319).

Τα *c-Fos* και *c-Jun* λειτουργούν ως καθοδικοί διενεργοποιητές αρκετών καταρρακτών μεταγωγής σήματος ώστε να ελεγχθεί η μεταγραφή των γονιδίων, που εμπλέκονται στη διαφοροποίηση, απόπτωση και πολλαπλασιασμό. Ενώ η αυξημένη έκφραση Jun έχει συσχετιστεί με αυξημένο στάδιο όγκου και πτωχούς ρυθμούς, άνευ υποτροπής και ολικής, επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστης, ασθενείς με έκφραση της c-Fos είναι πιο πιθανό να έχουν υψηλότερο βαθμό όγκου (392).

**Αγγειογένεση:** Μελέτες έχουν προτείνει τη μικροαγγειακή πυκνότητα ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα στο μυο-διηθητικό καρκίνο της ουροδόχου κύστης (94), εύρημα που δεν επιβεβαιώθηκε σε κατοπινή μελέτη (95).

Ως προς τον **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)**, διαφορετικές σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει μια συσχέτιση είτε του VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D με αυξημένο παθολογοανατομικό στάδιο και βαθμό, εμπλοκή λεμφαδένων και μειωμένη επιβίωση. Το 2010, μια μελέτη που περιέλαβε 204 ασθενείς κατόπιν ριζικής κυστεκτομής, ανέφερε ότι ο συνδυασμός των συσχετιζόμενων με αγγειογένεση βιοδεικτών του VEGF συμπεριλαμβανομένου, basic fibroblast growth factor και Thrombospondin – 1 συσχετίζονται με καθιερωμένα κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά βιολογικά επιθετικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων. Αν και τα επίπεδα έκφρασης του VEGF είχαν μη ανεξάρτητη προγνωστική αξία σε αυτή τη μελέτη, τα αυξημένα επίπεδα VEGF μπορούν να έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, συνεπώς πιθανές βελτιωμένες ανταποκρίσεις σε χημειοθεραπευτικές αγωγές (388).

Η υπερέκφραση του **HIF-1α** έχει επιδειχτεί σε ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστης με πτωχή πρόγνωση. Η προγνωστική του αξία είναι ακόμη πιο σημαντική όταν συνδυάζεται με την p53. Ο HIF-1α έχει επίσης φανεί ότι προβλέπει υποτροπή και επιβίωση σε μη-μυο-διηθητικούς όγκους (317).

Η **thrombospondin (TSP-1)** είναι ένας αναστολέας της αγγειογένεσης, που ενισχύεται μέσω αλληλεπίδρασης με την πρωτεΐνη TP53. Έχει αναφερθεί ότι μειωμένη έκφραση της TSP-1 συσχετίστηκε σημαντικά με υποτροπή νόσου και μειωμένη ολική επιβίωση (96).

Επιπλέον, τα **διαμεσολαβούμενα από βιταμίνη A / ρετινοειδή** μονοπάτια σηματοδότησης έχουν συνδεθεί με την ανάπτυξη ουροθηλιακών κακοηθειών. Παραδείγματος χάρη, τα επίπεδα του RAR mRNA τροποποιούνται στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και έχουν ανιχνευθεί **μεταλλάξεις** σε υψηλά διατηρούμενες περιοχές του **γονιδίου RARα** σε αθανатоποιημένες ουροθηλιακές κυτταρικές σειρές, HUC-BC, προτείνοντας ότι η σηματοδότηση των ρετινοειδών μπορεί να είναι συχνός στόχος απενεργοποίησης της καρκινογένεσης της ουροδόχου κύστης. Εν τούτοις, η έλλειψη αξιόπιστων αντισωμάτων έχει καταστήσει δύσκολο το χαρακτηρισμό της



έκφρασης RAR και RXR σε πρωτεϊνικό επίπεδο σε ανθρώπινο ιστό. Επιπρόσθετα, η παρατήρηση ότι η ανεπάρκεια της βιταμίνης A σε τροφικά επάγει την κερατινοποιούμενη πλακώδη μεταπλασία, έναν ύποπτο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη πλακώδους καρκινώματος σε ανθρώπους, υποθέτει περαιτέρω ότι αυτό το μονοπάτι είναι σημαντικό για την ανάπτυξη ουροθηλιακών όγκων (389).

### **8.3 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ**

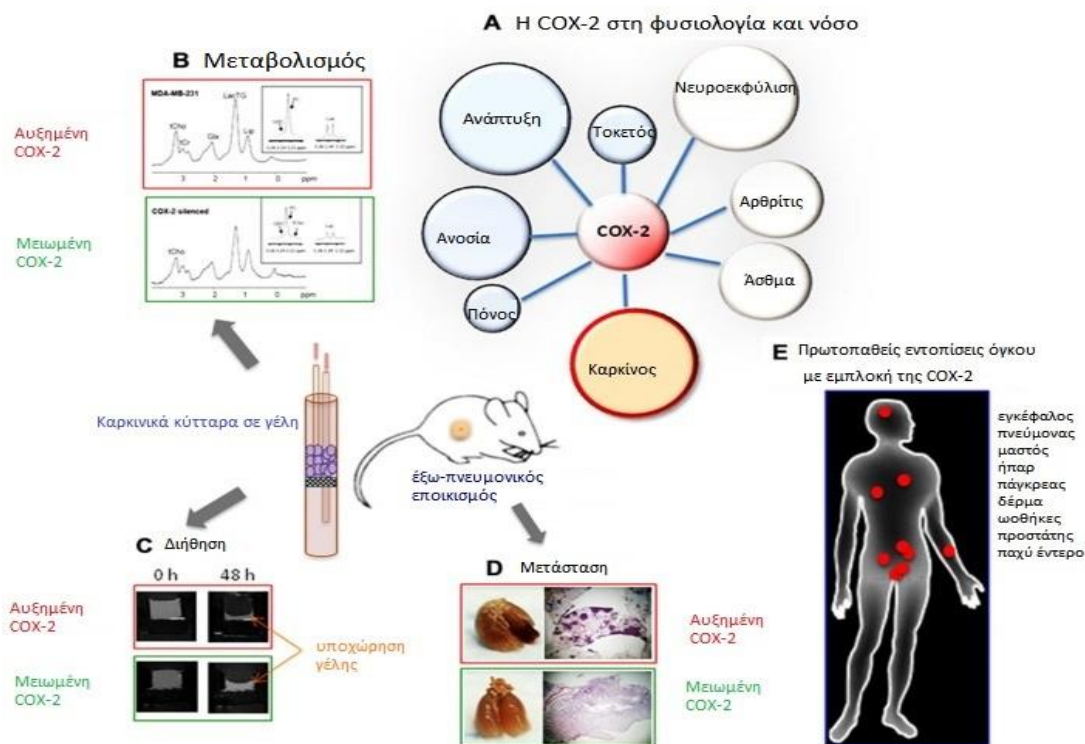
Ανάμεσα στους γνωστούς διαγνωστικούς και προγνωστικούς δείκτες του καρκίνου της ουροδόχου, ο **RUNX3** είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον. Οι Kim και συν έδειξαν ότι η μεθυλίωση της αλληλουχίας του εκκινήτη RUNX3 συμβάλλει σε έναν κατά 100 φορές αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Η μεθυλίωση RUNX3 φαίνεται επίσης να συσχετίζεται θετικά με το στάδιο υποτροπής και εξέλιξης καρκίνου της ουροδόχου, πράγμα που προτείνει ότι ο RUNX3, όχι μόνο αναστέλλει την εκκίνηση του καρκίνου, αλλά επίσης καταστέλλει την επιθετικότητα των πρωτοπαθών καρκίνων ουροδόχου κύστης (393). Η **υπερμεθυλίωση του εκκινήτη των CpG νησίδων** συσχετίζεται ισχυρά με ανάπτυξη του όγκου, στάδιο, υποτροπή, εξέλιξη και επιβίωση στο μεταβατικού τύπου καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης. Η **επιγενετική σίγαση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων** είναι ενδιαφέρουσα από κλινικής άποψης επειδή είναι δυνατό να αντιστραφούν επιγενετικές αλλαγές και να αποκατασταθεί η γονιδιακή λειτουργία σε ένα κύτταρο. Θεραπεία με αναστολείς DNA μεθυλάσης ή δεακετυλάσης ιστόνης μπορούν να αποκαταστήσουν τη δραστηριότητα των λανθανόντων γονιδίων και να μειώσουν το ρυθμό αύξησης των καρκινικών κυττάρων με κληρονομικό τρόπο (319).

**Προφίλ γονιδιακής έκφρασης:** Πρόσφατα, αρκετοί μελετητές (Sanchez-Carbayo et al.), χρησιμοποιώντας μικροσυστοιχίες cDNA, τεκμηρίωσαν μια γενετική υπογραφή, που είναι χαρακτηριστική επιθετικής κλινικής συμπεριφοράς στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Άλλοι ερευνητές επιχειρούν να χαρακτηρίσουν γονιδιακή υπογραφή ανταπόκρισης σε χημειοθεραπευτικά σχήματα (394).

## 9. ΚΥΚΛΟΟΞΥΓΕΝΑΣΗ-2 (COX-2)

### 9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κυκλοοξυγενάση (COX) είναι το ένζυμο – κλειδί στην μετατροπή του αραχιδονικού οξέος στις προσταγλανδίνες (PGs). Έχουν αναγνωρισθεί δύο ισότυποι του ενζύμου, η COX-1 και η COX-2. Η αναγνώριση της COX-2 ως ενζύμου, που καταλύει την οξείδωση των λιπαρών οξέων, ως περιοριστικό βήμα ρυθμού από τη φυσιολογική κυτταρική ανάπτυξη διαμέσου υπερπλασίας στη νεοπλασία, εγκαινίασε ένα ολόκληρο νέο πεδίο στην έρευνα του καρκίνου. Ο ρόλος της COX-2 στην καρκινογένεση περιγράφηκε πρόσφατα. Πειραματικά δεδομένα *in vitro*, *in vivo* καθώς και κλινικές παρατηρήσεις επιβεβαιώνουν τώρα ότι οι επιλεκτικοί αναστολείς COX-2 μειώνουν την παραγωγή προσταγλανδίνης και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, όπως κολορθικού, δέρματος και άλλων νεοπλασιών (314). Η COX-2 σχετίζεται με το σχηματισμό καρκινογόνων, προώθηση του όγκου, αναστολή της απόπτωσης, αγγειογένεση και μετάσταση (Εικόνα3).



Εικόνα 3. Ρόλος της COX-2 σε φυσιολογικές καταστάσεις και στη νεοπλασία

Αν και οι ακριβείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ του μεταβολισμού των λιπιδίων και της εξέλιξης του όγκου μένει να αποσαφηνιστούν, φαίνεται να παρέχεται η επιστημονική βάση για την επιτυχή πρόληψη και φαρμακευτική θεραπεία του καρκίνου, χωρίς τις σοβαρές παρενέργειες, που συνήθως σχετίζονται με τη θεραπεία του καρκίνου. Η ασπιρίνη, φάρμακο που χρησιμοποιείται ως καθιερωμένο αντιφλεγμονώδες – αντιπυρετικό, ασκεί τη δράση της αναστέλλοντας την COX και την παραγωγή των PGs, ενώ τα Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη (ΜΣΑΦ) παρουσιάζουν δράση παρόμοια με εκείνη της ασπιρίνης. Οι *in vitro* μελέτες κατέδειξαν τον πιθανό ρόλο των αναστολέων της COX (Coxibs), ως μοναδικό παράγοντα αποτροπής της εμφάνισης των όγκων (Εικ.4).

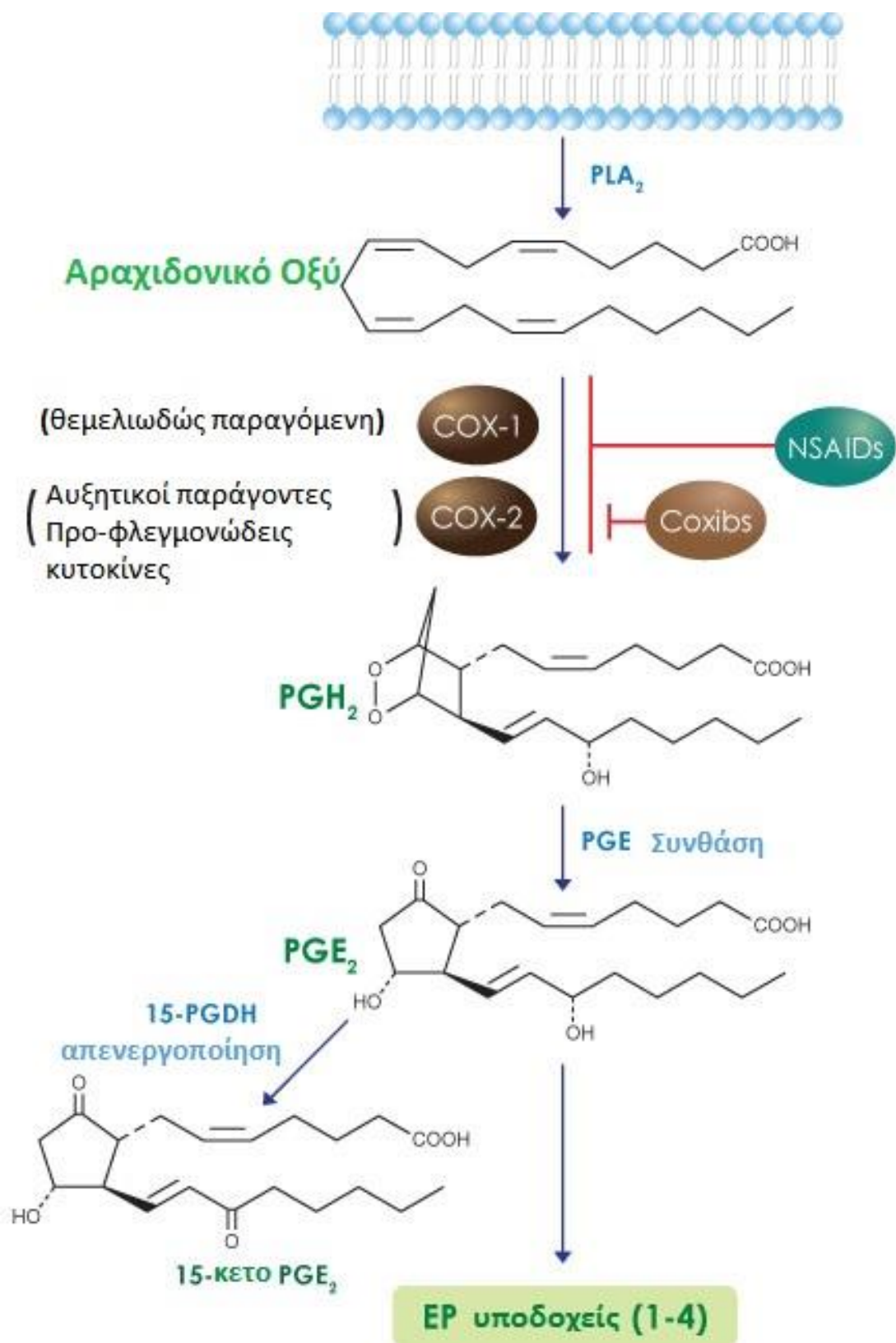


Εικ.4 Κρυσταλλογραφική δομή της COX-2 σε σύμπλεγμα με εκλεκτικό αναστολέα COX-2

Επιπλέον, μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες παρείχαν ενδείξεις ότι οι αναστολείς της COX μπορούσαν να έχουν ευνοϊκή επίδραση στη μείωση της ανάπτυξης και της αύξησης των κακοηθειών, όπως του κολορθικού καρκίνου, με θεραπεία με αναστολείς της COX (324).

## 9.2 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΝΔΙΝΩΝ

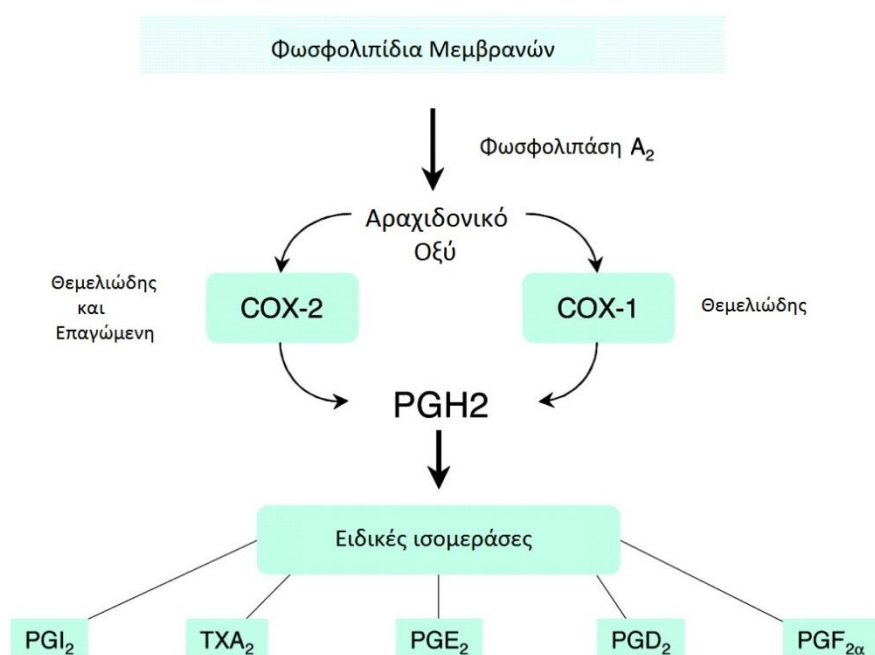
Οι προσταγλανδίνες (PGs) είναι από τα πιο άφθονα μέλη της οικογένειας εικοσανοειδών, των προερχόμενων από αραχιδονικό οξύ αυτακοειδών. Το αραχιδονικό οξύ, ένα 20-ανθρακικό, 4- διπλού δεσμού λιπαρό οξύ, λαμβάνεται είτε από την τροφή, είτε, σε μικρότερο βαθμό, συντίθεται από λινολεϊκό οξύ, ένα 18-ανθρακικό, 2- διπλού δεσμού διαίτης λιπαρό οξύ. Φυσιολογικά, το αραχιδονικό οξύ αποθηκεύεται εστεροποιημένο στο σκελετό γλυκερόλης μεμβρανικών φωσφολιπιδίων. Σε αυτή τη μορφή δεν μπορεί να μεταβολιστεί σε PGs. Κατόπιν υδρόλυσης από τη φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, που είναι ένα από τα περιοριστικά βήματα ρυθμού για τη σύνθεση PG, το αραχιδονικό οξύ προσφέρεται ως υπόστρωμα για ενζυμική οξείδωση από αρκετά διαφορετικά ενζυμικά συστήματα, όπως των κυκλοξυγενασών, λιποξυγενασών και κυτοχρώματος P450s (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Το αραχιδονικό οξύ αποθηκεύεται εστεροποιημένο στο σκελετό γλυκερόλης μεμβρανικών φωσφολιπιδίων και, μέσω υδρόλυσης από την PLA<sub>2</sub>, μετατρέπεται σε PGs.

Έτσι η σύνθεση των προσταγλανδινών ρυθμίζεται σε αρκετά επίπεδα συμπεριλαμβανομένων της αφθονίας του υποστρώματος και της διαθεσιμότητας του επιπέδου έκφρασης των COX (397).

Το αραχιδονικό οξύ απελευθερώνεται από τα φωσφολιπίδια των μεμβρανών με τη βοήθεια της φωσφολιπάσης A<sub>2</sub>. Η COX, δρώντας ως οξυγενάση, καταλύει την είσοδο του οξυγόνου στο αραχιδονικό οξύ με αποτέλεσμα την παραγωγή του ασταθούς ενδιάμεσου PGG<sub>2</sub>, το οποίο στη συνέχεια με τη δράση της COX ως υπεροξειδάσης, θα μετατραπεί στην PGH<sub>2</sub>. Από την PGH<sub>2</sub> με την βοήθεια ειδικών ισομερασών προκύπτουν οι προσταγλανδίνες (PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PDF<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) και οι θρομβοξάνες (154) (Εικόνα 6).



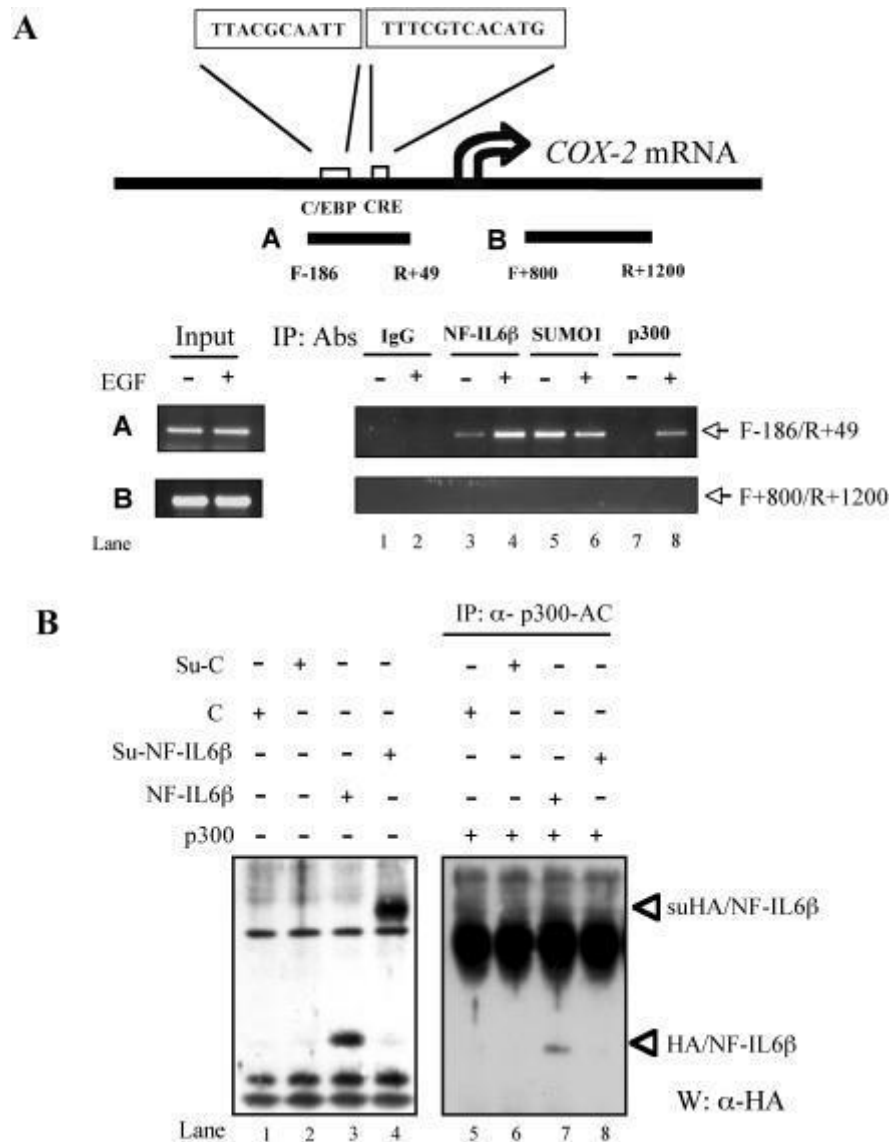
Εικόνα 6. Μεταβολική οδός αραχιδονικού οξέος

Σήμερα αναγνωρίζονται 2 ισότυποι της COX, που ονομάζονται COX-1 και COX-2 (314). Πιο πρόσφατα, μια τρίτη ισομορφή, η COX-3, ταυτοποιήθηκε ως ποικιλία ματίσματος της COX-1. Η COX-3 μπορεί να παίζει ρόλο στον πυρετό και στις διεργασίες του πόνου (324).

Η COX-1 παράγεται ενδογενώς σε όλους σχεδόν τους ιστούς και καταλύει την

παραγωγή PGs, υπεύθυνων για την φυσιολογική λειτουργία των ιστών, όπως είναι η προστασία του γαστρικού βλεννογόνου, η ρύθμιση της αιματικής ροής στους νεφρούς, η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, ο πόνος, ο πυρετός, κ.α. (155). Αντίθετα, η COX-2 δεν παράγεται ενδογενώς στους ιστούς αλλά μόνο κατ' επίκληση, υπό την επίδραση μιτογόνων και φλεγμονωδών ερεθισμάτων. Στα θηλαστικά, φυσιολογικά, η COX-2 ανιχνεύεται μόνο στην πυκνή κηλίδα του νεφρού, στους όρχεις και στον εγκέφαλο (156).

Το γονίδιο της COX-1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 9 και θεωρείται διαχειριστικό γονίδιο, ενώ το γονίδιο της COX-2 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1 και θεωρείται γονίδιο πρωτογενούς ανταπόκρισης (157). Τα στοιχεία που συνηγορούν υπέρ του χαρακτηρισμού του COX-2 ως γονιδίου πρωτογενούς ανταπόκρισης είναι ότι στο 5' άκρο του διαθέτει TATA box, 30 βάσεις πριν το σημείο έναρξης της μεταγραφής (κάτι που δεν υπάρχει στο COX-1) καθώς και ρυθμιστικές περιοχές, όπως είναι η περιοχή ανταπόκρισης στο cAMP (cAMP response element ή CRE), στην IL-6 (IL-6 response element) ή στα γλυκοκορτικοειδή (158) (Εικ.7).



Εικ.7 Ρυθμιστικές περιοχές του γονιδίου COX-2

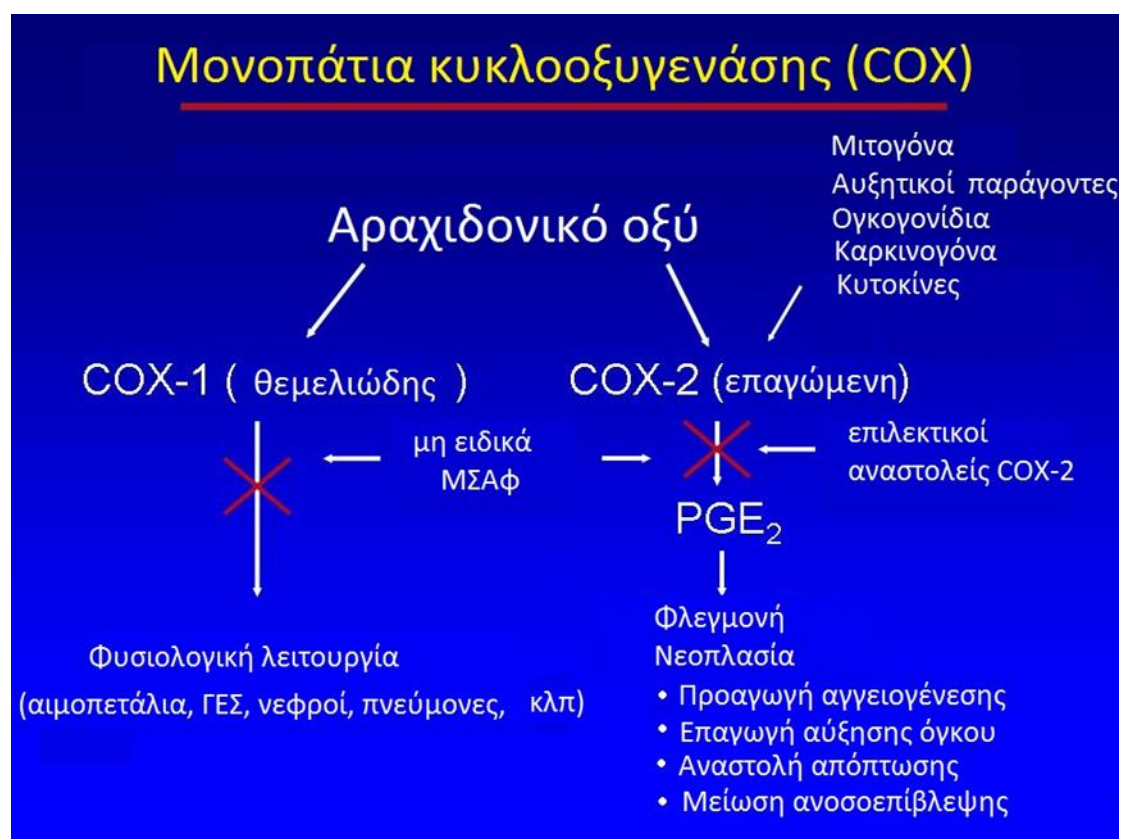
Ως προς την δομή, τα δυο ένζυμα είναι παρόμοια. Η μόνη ουσιαστική διαφορά τους είναι ότι το αμινοξύ της COX-1 στη θέση 523 είναι η ισολευκίνη αντί της βαλίνης που έχει η COX-2, πράγμα που μεταβάλλει το μέγεθος και το σχήμα της θέσης πρόσδεσης του ΜΣΑΦ και αποτελεί τη βάση για την ανάπτυξη των εκλεκτικών COX-2 αναστολέων (159).

### 9.3 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ COX-2

Σύμφωνα με τις μελέτες των τελευταίων χρόνων, η COX-2 παρουσιάζει αυξημένη έκφραση τόσο σε προκαρκινωματώδεις όσο και σε καρκινωματώδεις ιστούς. Η αυξημένη αυτή έκφραση μπορεί να είναι αποτέλεσμα δύο παραγόντων: της αυξημένης μεταγραφής του γονιδίου COX-2 και της αυξημένης σταθερότητας mRNA



(160). Τα ερεθίσματα που συμβάλλουν σε αυξημένη μεταγραφή μπορεί να είναι ογκογονίδια (*HER2/neu*, *v-src*, *v-Ha-ras*, *Wnt1*), αυξητικοί παράγοντες (π.χ. EGF, PDGF, TGFβ), κυτταροκίνες (π.χ. IL-1, TNFα), χολικά οξέα και υπερϊώδης ακτινοβολία B, ή ακόμα και χημειοθεραπευτικά φάρμακα, όπως οι ταξάνες (161). Τα ενδοκυττάρια μονοπάτια μέσω των οποίων αυξάνεται η μεταγραφή περιλαμβάνουν την πρωτεϊνική κινάση C (PKC), τη c-Jun-N τελική κινάση (JNK), τις πρωτεϊνικές κινάσες που ενεργοποιούνται από μιτογόνα (οδός Ras/Raf/MAPK), το p38, την πρωτεϊνική κινάση A (PKA) κ.α. (162). Έτσι, για παράδειγμα, οι ταξάνες προάγουν την έκφραση της COX-2 μέσω της PKC ή των MAPKs. Ανάλογα με το ερέθισμα και τον τύπο του κυττάρου οι μεταγραφικοί παράγοντες που δρουν ρυθμιστικά στο γονίδιο COX-2 μπορεί να είναι η πρωτεΐνη ενεργοποίησης 1 (AP-1), οι πυρηνικοί παράγοντες IL-6 και κB (NF IL-6 και NF – κB), ο πυρηνικός υποδοχέας των T – κυττάρων (NFAT) κ.α. (163) (Εικ.8).

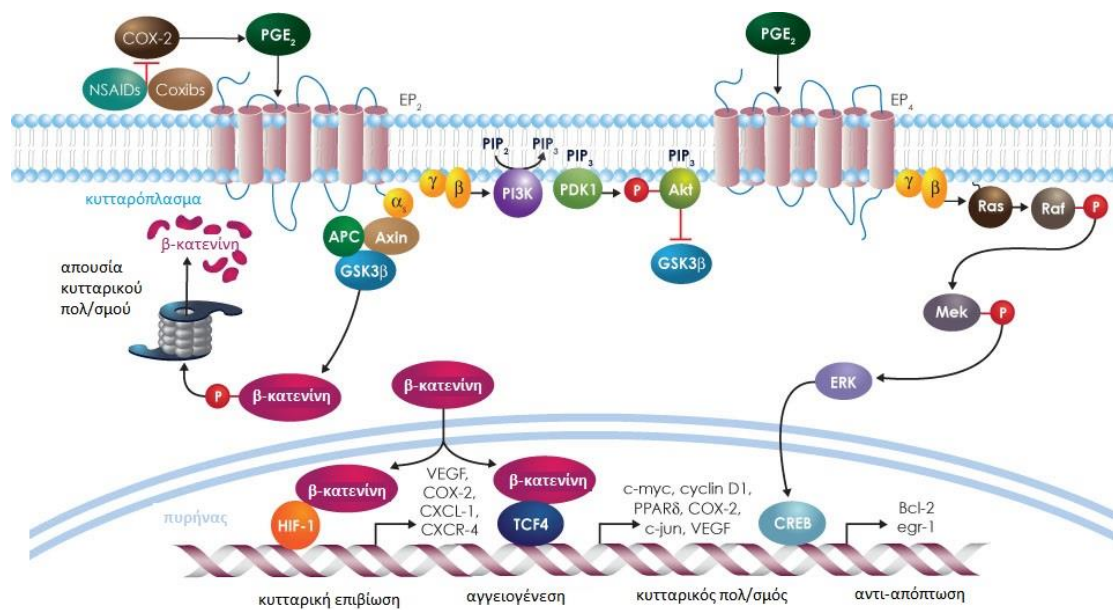


Εικόνα 8. Σχέση COX-2 και αυξητικών παραγόντων

Έχει αναγνωριστεί ότι η δράση της πρωτεϊνικής κινάσης B (Akt/PKB) εμπλέκεται στην επαγόμενη K-Ras έκφραση της COX-2 και η σταθεροποίηση του mRNA της COX-2 εξαρτάται εν μέρει από την ενεργοποίηση της Akt/PKB. Σε μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο η COX-2 ρυθμίζεται από προ-φλεγμονώδεις παράγοντες,

κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες, ογκογονίδια και υποκινητές όγκου. Αυτές οι οδοί οδηγούν στην ενεργοποίηση ρυθμιστικών παραγόντων, που τελικά προσδένονται στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου COX-2. Αυτή η περιοχή περιλαμβάνει αρκετά στοιχεία απόκρισης μεταγραφικών παραγόντων, του NF-κB και των στοιχείων απόκρισης AP1 συμπεριλαμβανομένων. Η ρύθμιση της έκφρασης της COX-2 διασφαλίζεται επίσης από την παρουσία πολλαπλών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του mRNA της COX-2, που είναι υπεύθυνες για την ταχεία αποδόμησή του. Φάνηκε ότι η έκφραση της COX-2 καταστέλλεται από στεροειδή και αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες (IL4, IL10, IL13) (324).

Αποτέλεσμα της αυξημένης έκφρασης της COX-2 είναι η παραγωγή PGs, που ασκούν τη δράση τους τοπικά, τόσο αυτοκρινώς όσο και παρακρινώς, μέσω μεμβρανικών υποδοχέων. Οι υποδοχείς αυτοί είναι συνδεδεμένοι με πρωτεΐνες G και προκαλούν μεταβολές στα επίπεδα του ενδοκυττάριου cAMP και του Ca<sup>2+</sup> (164). Πρόσφατα ωστόσο έρευνες έδειξαν ότι οι PGs δρουν και μέσω πυρηνικών υποδοχέων, των υποδοχέων που προκαλούν πολλαπλασιασμό των υπεροξυσωμάτων, Peroxisome Proliferator –activated Receptors (PPARs). Πρόκειται για οικογένεια υποδοχέων στην οποία έχουν αναγνωριστεί τουλάχιστον 3 μέλη (PPAR α, γ και δ), που όταν ενεργοποιηθούν από τους κατάλληλους συνδέτες ασκούν ρύθμιση στην μεταγραφή γονιδίων (165) (Εικ 9).



Εικ.9 Η απορρύθμιση του μονοπατιού σηματοδότησης APC/β-catenin/Wnt επηρεάζει την κυτταρική επιβίωση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αγγειογένεση

#### 9.4 COX-2 ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Η αυξημένη έκφραση της COX-2 έχει συσχετιστεί με διάφορους καρκίνους όπως το αδενοκαρκίνωμα του εντέρου, ο καρκίνος του μαστού, του προστάτη, του πνεύμονα και άλλους. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η τακτική λήψη ΜΣΑΦ ελαττώνει την επίπτωση του καρκίνου στο παχύ έντερο (166).

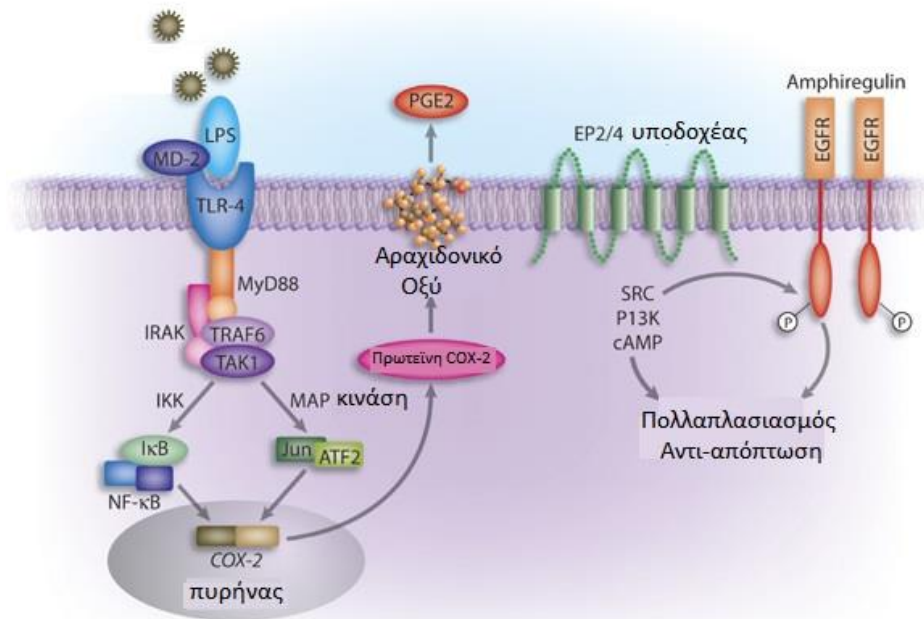
Η σχέση της COX-2 με την καρκινογένεση επιβεβαιώθηκε από πειράματα σε ζώα, όπου, για παράδειγμα, η υπερέκφραση της σε μαζικούς αδένες πολύτοκων ποντικών οδήγησε στην τοπική ανάπτυξη υπερπλασίας, δυσπλασίας και τελικά καρκίνου. Σε APC ποντίκια, ένα ζωικό μοντέλο της οικογενούς πολυποδίασης, η αδρανοποίηση του γονιδίου COX-2 μείωσε σημαντικά τον αριθμό και το μέγεθος των πολυπόδων. Επίσης η έλλειψη της COX-2 προστατεύει από την ανάπτυξη άλλων όγκων εκτός γαστρεντερικού συστήματος. Έτσι, ποντίκια στα οποία δεν εκφράζεται το γονίδιο COX-2 (COX-2 knock out mice) ανέπτυξαν, υπό την επίδραση ακτινοβολίας, 75% λιγότερα θηλώματα στο δέρμα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (167). Οι κλινικές μελέτες σε ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση κατέληξαν στο ότι η συστηματική αγωγή με τον COX-2 αναστολέα celecoxib μειώνει τον αριθμό και το μέγεθος των πολυπόδων στο έντερο (168). Επομένως, η αυξημένη έκφραση της COX-2 φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση και την καθιστά ένα πιθανό στόχο για την πρόληψη και τη θεραπεία του καρκίνου.

Οι πιθανοί *μηχανισμοί* με τους οποίους η COX-2 συμβάλλει στην *καρκινογένεση* είναι:

##### *a. Προαγωγή της κυτταρικής αύξησης από τις προσταγλανδίνες*

Η PGE<sub>2</sub>, το κυριότερο προϊόν της COX-2 και της COX-1, προάγει την κυτταρική αύξηση τόσο σε φυσιολογικά όσο και σε καρκινικά κύτταρα. Έχει παρατηρηθεί ότι διάφορες προσταγλανδίνες, συμπεριλαμβανομένης της PGE<sub>2</sub>, αυξάνουν τη σύνθεση του DNA και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στα ηπατοκύτταρα ζώων, παίζοντας πιθανώς σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση του ήπατος μετά από τραυματισμό (169). Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί ότι η PGE<sub>2</sub> μπορεί να προκαλέσει καρκινογένεση σε διάφορους τύπους κυττάρων, μεταξύ των οποίων και τα κύτταρα του μαστού (170). Οι Liu και συν περιέγραψαν πρώτοι την ογκογένεση, που επάγεται από την υπερέκφραση της COX-2. Στη μελέτη τους, το γονίδιο ποντικού της COX-2 (P<sub>tg</sub>s2)

εισήχθη κατά το ρεύμα ενός ιϊκού προαγωγέα όγκου μαστού ποντικού. Ως συνέπεια, τα ζώα εμφάνισαν υπερπλασία και καρκίνωμα του μαζικού αδένου με συσχέτιση ισχυρής έκφρασης της COX-2 σε επιθηλιακά κύτταρα του μαζικού αδένου και αυξημένων επιπέδων προσταγλανδίνης E2 (PGE2) (324) (Εικ.10)



Εικ.10 COX-2 και PGE2

Επίσης, φαίνεται ότι η PGE2 παίζει διαμεσολαβητικό ρόλο κατά τη δράση αυξητικών παραγόντων και ογκογονιδίων (171). Ειδικά στον καρκίνο του μαστού, που είναι ορμονοεξαρτώμενος, η PGs έχει βρεθεί ότι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, έμμεσα, δια της αυξημένης σύνθεσης οιστρογόνων. Πρόσφατα βρέθηκε ότι η PG ενισχύει τη δράση της αρωματάσης, ενζύμου που καταλύει την τελευταία αντίδραση της οδού βιοσύνθεσης των οιστρογόνων, που είναι η μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα (172). Επιπλέον, διαγονιδιακές σειρές ποντικών με υπερέκφραση της COX-2 μέσω του υποκινητή της κερατίνης 5 σε βασικά επιδερμικά κύτταρα παρουσιάζουν ένα προ-νεοπλασματικό δερματικό φαινότυπο, ο οποίος εξαρτάται από το επίπεδο της έκφρασης της COX-2 και της συσσώρευσης προσταγλανδίνης, που διαμεσολαβείται από την COX-2. Τα διαγονιδιακά ζώα δεν ανέπτυξαν δερματικούς όγκους αυθόρμητα, αλλά μόνο κατόπιν εφαρμογής εισαγωγικής δόσης του καρκινογόνου 7,12 – διμεθυλβενζ[α]ανθρακένιο (DMBA). Η

μακρόχρονη θεραπεία με τον ογκοπροαγωγέα phorbol12 – myristate 13 – acetate (PMA, έναν ενεργοποιητή της πρωτεϊνικής κινάσης C), ενώ χρειαζόταν για την ογκογένεση σε ποντίκια άγριου τύπου, δεν ήταν απαραίτητη για τα διαγονιδιακά. Τα ανωτέρω δεδομένα υποδεικνύουν ότι η υπερέκφραση της COX-2 είναι ανεπαρκής για την επαγωγή του όγκου (324).

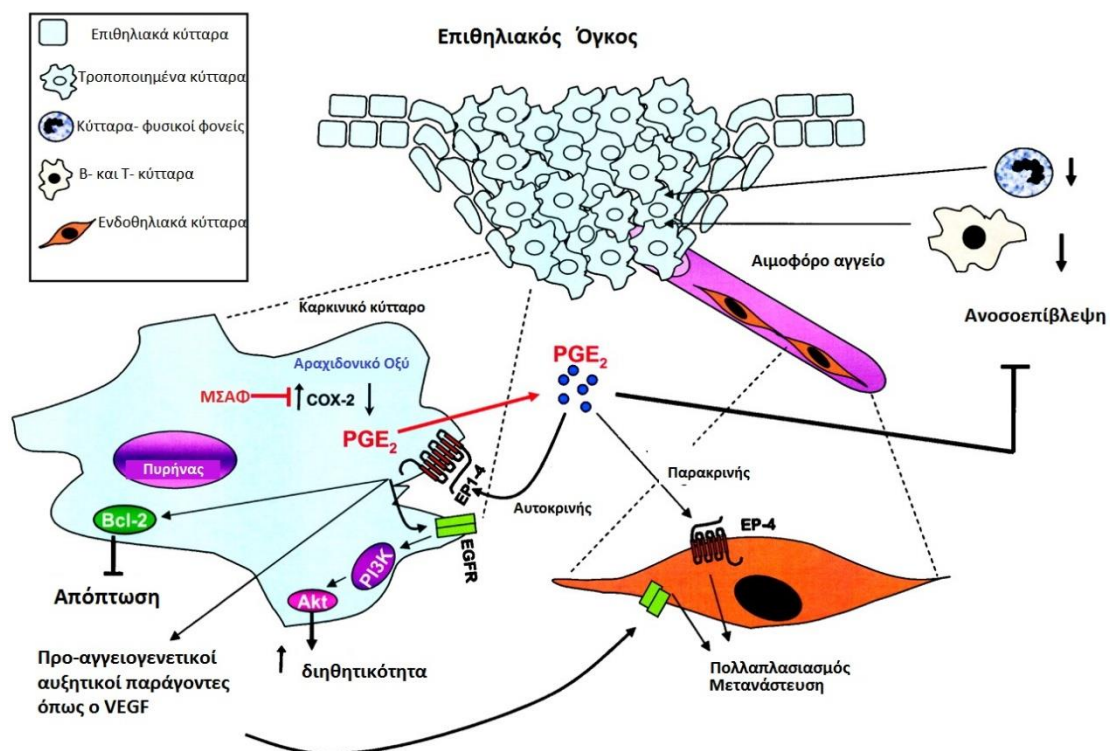
### ***β. Παραγωγή μεταλλαξιόγνων ουσιών***

Κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος από τη συνθάση της προσταγλανδίνης Η μεταβολίζονται αρκετές ουσίες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενεργών μεταβολιτών, που έχουν μεταλλαξιγόνο και πιθανή καρκινογόνο δράση. Η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της COX μπορεί να μετατρέψει προκαρκινογόνα σε καρκινογόνα και να υποκινήσει το σχηματισμό όγκου. Σημαντικά ποσά ξενοβιοτικών μπορούν να συνοξειδωθούν σε μιτογόνα με την υπεροξειδάση της COX. Στο ήπαρ, αυτές οι οξειδωτικές αντιδράσεις καταλύονται πρωτίστως από το κυτόχρωμα P-450s, προλαμβάνοντας έτσι το σχηματισμό μιτογόνων. Εν τούτοις, το παχύ έντερο έχει χαμηλές συγκεντρώσεις του P450s και άλλων μονοξυγενασών, οδηγώντας στη συν-οξείδωση σημαντικών ποσών ξενοβιοτικών σε μιτογόνα με την υπεροξειδάση της COX. Αυτή η δραστηριότητα θα μπορούσε να είναι σχετική σε άλλα όργανα, που εκτίθενται σε καρκινογόνα καπνού, όπως πνεύμονας, στοματική κοιλότητα και ουροδόχος κύστη. Η ενεργοποίηση των προκαρκινογόνων, όπως το βενζοπυρένιο, ένας πολυκυκλικός υδρογονάνθρακας ανευρισκόμενος σε καπνό και υπερψημένα τρόφιμα σε ενδοκυττάρια ηλεκτρόφιλα, (από την COX) φάνηκε να συσχετίζεται με τη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης. Ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος από μόνος του παράγει μιτογόνα. Μερικά παραπροϊόντα της οξείδωσης του αραχιδονικού οξέος, όπως η μαλονδιαλδεύδη, που συνδέεται με τα δεοξυνουκλεοτίδια και προκαλεί υποκαταστάσεις βάσεων ή μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης. Η υπερέκφραση της COX-2 οδηγεί σε υπερπαραγωγή μαλονδιαλδεύδης (173, 324).

### ***γ. Συμβολή στην αγγειογένεση***

Η αγγειογένεση αποτελεί σημαντικό στάδιο στην καρκινογένεση, δεδομένου ότι για να αυξηθεί ένας όγκος πέρα από τα 2-3 mm απαιτείται η τροφοδοσία του από νεοσχηματιζόμενα αγγεία. Η COX-2 φαίνεται ότι επάγει την παραγωγή αγγειογόνων παραγόντων, όπως είναι οι VEGF, FGF, TGF-β1 και η iNO συνθετάση,

συμβάλλοντας στη νεοαγγείωση, δράση που αναστέλλεται από τους εκλεκτικούς COX-2 αναστολείς (174, 176). Επιπρόσθετα, πειράματα σε ζωϊκά μοντέλα οικογενούς πολυποδίασης έδειξαν ότι, όταν τα ζώα υποστούν γενετική τροποποίηση, ώστε να μην εκφράζουν είτε την COX-2, είτε τον υποδοχέα EP2 της PGE<sub>2</sub>, παρουσίασαν όχι μόνο ελάττωση στον αριθμό και το μέγεθος των πολυπόδων, αλλά και πλήρη αναστολή σύνθεσης των αγγειογενετικών παραγόντων VEGF και αγγειοποιητίνης-2 (175). Τα προαγγειογόνα αποτελέσματα της COX-2 διαμεσολαβούνται πρωτίστως από προϊόντα του αραχιδονικού μεταβολισμού, όπως τα TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> και PGE<sub>2</sub>. Οι καθοδικές προαγγειογόνες δράσεις αυτών των εικοσανοειδών προϊόντων περιλαμβάνουν: 1) παραγωγή του VEGF 2) προαγωγή του αγγειακού δικτύου, μετανάστευσης και σχηματισμού σωλήνων 3) ενισχυμένη επιβίωση ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω έκφρασης Bcl-2 και σηματοδότησης Akt 4) επαγωγή μεταλλοπρωτεϊνών χώρου – θεμέλιας ουσίας 5) ενεργοποίηση της διαμεσολαβούμενης από τον EGFR αγγειογένεσης και 6) καταστολή της παραγωγής ιντερλευκίνης 12 (IL12) (Εικ 11).

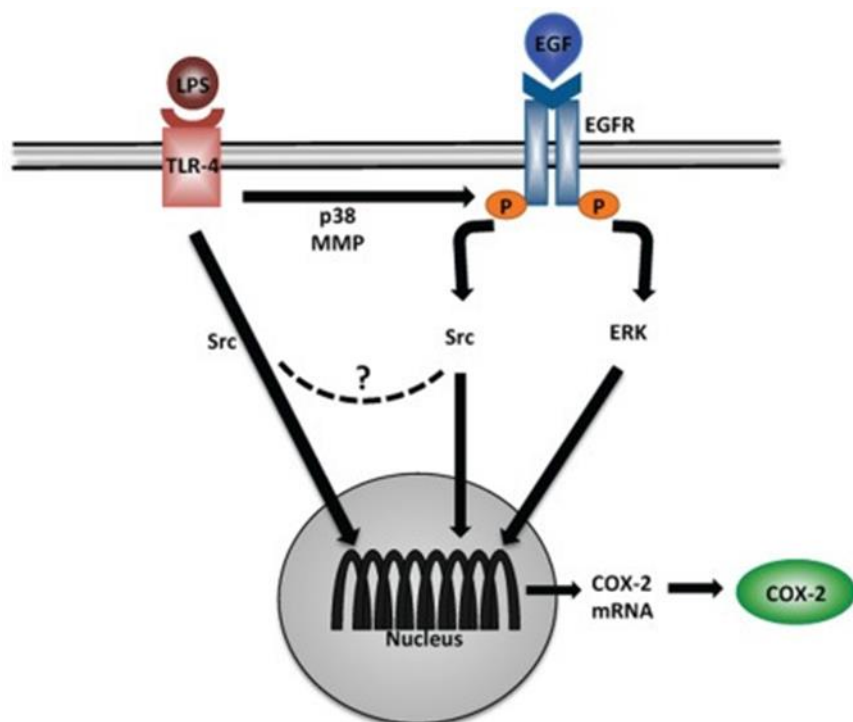


Εικ.11 COX-2 και αγγειογένεση

Σε πρόσφατη μελέτη επιπέδων PGs και μικροαγγειακής πυκνότητας σε ασθενείς με γαστρικό αδενοκαρκίνωμα, η COX-2 υπερεκφράστηκε σε όγκους με αυξημένα επίπεδα PGE<sub>2</sub> και υψηλή μικροαγγειακή πυκνότητα (398).

#### δ. Συμβολή στη διήθηση και μετάσταση

Η αποδόμηση του στρώματος και η κυτταρική κινητικότητα είναι απαραίτητες διεργασίες για τη διήθηση και μετάσταση. Η έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών του στρώματος (MMP) συσχετίζεται με τη διήθηση της βασικής μεμβράνης και του στρώματος από τα κύτταρα του όγκου, διήθηση των αιμοφόρων αγγείων και μετάσταση. Μελετήθηκαν τα αποτελέσματα της COX-2 στη μετάσταση ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του κόλου (Caco-2), τα οποία απέκτησαν αυξημένη διηθητικότητα, λόγω ενεργοποίησης της MMP-2. Επιπλέον, οι Fernandes και συν έχουν περιγράψει ότι αναστολή της COX-2 στην ανθρώπινη σειρά κυττάρων όγκου προστάτη DU-145 είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη έκφραση MMP-2 και MMP-9 (Εικ 12).



Εικ.12 Η παραγωγή COX-2 παρακινείται από τη διενεργοποίηση του EGFR μέσω δράσης μεταλλοπρωτεϊνών (MMP)

Προκειμένου να καθοριστεί μια σχέση μεταξύ τροποποιήσεων και ιδιοτήτων προσκόλλησης των καρκινικών κυττάρων και υπερέκφρασης της COX-2, μελετήθηκαν εντερικά επιθηλιακά κύτταρα αρουραίου (RIE), τα οποία εξέφρασαν αυξημένα επίπεδα COX-2 πρωτεΐνης και παρουσίασαν αυξημένη προσκόλληση σε πρωτεΐνες του εξωκυτταρίου χώρου. Τα RIE-S κύτταρα (διαμολυσμένα με COX-2) ήταν ανθεκτικά στην επαγόμενη απόπτωση, είχαν αυξημένη έκφραση BCL-2 και

μειωμένα επίπεδα υποδοχέα TGFβ2, αποδεικνύοντας ενίσχυση του ογκογόνου δυναμικού των κυττάρων αυτών. Η έκφραση της COX-2 ευνοεί επίσης την προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Συμβατά με αυτά τα *in vitro* ευρήματα, οι επιλεκτικοί αναστολείς της COX-2 έχουν χρησιμοποιηθεί για να αναστείλουν τη μετάσταση σε ζώα (399).

Η υπερέκφραση της COX-2 προκαλεί αυξημένη παραγωγή και ενεργοποίηση πρωτεασών, όπως της μεταλλοπρωτεϊνάσης -2 και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (uPA), ενζύμων που βοηθούν στη διάσπαση της βασικής μεμβράνης, τη διηθητική ανάπτυξη και μετάσταση του καρκίνου (176).

#### ***ε. Αναστολή της απόπτωσης***

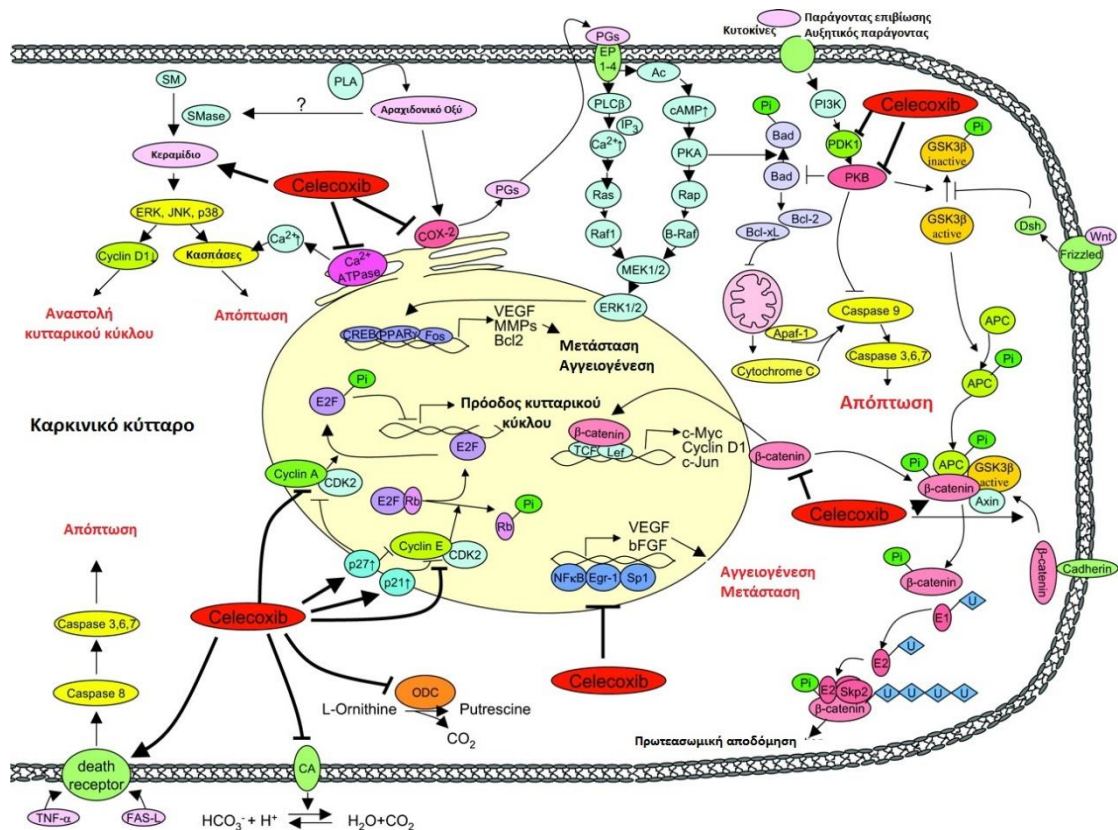
Η απόπτωση, ή αλλιώς προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, εμφανίζεται μειωμένη σε προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις. Η υπερέκφραση της COX-2 στα κύτταρα του όγκου φάνηκε να αυξάνει το πρωτο-ογκογονίδιο Bcl-2 και να οδηγεί σε αναστολή της απόπτωσης. Το Bcl-2 αντιπροσωπεύει σημαντικό μέλος της νέας και αυξανόμενης τάξης των ογκοπρωτεϊνών, που αναστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο. Ποικίλες πειραματικές μελέτες έχουν δείξει θετική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της COX-2 και αναστολής της απόπτωσης. Εντερικά επιθηλιακά κύτταρα αρουραίων γενετικά τροποποιημένων ώστε να υπερεκφράζουν την COX-2, φάνηκαν να έχουν αυξημένες ποσότητες της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 και ήταν ανθεκτικά σε απόπτωση παρακινούμενη από βουτυρικό. Ωστόσο, θεραπεία με το ΜΣΑΦ σουλφιδική σουλινδάκη ήταν ικανή να αντιστρέψει αυτή την ανθεκτικότητα στην απόπτωση. Τα κύτταρα που δεν ήταν διαμολυσμένα να εκφράζουν την COX-2 δεν παρουσίασαν αυτές τις ιδιότητες, υποδεικνύοντας ότι φαινοτυπικές αλλαγές, όπως η υπερέκφραση της COX-2 ενίσχυσαν το ογκογόνο δυναμικό των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων με τη δημιουργία αντίστασης στην απόπτωση.

Έχει επίσης εκτιμηθεί ο ρόλος της PGE2 στην απόπτωση σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου. Θεραπεία με PGE2 των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων παχέος εντέρου οδηγεί σε αυξημένη κλωνογένεση των κυττάρων HCA-7, αλλά όχι των κυττάρων HCT-116. Επιπλέον, η PGE2 αναστέλλει την απόπτωση, που προκαλείται από τον SC-58125 και επάγει την έκφραση του Bcl-2, αλλά δεν επηρεάζει την έκφραση των Bcl-x ή Bax στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου (HCA-7). Το γονίδιο APC είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο, το προϊόν του οποίου (η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη APC) συχνά χάνεται ή απεργοποιείται



στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Η HCT-29, μια καρκινική κυτταρική σειρά παχέος εντέρου εκφράζει μη ολοκληρωμένη πρωτεΐνη APC και υψηλά επίπεδα COX-2. Κατόπιν διαμόλυνσης με το φυσιολογικό γονίδιο APC, τα κύτταρα εξέφρασαν αυξημένη απόπτωση και μειωμένη COX-2. Τα ευρήματα αυτά είναι συμβατά με την προτεινόμενη «αυτοπροωθούμενη» αλληλεπίδραση μεταξύ APC και COX-2, όπου μειωμένη δραστηριότητα της APC πρωτεΐνης αύξησε τη βιοσύνθεση της COX-2 (324).

Επίσης, η ενδοκυττάρια συσσώρευση αραχιδονικού οξέος έχει βρεθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα του κεραμιδίου, ενός αποτελεσματικού προαγωγού της απόπτωσης (177). Θεωρείται επομένως ότι η ελάττωση των επιπέδων του αραχιδονικού οξέος στο κύτταρο, λόγω της αυξημένης μετατροπής του, μέσω της υπερεκφραζόμενης COX-2 σε PGs, οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης του κεραμιδίου και αναστολή της απόπτωσης (178). Επίσης, η υπερέκφραση της COX-2 και του προϊόντος της PGE2 φαίνεται ότι σχετίζεται με την αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης bcl2, γνωστού αποπτωτικού παράγοντα (179) (Εικ13).



Εικ 13. COX-2 και απόπτωση

#### **στ. Ανοσολογική καταστολή**

Η COX-2, μέσω των προϊόντων της και ειδικά της PGE2, καταστέλλει την παραγωγή των κυτταροκινών, μειώνει την παραγωγή των B- και T- κυττάρων και την κυτταροτοξική δράση των NK κυττάρων, συμβάλλοντας στην καταστολή της λειτουργίας του ανοσολογικού μηχανισμού του ασθενούς (176). Με αυτόν τον τρόπο είναι ευκολότερη η διαφυγή των καρκινικών κυττάρων από την επιτήρηση που ασκεί το ανοσολογικό σύστημα του οργανισμού, με αποτέλεσμα την επιβίωσή τους και την ογκογένεση. Ειδικότερα, η έκφραση της IL10 αυξάνεται ενώ των IL12, TNF και IL1 μειώνεται σε πειραματικά μοντέλα καρκίνου και αυτές οι αλλαγές έχουν συσχετιστεί με αυξημένη σύνθεση της PGE2 και της δράσης COX-2. Τα μακροφάγα ενεργοποιούνται και παράγουν PGE2, η οποία με τη σειρά της αναστέλλει την παραγωγή ρυθμιστικών κυτοκινών, την B- και T- κυτταρική ανάπτυξη και μειώνει την κυτταροτοξική δράση των NK κυττάρων. Στο μοντέλο Lewis καρκινώματος πνεύμονα ποντικού, η αναστολή της COX-2 οδήγησε σε εκσεσημασμένη λεμφοκυτταρική διήθηση του όγκου καθώς και μειωμένη ανάπτυξη του όγκου. Θεραπεία των ποντικών με αντι-PGE2 μονοκλωνικό αντίσωμα επιβεβαίωσε την μείωση του όγκου, που παρατηρήθηκε σε ποντίκια με όγκους, που θεραπεύτηκαν με αναστολείς COX-2. Η αναστολή της COX-2 συνοδεύτηκε από σημαντική μείωση σε IL10 και επακόλουθη αποθήκευση IL-12. Καθώς ο μεταβολίτης της COX-2, PGE2, είναι ένας δυνητικός επαγωγέας της IL-10, συνάχθηκε το συμπέρασμα ότι η αναστολή της COX-2 οδήγησε σε αντιογκογόνες αντιδράσεις μέσω καθοδικής παραγωγής αυτής της δύναμει ανοσοκατασταλτικής κυτοκίνης (324).

ζ. Η υπερπαραγωγή της COX-2 έχει σχετιστεί με την **αυξημένη παραγωγή του παράγοντα MDR-1** (ή γλυκοπρωτεΐνη P), μιας αντλίας εξόδου χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, οδηγώντας στην ανάπτυξη αντίστασης στα φάρμακα αυτά και κατ' επέκταση στη μείωση αποτελεσματικότητας της θεραπείας (180).

### **9.5 ΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΟΞΥΓΕΝΑΣΩΝ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

Το 1971 ο Vane ανέφερε για πρώτη φορά ότι η ασπιρίνη, η ινδομεθακίνη και άλλα φάρμακα που χρησιμοποιούνται ως αντιφλεγμονώδη – αντιπυρετικά αναστέλλουν την βιοσύνθεση των προσταγλανδινών (181) και μόλις τη δεκαετία του 1980 βρέθηκε ότι τα ΜΣΑΦ αναστέλλουν μόνο τη δράση της COX ως κυκλοοξυγενάσης και όχι τη

δράση της ως υπεροξειδάσης. Μετά την ανακάλυψη της COX-2 και του ρόλου της στη φλεγμονή ξεκίνησε πλέον η παραγωγή φαρμάκων με εκλεκτική COX-2 ανασταλτική δράση. Τα φάρμακα αυτά, ενώ διατηρούν την αντιφλεγμονώδη δράση των ΜΣΑΦ, δεν παρουσιάζουν τις ανεπιθύμητες ενέργειές τους διότι δεν αναστέλλουν την COX-1 και επομένως δεν μειώνουν την παραγωγή των προσταγλανδινών που ασκούν προστατευτική δράση στους ιστούς όπως π.χ. στον γαστρικό βλεννογόνο.

Οι πρώτες ενδείξεις σχετικά με την καταστολή της ογκογένεσης από τα ΜΣΑΦ προήλθαν αφενός μεν από επιδημιολογικές μελέτες, έδειξαν ότι ο σχετικός κίνδυνος ανάδειξης καρκίνου στο κόλον είναι μειωμένος στα άτομα που λαμβάνουν ασπιρίνη ή άλλο ΜΣΑΦ (166), αφετέρου από τα πειράματα σε ζωικά μοντέλα καρκίνου του κόλου στα οποία αποδείχθηκε ότι τα ΜΣΑΦ μειώνουν τον καρκίνο του κόλου, στα οποία αποδείχθηκε ότι τα ΜΣΑΦ μειώνουν το μέγεθος του όγκου (176).

Η πρώτη κλινική δοκιμή σχετικά με τον ρόλο των ΜΣΑΦ στην προφύλαξη από τον καρκίνο ήταν μια διπλή τυφλή μελέτη σε ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση, που έδειξε μείωση στο μέσο αριθμό των πολυπόδων (28%) στα άτομα που ελάμβαναν το celecoxib σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, αποτέλεσμα που ήταν αντιστρεπτό μετά τη διακοπή του φαρμάκου. Αυτά τα στοιχεία οδήγησαν τον Αμερικανικό Οργανισμό Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) στην έγκριση του celecoxib ως βοηθητικού φαρμάκου στην αντιμετώπιση της οικογενούς πολυποδίασης (183).

Τα ΜΣΑΦ θεωρείται ότι οφείλουν, κατά ένα μέρος τουλάχιστον, την προστατευτική τους δράση έναντι του καρκίνου στην αναστολή της COX-2, η οποία φαίνεται ότι προάγει την καρκινογένεση μέσω των μηχανισμών που προαναφέραμε. Ωστόσο, νεώτερες μελέτες υποστηρίζουν ότι υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί μέσω των οποίων προάγεται η απόπτωση από τα ΜΣΑΦ, ανεξάρτητοι από την αναστολή της COX-2 (184). Σε αυτό τον μηχανισμό να εμπλέκεται η ικανότητα των ΜΣΑΦ να μειώνουν την έκφραση του NF-kB, μεταγραφικού παράγοντα με αντιαποπτωτική δράση, η ικανότητα να επάγουν την απόπτωση μέσω της άμεσης σύνδεσής τους με τους πυρηνικούς υποδοχείς PPAR $\gamma$  και  $\delta$  (185).

Υπολογίζεται ότι αρκετές τυχαίοποιημένες μελέτες σε εξέλιξη διερευνούν την πιθανή ικανότητα των ΜΣΑΦ και των εκλεκτικών COX-2 αναστολέων να εμποδίζουν τα αρχικά στάδια ανάπτυξης καρκίνου στο κόλον. Επίσης, άλλες δοκιμές μελετούν την αποτελεσματικότητα των εκλεκτικών COX-2 αναστολέων στις προκαρκινωματώδεις αλλοιώσεις του στόματος (λευκοπλακία), οισοφάγου (οισοφάγος Barret) και

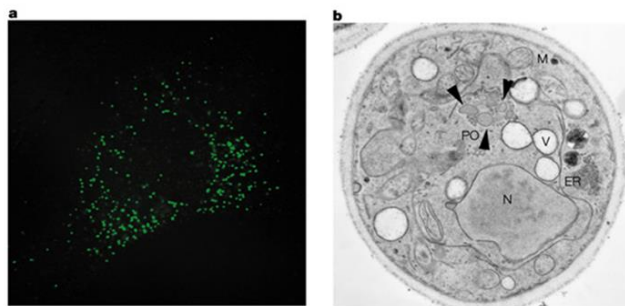
δέρματος (ακτινική κεράτωση) (185).

Εκτός όμως από την προφύλαξη, οι εκλεκτικοί COX-2 αναστολείς πιστεύεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στη θεραπεία του καρκίνου. Έτσι, σήμερα μελετάται η συγχορήγηση των φαρμάκων αυτών με χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία και η αποτελεσματικότητά τους διερευνάται εντατικά σε ασθενείς με καρκίνο του κόλου, πνεύμονα, οισοφάγου, μαστού και τραχήλου της μήτρας (186). Η συγχορήγηση των ΜΣΑΦ με τα χημειοθεραπευτικά πιθανόν να στηρίζεται σε διάφορες παρατηρήσεις όπως το ότι οι ταξάνες, γνωστά χημειοθεραπευτικά φάρμακα, επάγουν την υπερέκφραση της COX-2 και τη σύνθεση των PGs οι οποίες, αναστέλλοντας την απόπτωση, περιορίζουν τελικά την αποτελεσματικότητα των ταξανών. Επίσης, η αυξημένη έκφραση της COX-2 αυξάνει, όπως έχουμε προαναφέρει, την έκφραση του MDR-1 με αποτέλεσμα την ανάπτυξη αντίστασης στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Η συγχορήγηση επομένως ΜΣΑΦ με τα κλασσικά χημειοθεραπευτικά θα μπορούσε να αυξήσει την αποτελεσματικότητα των χημειοθεραπευτικών και να αποτρέψει την ανάπτυξη αντίστασης σε αυτά.

## 10. PPAR $\gamma$

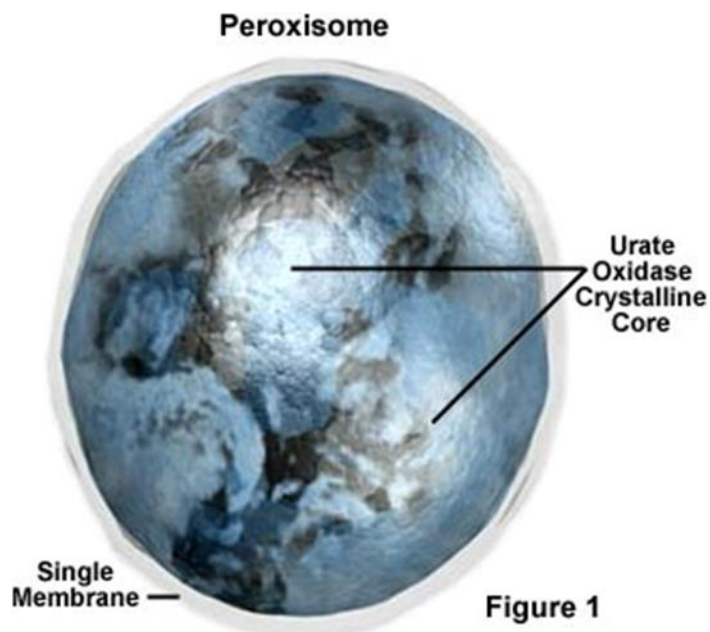
### 10.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα **υπεροξυσωμάτια** (ή υπεροξειδιοσώματα) είναι μικρά οργανίδια σφαιρικού ή ωοειδούς σχήματος διαμέτρου 0.5 – 1.3  $\mu\text{m}$ , που περιβάλλονται από απλή μεμβράνη (Εικ14, 15). Εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα ηπατικών, νεφρικών και παγκρεατικών ανθρώπινων κυττάρων καθώς και πρωτοζώων, μυκήτων και κυτταρικών τύπων ανώτερων φυτών. Περιέχουν ένζυμα σχετιζόμενα με το μεταβολισμό του  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Εικ16).

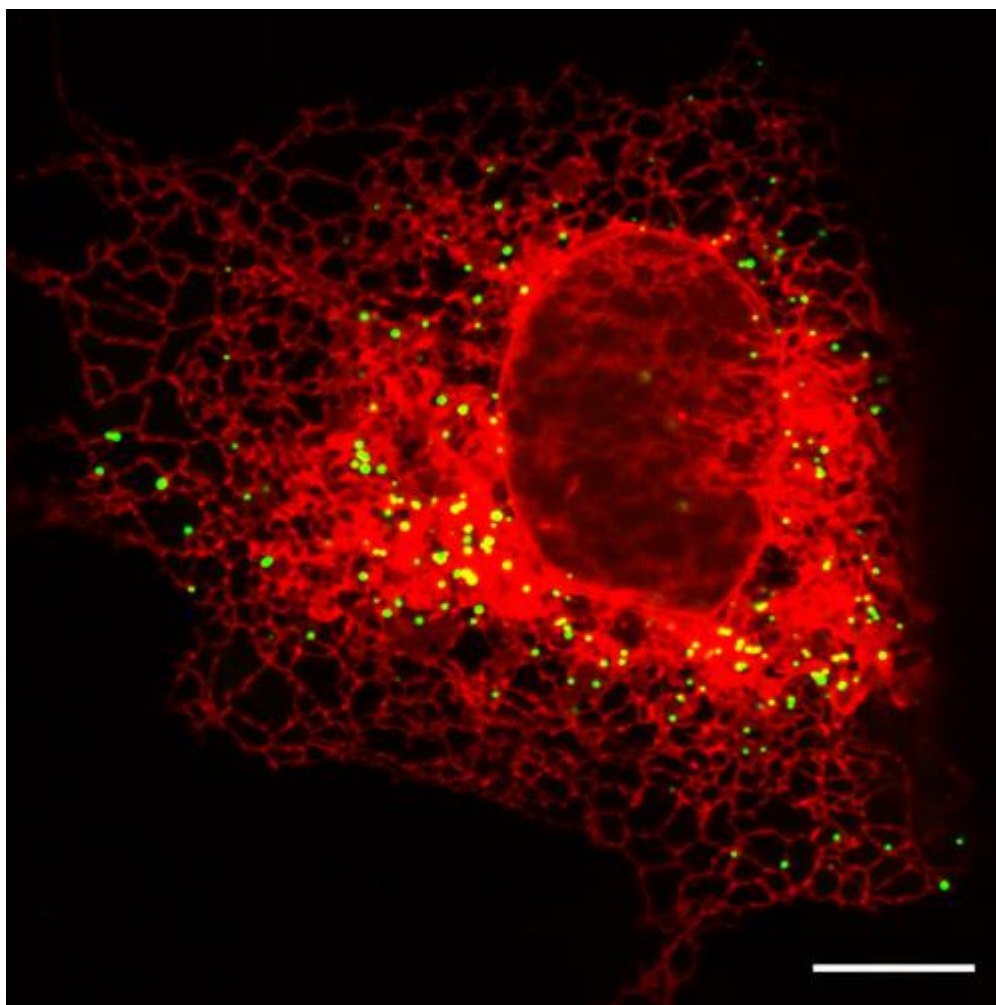


Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Εικ14. Υπερμικροσκοπική εικόνα υπεροξυσωμάτων (PO)



Εικ15. Δομή υπεροξυσωματίου, αποτελούμενου από απλή μεμβράνη και πυρήνα κρυσταλλικής ουρικής οξειδάσης

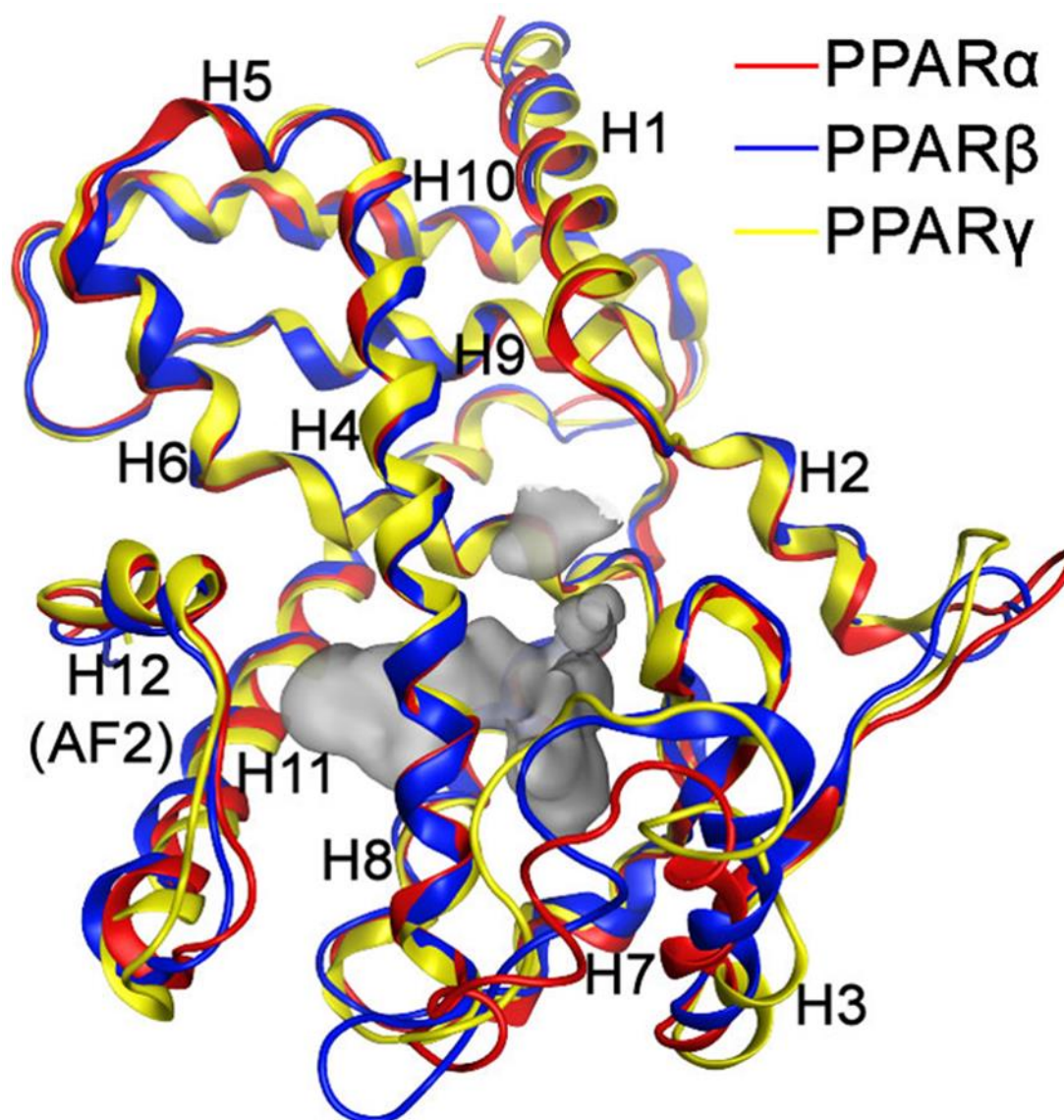


**Εικ16.** Σε κύτταρο καλλιέργειας COS 7: Πολλαπλά υπεροξυσωμάτια (με πράσινο χρώμα), ενδοπλασματικό δίκτυο (με κόκκινο χρώμα)

Το ποσό των υπεροξυσωμικών ενζύμων ελέγχεται κυρίως σε γονιδιακό μεταγραφικό επίπεδο. Σύγχρονες μελέτες ηπατικών κυττάρων τροφικών ανευρίσκουν ευρεία γονιδιακή ρύθμιση στα φαινόμενα υπεροξυσωμικού πολλαπλασιασμού.

Οι **PPARs** (Peroxisome Proliferator Activated Receptors), δηλαδή οι υποδοχείς ενεργοποίησης της υπερπλασίας υπεροξυσωμάτων, είναι συνδετο-ενεργοποιούμενοι ενδοκυττάριοι μεταγραφικοί παράγοντες, μέλη της υπεροικογένειας πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων (NR), που ρυθμίζουν τη μεταγραφή γονιδίων – στόχων. Η υπο-οικογένεια PPAR αποτελείται από τρεις υποτύπους, τον PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  και PPAR $\gamma$ , που κωδικοποιούνται από ξεχωριστά γονίδια, τα PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\beta/\delta$  (NR1C2) και PPAR $\gamma$  (NR1C3), τα οποία ενεργοποιούνται από εκλεκτικούς συνδέτες (Εικ. 17). Οι PPARs περιλαμβάνουν οιστρογονικούς και θυρεοειδικούς ορμονικούς υποδοχείς, το ρετινοϊκό οξύ, βιταμίνη D3, καθώς και ρετινοειδείς υποδοχείς X

(RXRs). Η ενεργοποίησή τους εκλύεται από εξειδικευμένα μόρια: συστατικά τροφών / μεταβολίτες (λιπαρά οξέα, χοληστερόλη, παράγωγα χοληστερόλης), ορμόνες (θυρεοειδικές ορμόνες, γλυκοκορτικοειδή, ρετινοειδή), φάρμακα (ίνες, δεξαμεθαζόνη). Υπάρχουν βιολογικά και βιοχημικά ευρήματα, απαντώμενα σε υπεροξυσωμικές διαταραχές στον άνθρωπο, όπως: 1) ανεπαρκής βιοσύνθεση πλασμαλογόνου 2) μειωμένη παραγωγή κοινού C24 χολικού άλατος με περίσσεια πρόδρομου C27 χολικού άλατος 3) μειωμένη χοληστερόλη και 4) συσσώρευση πολύ μακράς αλυσίδας λιπαρών οξέων (VLCFA) σε υγρά και ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού (371) (Εικ17).



**Εικ 17.:** Οι περιοχές σύνδεσης συνδετών των υποδοχέων PPARα, PPARβ and PPARγ. Όλοι αποτελούνται από 12 α-έλικες. Η C-τελική έλικα (H12 ή AF2) παρουσιάζει μεγάλες δομικές τροποποιήσεις σε διάφορους κρυστάλλους και παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των υποδοχέων PPAR.

### **Έρευνα σε ποντίκια**

Το όνομα του PPAR $\gamma$  προέρχεται από το γεγονός ότι το πρώτο ταυτοποιημένο μέλος, ο mPPAR, παρατηρήθηκε σε μια ομάδα ηπατοκαρκινογόνων, που ρυθμίζουν ανοδικά τον πολλαπλασιασμό των υπεροξυσωμάτων. Η ποικιλία  $\gamma$  κλωνοποιήθηκε αρχικά από μια cDNA βιβλιοθήκη Xenopus, μαζί με τις ποικιλίες A και B. Στην ίδια μελέτη και οι 3 υποδοχείς, βρέθηκε να αυξάνουν την δραστηριότητα του υποκινητή της οξειδάσης του ακετυλοσυνενζύμου A, αποδεικνύοντας ένα ρόλο στη ρύθμιση της  $\beta$ -οξειδωσης. Τον ίδιο χρόνο μια ακολουθία προσδιορισμένη στον υποκινητή της οξειδάσης του ακετυλοσυνενζύμου A, που συνδέεται σε ένα από τα PPARs βρέθηκε να είναι απαραίτητη για αυτήν την επαγωγή και έτσι ορίστηκε ως «στοιχείο απάντησης» πολλαπλασιασμού υπεροξυσωματίων (PPRE). Ένας ικανός αριθμός επιπρόσθετων γονιδίων, που περιέχουν ενεργά PPREs στους υποκινητές τους, εμπλέκονται παρόμοια στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Σύντομα μετά την ανακάλυψη των 3 ποικιλιών PPAR ( $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  και  $\gamma$ ), κλωνοποιήθηκε η mPPAR $\gamma$ 1 μορφή της  $\gamma$  ποικιλίας σε ποντίκι και κατόπιν η mPPAR $\gamma$ 2. Στην ίδια μελέτη επειδή βρέθηκε η έκφραση του mPPAR $\gamma$ 2 mRNA να είναι τουλάχιστον 20 φορές υψηλότερη στο λιπώδη ιστό ποντικίου παρά σε αρκετά άλλα όργανα, θεωρήθηκε ότι ο mPPAR $\gamma$ 2 εμπλέκεται στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων. Πράγματι, φάνηκε αργότερα ότι οι ινοβλάστες ποντικού μπορούσαν να διαφοροποιηθούν προς λιποκύτταρα in vitro μέσω ρετροϊκής έκφρασης του mPPAR $\gamma$ 2.

### **Έρευνα σε ανθρώπους**

Οι υποδοχείς PPAR $\gamma$ 1 και PPAR $\gamma$ 2, οι οποίοι προκύπτουν από διαφορετικούς υποκινητές στο ίδιο γονίδιο είναι επίσης παρόντες στους ανθρώπους. Ένας τρίτος υποκινητής έχει ως αποτέλεσμα ένα mRNA μετάγραφο του PPAR $\gamma$ 3, το οποίο παράγει PPAR $\gamma$ 1 κατόπιν μετάφρασης. Δυο επιπλέον υποκινητές είναι γνωστό ότι παράγουν mRNA μετάγραφα, τον PPAR $\gamma$ 4 και τον PPAR $\gamma$ 6, τα οποία επίσης αμφότερα πιθανώς παράγουν PPAR $\gamma$ 1 κατόπιν μετάφρασης.

Πειράματα εντοπισμού σε ιστικό επίπεδο των ενεργών μορφών του PPAR $\gamma$  δεικνύουν ότι η μορφή PPAR $\gamma$  1 εκφράζεται παντού σε επίπεδο mRNA ενώ ο PPAR $\gamma$ 2 εκφράζεται κυρίως σε λιποκύτταρα, όπως ο ομόλογος του, του ποντικίου. Τα ίδια πειράματα αναφέρουν επίσης ότι το επίπεδο mRNA του PPAR $\gamma$ 2 σε λιπώδη ιστό συσχετίζεται θετικά με την παχυσαρκία και μπορεί να ρυθμιστεί καθοδικά μέσω περιορισμού των θερμίδων (400).



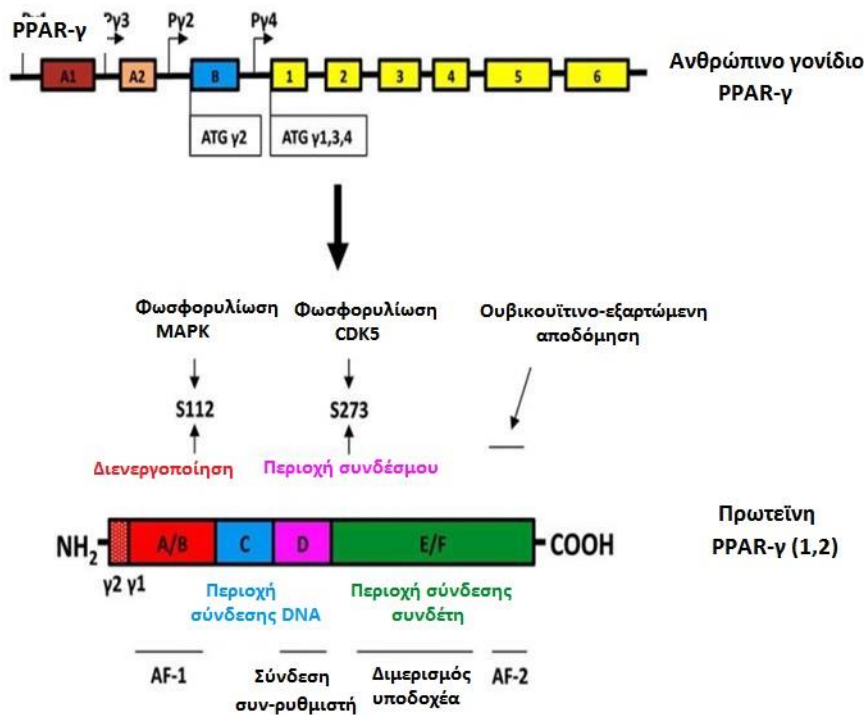
## 10.2 ΔΟΜΗ ΤΟΥ PPAR $\gamma$

### Εντόπιση σε ιστούς

Οι τρεις υπότυποι του PPAR επιδεικνύουν διακριτή κατανομή στους ιστούς, αντανακλώντας τις βιολογικές τους λειτουργίες. Ο PPAR $\alpha$  εκφράζεται κυρίως στα ηπατοκύτταρα, καρδιομυοκύτταρα, κύτταρα των εγγύς σωληναρίων του νεφρού, ενώ ο PPAR $\beta/\delta$  εκφράζεται ευρέως. Ο PPAR $\gamma$  εκφράζεται έντονα στα λιποκύτταρα, αλλά ανευρίσκεται επίσης σε ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος. Επίσης εκφράζεται σε πολλά νεοπλάσματα, όπως του πνεύμονα, προστάτη, παχέος εντέρου, μαστού, θυρεοειδούς και της ουροδόχου κύστης (320).

### Δομικά χαρακτηριστικά

Ο PPAR $\gamma$  διαθέτει αρθρωτή δομή, αποτελούμενη από έξι οριζόμενες περιοχές (A-F) σε τέσσερις λειτουργικούς τομείς (Εικ18)

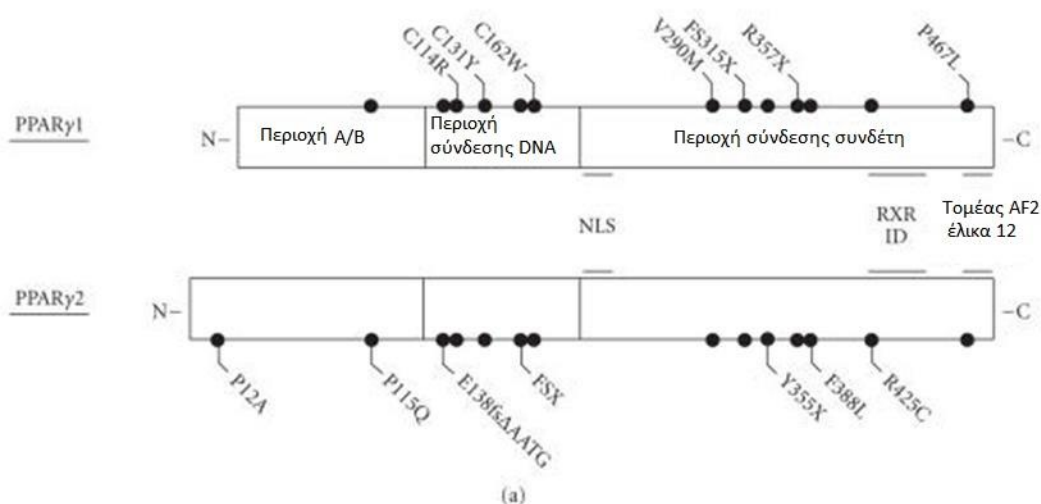


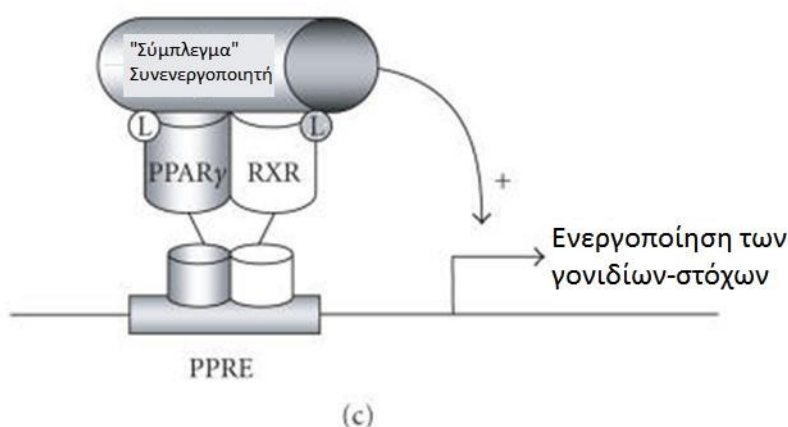
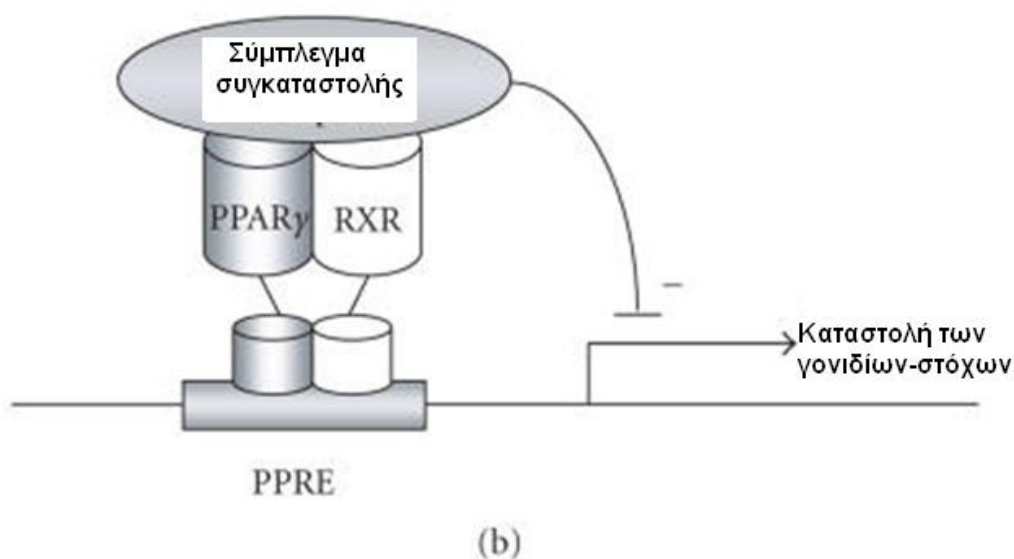
Εικ18. Δομή του ανθρώπινου γονιδίου PPAR $\gamma$  και πρωτεΐνης.

**Ανώτερο σχήμα – δομή γονιδίου:** Η έκφραση του PPAR-γ περιλαμβάνει διαφορετική χρήση του υποκινητή, και οι σχετικές θέσεις των 4 γνωστών υποκινητών PPAR-γ ορίζονται ως Pγ1-Pγ4. Οι μεταγραφικές ποικιλίες γ1, γ3, και γ4 κωδικοποιούν την ισομορφή PPAR-γ1. Το εξόνιο B (μπλε κουτί) κωδικοποιεί τα 28 επιπρόσθετα αμινοξέα, εντοπιζόμενα στο αμινοτελικό άκρο του ανθρώπινου PPAR-γ2. Τα εξόνια 1–6 (κίτρινα κουτιά) είναι συχνά σε όλα τα μετάγραφα PPAR-γ1 και όταν ματίζονται στο εξόνιο B κωδικοποιούν τον πλήρους μήκους PPAR-γ2.

**Κατώτερο σχήμα – δομή πρωτεΐνης:** Η υπερμεταβλητή περιοχή A/B (κόκκινο κουτί) περιέχει την περιοχή ενεργοποίησης λειτουργίας Activation Function-1 (AF-1). Ο ανθρώπινος PPAR-γ2 περιέχει μια αμινοτελική περιοχή 28 αμινοξέων. Η περιοχή C- περιέχει την περιοχή σύνδεσης DNA [DNA Binding Domain (DBD)]. Η περιοχή D (περιοχή άρθρωσης, ροζ κουτί) επιτρέπει την αλλαγή διαμόρφωσης, που ακολουθεί τη σύνδεση συνδετών (συνενεργοποιητών ή συγκαταστολέων). Η περιοχή E/F (πράσινο κουτί) περιέχει την περιοχή σύνδεσης συνδέτη Ligand Binding Domain (LBD) του PPAR-γ και την περιοχή λειτουργικής ενεργοποίησης -2 [Activation Function-2 (AF-2)]. Ο PPAR-γ μπορεί να φωσφορυλιωθεί από τις κινάσες MAP στο S112 ή μέσω της CDK5 στο S273. Η περιοχή AF2 συμμετέχει στην ουβικουϊτινο-εξαρτώμενη αποδόμηση και είναι απαραίτητη για την πλήρη συνδετο-επαγόμενη μεταγραφική δραστηριότητα του PPAR-γ.

Κατόπιν ενεργοποίησης, ο PPARγ σχηματίζει ετεροδιμερή με τον ρετινοειδή υποδοχέα X (RXR) και το σύμπλεγμα προσδένεται σε ειδικές θέσεις αναγνώρισης, που καλούνται στοιχεία απόκρισης της υπερπλασίας των υπεροξυσωματίων ( Peroxisome Proliferator Response Elements - PPRE). Τα τελευταία εντοπίζονται σε περιοχές εκκινήτη / προαγωγέα των PPARγ-γονιδίων (Εικ19).





**Εικ19. Λειτουργική δομή του PPAR $\gamma$ .** (α) Σχηματική αναπαράσταση των τριών κύριων περιοχών του PPAR $\gamma$ , που δηλώνουν τις θέσεις αρκετών φυσικών γενετικών ποικιλιών, που έχουν ταυτοποιηθεί στον ανθρώπινο υποδοχέα. (β) Απουσία εξωγενούς συνδέτη, ο PPAR $\gamma$  στρατολογεί ένα συγκαταστατικό σύμπλεγμα σε μια υπο-ομάδα γονιδίων-στόχων (π.χ. κινάση της γλυκερόλης λιποκυττάρων), και έτσι καταστέλλει τη βασική μεταγραφή. (γ) Η προσθήκη ενός συνδέτη επάγει μια αλλαγή διαμόρφωσης στον υποδοχέα, ο οποίος στη συνέχεια προάγει την απελευθέρωση του συγκαταστολέα και την προσέλκυση ενός συν-ενεργοποιητή των γονιδίων-στόχων. Για άλλα γονιδια-στόχους (π.χ. aP2), ο υποδοχέας φαίνεται να είναι δομικά ενεργός, ακόμη και απουσία εξωγενούς συνδέτη.

Επιπρόσθετα στο σύμπλεγμα του ετεροδιμερούς, η σύνδεση των αγωνιστών συνδετών στον PPAR $\gamma$  πυροδοτεί μια δομική αλλαγή, που προσελκύει μεταγραφικούς συνενεργοποιητές, συμπεριλαμβανομένων των μελών της οικογένειας

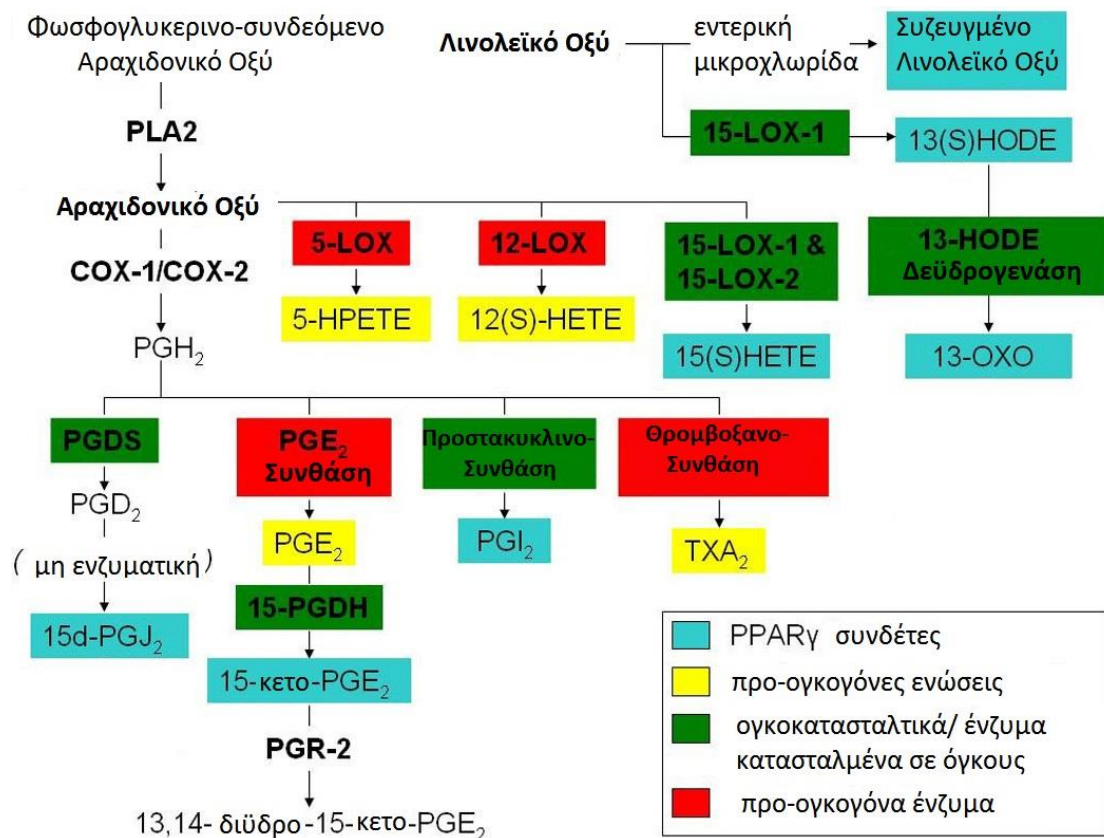
υποδοχέα στεροειδούς συνενεργοποιητή steroid receptor coactivator (SRC), που τροποποιεί τη δομή χρωματίνης και διευκολύνει τη συναρμολόγηση της γενικής μεταγραφικής μηχανής στον προαγωγέα (320).

### **10.3 ΦΥΣΙΚΟΙ ΣΥΝΔΕΤΕΣ**

Οι φυσικοί συνδέτες του PPAR $\gamma$  περιλαμβάνουν λιπαρά οξέα και εικοσανοειδή, συστατικά οξειδωμένων χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών και οξειδωμένα αλκυλ-φωσφολιπίδια, συμπεριλαμβανομένων των λυσοφωσφατιδικού οξέος και νιτρολινολεϊκού οξέος. Το παράγωγο της προσταγλανδίνης J2, η 15-PGJ2, είναι ο πιο δραστικός ενδογενής συνδέτης για τον υποδοχέα του PPAR $\gamma$  και ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος φυσικά απαντώμενος PPAR $\gamma$ -αγωνιστής.

#### **1) Προϊόντα λιποξυγενάσης**

Ο PPAR $\gamma$  ενεργοποιείται από αρκετούς φυσικούς ενδογενείς συνδέτες, που προκύπτουν από το μεταβολισμό του αραχιδονικού και λινολεϊκού οξέος (Εικ20)



**Εικ20.** Φυσικά απαντώμενοι PPARγ συνδέτες, που προκύπτουν από το μεταβολισμό του αραχιδονικού και λινολεϊκού οξέος

Ανάμεσα στους συνδέτες αυτούς περιλαμβάνονται τα προϊόντα της λιποξυγενάσης: 1) 13(S)HODE (παραγώμενο από λινολεϊκό οξύ μέσω 15-LOX-1) και 2) 15-(S)HETE (παραγώμενο από αραχιδονικό οξύ μέσω τόσο 15-LOX-1 όσο και 15-LOX-2). Επαγωγή της δραστηριότητας της 15-LOX-1 φάνηκε πράγματι να διαμεσολαβεί την προαγωγή της απόπτωσης από ΜΣΑΦ σε ορισμένες κυτταρικές σειρές όγκου και να συμβαίνει ανεξάρτητα από την αναστολή της COX-2. Αν και αυτό το εύρημα αρχικά επιδείχθηκε μόνο στις καρκινικές κυτταρικές σειρές του κόλου, επαναλήφθηκε σε κυτταρικές σειρές τόσο οισοφαγικού όσο και γαστρικού καρκίνου.

Η 13- (S)HODE στην πραγματικότητα, καθαιρείται από την 13-HODE δεϋδρογενάση για να σχηματίσει το 13-οξοοκταδεκαδιενοϊκό οξύ (**13-OXO**), έναν άλλο συνδέτη του PPARγ. Η έκφραση της 13-HODE δεϋδρογενάσης είναι, σύμφωνα με αναφορές, μειωμένη στον καρκίνο του παχέος εντέρου σε σχέση με τον μη-κακοήθη ιστό, εύρημα που υποστηρίζει ότι η 13-OXO επηρεάζει προφανώς επιπρόσθετους μηχανισμούς.

Σε αντίθεση με το ρόλο της ως συνδέτη, η **13 (S)HODE** μπορεί επίσης να καταστείλει τη δραστηριότητα του PPAR-γ, μέσω μιας ελάχιστα κατανοητής ενεργοποίησης της πλαισιο-εξαρτώμενης MAP κινάσης (MAPK).

Επειδή καταδείχτηκε μια προ-ογκογόνος επίδραση της **15-LOX-1** σε κύτταρα PC-3, θεωρήθηκε ότι αυτή η δραστηριότητα αντιστρέφει το ρόλο της στον καρκίνο του προστάτη, προκαλώντας την να ενισχύσει, αντί να καταστείλει, την ογκογένεση. Ο ρόλος της 15-LOX-1 δεν έχει ακόμη καθοριστεί στον καρκίνο του προστάτη.

Η **15 (S)HETE** θεωρείται ότι παίζει έναν λιγότερο σημαντικό ρόλο από την 13 (S)HODE στην ενεργοποίηση του PPAR-γ, ειδικότερα στον κολοορθικό καρκίνο και συγκεκριμένα στην καταστολή αυτών των όγκων. Αυτή η διαφορά αποδόθηκε σε μια πολύ υψηλότερη διαθεσιμότητα του λινολεϊκού από το αραχιδονικό οξύ στη δίαιτα. Παρόλα αυτά, σε μοντέλο καρκινογένεσης πνεύμονα, ανιχνεύθηκε μια σημαντική μείωση στα επίπεδα τόσο της 13 (S)HODE όσο και της 15 (S)HETE. Ενώ η συγκέντρωση της 15 (S)HETE φαίνεται να είναι χαμηλή σε όγκους, είναι πιθανό ότι οι καθοδικοί μεταβολίτες είναι πιο επικρατούντες. Ανάμεσα σε αυτούς, τόσο ο 15-oxo-ETE και ο 5-oxo-15 (S)-OH-ETE έχουν χαρακτηριστεί ως PPAR-γ συνδέτες, αν και απαιτούνται εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις για αυτή τη δραστηριότητα.

#### **Ενδογενής παραγωγή 15 (S)HETE και PPARβ/δ**

Δοκιμασίες, που μετρούν την ενδογενή παραγωγή της 15 (S)HETE, καταδεικνύουν ότι η αποτελεσματικότητα της έκκρισής της φαίνεται να ποικίλλει μεταξύ κυτταρικών σειρών. Το εύρημα αυτό μπορεί να υποδεικνύει ότι αυτή η διαδικασία ρυθμίζεται, εν μέρει, από έναν ενεργό μηχανισμό μεταφοράς. Πρόσφατα επίσης, καταδείχτηκε ότι η 15 (S)HETE κατά προτίμηση ενεργοποιεί τον PPAR-β/δ επί του PPAR-γ. Η ενεργοποίηση του PPAR-β/δ, ειδικά εντός στρωματικών κυττάρων, φάνηκε να τροποποιεί την παραγωγή κυτοκινών, έτσι ώστε να μειώνει μιτογόνα παρακρινή σήματα, όταν καλλιεργήθηκαν σε κύτταρα πολλαπλού μυελώματος. Αν και η 15 (S)HETE δεν παίζει, ενδεχομένως, σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση του PPAR-γ στους περισσότερους όγκους, θα μπορούσε να επιβεβαιώσει μια παρόμοια ογκοκατασταλτική επίδραση μέσω μιας τέτοιας παρακρινούς σηματοδότησης (401).

## **2) Προσταγλανδίνες**

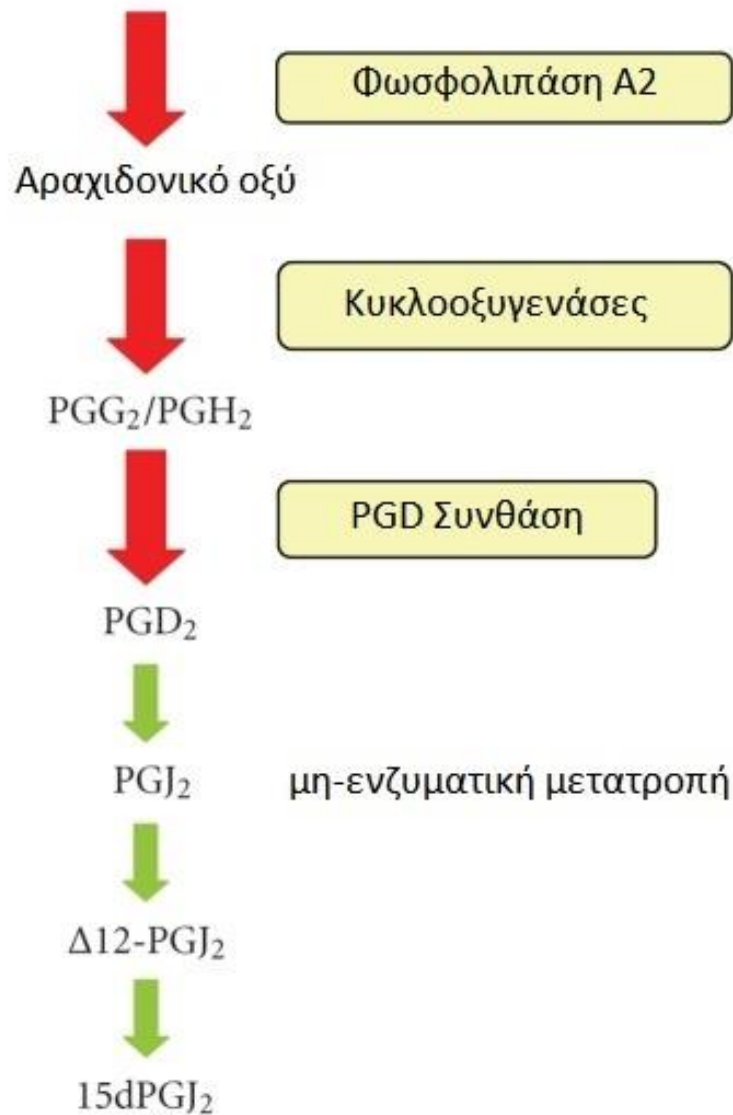
Ως συνδέτες του PPAR-γ μπορούν επίσης να δρουν αρκετοί μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, που προκύπτουν καθοδικά από ένζυμα COX (Eic21).

Ανάμεσα σε αυτούς, **α) ο 15d-PGJ2** ήταν ο πρώτος ενδογενής συνδέτης, που ανακαλύφθηκε για τον PPAR-γ και **β) η προστακυκλίνη (PGI2)**, ένα άλλο καθοδικό προϊόν των COXs, πιστεύεται επίσης ότι ενεργοποιεί τον PPAR-γ. Φαίνεται πως η δραστηριότητα αυτή διαμεσολαβεί την καλά εγκατεστημένη ογκοκατασταλτική

δράση της προστακυκλίνης, δεδομένου ότι η απενεργοποίηση του IP υποδοχέα (ενός G-συνδεδεμένου υποδοχέα για προστακυκλίνη) αποτυγχάνει να μειώσει την προστατευτική επίδραση της υπερέκφρασης της προστακυκλινο-συνθάσης.

Έχει, επίσης, παρατηρηθεί αυξημένη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$  επί θεραπείας των 3T3-L1 κυττάρων με  $\gamma$ 15-κετο-PGE2, ένα παράγωγο αραχιδονικού οξέος, που δημιουργείται μέσω μετατροπής της PGE2 από 15-PGDH. Αυτός ο συγκεκριμένος συνδέτης πιστεύεται ότι είναι απαραίτητος για τουλάχιστον μια υποομάδα ενδογενών διεργασιών, που απαιτούν ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$ , δεδομένου ότι η εξωγενής υπερέκφραση του καθοδικού ενζύμου PGR-2 (το οποίο μεταβολίζει την 15-κετο-PGE2 σε 13,14-διϋδρο-15-κετο-PGE2) αναχαιτίζει την ορμονο-επαγόμενη διαφοροποίηση των 3T3-L1 κυττάρων σε λιποκύτταρα. Από την άλλη μεριά, η δραστηριότητα της 13,14-διϋδρο-15-κετο-PGE2 μπορεί να είναι υπεύθυνη για αυτή την επίδραση, πιο πολύ από την απουσία της 15-κετο-PGE2 (402).

## Φωσφολιπίδια μεμβρανών



**Εικ21.** Μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, που προκύπτουν από τις COXs, δρουν ως PPAR $\gamma$  συνδέτες

### 3)Σημασία των προϊόντων του αραχιδονικού οξέος

Δεδομένου του ρόλου του PPAR- $\gamma$  στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων, είναι ενδιαφέρον ότι η siRNA-διαμεσολαβούμενη απενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A2, του εκκινήτη της σηματοδότησης του αραχιδονικού οξέος, είναι ικανή να αναχαιτίσει την ορμονο-επαγόμενη διαφοροποίηση των 3T3-L1 κυττάρων σε προ-λιποκύτταρα. Η διαφοροποίηση αυτή διασώζεται μέσω θεραπείας με τον αγωνιστή PPAR- $\gamma$ , την τρογλιταζόνη. Αυτές οι παρατηρήσεις καταδεικνύουν ότι τουλάχιστον ένας από τους



γνωστούς συνδέτες, που προκύπτουν μέσω μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος, είναι απαραίτητος για την ενδογενή επαγωγή της δραστηριότητας του PPAR-γ.

#### **Πειράματα σε ποντίκια – Λιπόλυση – Ογκογένεση**

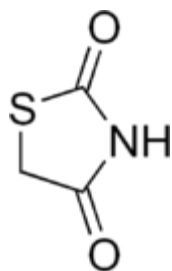
Φαίνεται ότι συνδέτες, που προέρχονται από το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, είναι τα βασικά μέσα επαγωγής της δραστηριότητας του PPAR-γ για τα περισσότερα όργανα *in vivo*. Στην προαναφερθείσα μελέτη της διπλής καταστολής του ειδικού για λιποκύτταρα PPAR-γ σε ποντίκια, αυξήσεις του σωματικού βάρους, λόγω υψηλής σε λιπαρά διαίτας, μετριάστηκαν σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Αν και τα αποτελέσματα της τελευταίας μελέτης ήταν συμβατά με τις επιδράσεις της μειωμένης δραστηριότητας PPAR-γ, οι ερευνητές τα εξήγησαν μέσω αύξησης της λιπόλυσης, που οφείλεται σε μειωμένη παραγωγή PGE<sub>2</sub>.

Στο παχύ έντερο, παρόλα αυτά, παρατηρείται μια εξαίρεση ως προς τους φυσικούς συνδέτες PPAR-γ από τα συμπληρώματα διαίτας και από το μονοπάτι του αραχιδονικού οξέος. Όπως προαναφέρθηκε, τα συμπληρώματα διατροφής με συζευγμένο λινολεϊκό οξύ φάνηκε να μειώνουν την κολοορθική ογκογένεση, που επάγεται από την azoxymethane σε ποντίκια, πιθανά μέσω μιας παρατηρημένης καταστολής κολίτιδας (ενός γνωστού παράγοντα κινδύνου κολοορθικού καρκίνου). Η επίδραση αυτή φαίνεται να απουσιάζει από ποντίκια, που δεν εκφράζουν τον PPAR-γ (316).

#### **10.4 ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΙ ΣΥΝΔΕΤΕΣ**

Συνθετικοί συνδέτες είναι οι θειαζολινεδιόνες ή η αντι-διαβητική θειαζολινιδινεδιονική (TZD) κατηγορία φαρμάκων, που περιλαμβάνει την τρογλιταζόνη (TGZ), ροζιγλιταζόνη, πιογλιταζόνη, σιγλιταζόνη (SIG) και ορισμένα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ), όπως η ινδομεθακίνη, ιβουπροφαίνη, φλουφαιναμικό οξύ και φαινοπροφαίνη (320).

#### **Μέλη της τάξης TZDs**



## **Χημική δομή της θειαζολιδινεδιόνης**

Χημικά, τα μέλη αυτής της τάξης προέρχονται από την ανωτέρω χημική ένωση και περιλαμβάνουν τις: **α) ροζιγλιταζόνη**. Αν και η κυκλοφορία της ανεστάλη σε ΗΠΑ και Ευρώπη, λόγω αυξημένου κινδύνου καρδιαγγειακών επεισοδίων, το 2013 ο FDA ανακοίνωσε την άρση των περιορισμών στη χορήγησή της. **β) πιογλιταζόνη**. Η χρήση της ανεστάλη σε Γαλλία και Γερμανία κατόπιν μελέτης, που υποδήλωσε δυνητικά αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου ουροδόχου κύστης. **γ) τρογλιταζόνη**. Αποσύρθηκε από την αγορά, λόγω αυξημένης συχνότητας φαρμακευτικής ηπατίτιδας. Πειραματικοί παράγοντες περιλαμβάνουν τις νετογλιταζόνη, ριβογλιταζόνη και σιγλιταζόνη (316).

## **Θεραπευτική χρήση τρογλιταζόνης σε μη-νεοπλασματικές νόσους**

Σύντομα αφότου χαρακτηρίστηκε ο ρόλος του PPAR $\gamma$  στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων, το θειαζολιδινεδιονικό φάρμακο τρογλιταζόνη (TGZ) ανακαλύφθηκε ως δυνητικός συνδέτης. Πρόσφατα ο PPAR $\gamma$  έγινε κατανοητό ότι είναι ο βασικός διαμεσολαβητής της ικανότητας της TGZ να αντιστρέφει την αντίσταση στην ινσουλίνη σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2. Ο PPAR $\gamma$  πιστεύεται επίσης ότι παίζει ένα ρόλο στην καταστολή της ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης. Πιο πρόσφατα, ο PPAR $\gamma$  έχει χαρακτηριστεί *in vitro* ως ανταγωνιστής διαφοροποίησης μεσεγχυματικών προγονικών κυττάρων σε οστεοβλάστες ενώ οι PPAR $\gamma$  ανταγωνιστές έχουν προταθεί για χρήση ως θεραπευτικοί ενισχυτές οστεογένεσης σε ασθενείς με οστεοπόρωση (320).

## **Ρόλος του PPAR $\gamma$ στην ογκογένεση και τρογλιταζόνη**

Μετά τον χαρακτηρισμό του ρόλου του PPAR $\gamma$  στην διαφοροποίηση των κυττάρων, η διαφοροποίηση και τα αποτελέσματα της αναστολής της ανάπτυξης καταδείχτηκαν σε κυτταρικές σειρές από αρκετούς τύπους καρκίνου σε αλλομοσχεύματα. Πρώιμες έρευνες, παρόλα αυτά, απέτυχαν μαζικά να καθιερώσουν είτε μεταλλάξεις του PPAR $\gamma$  είτε αλλαγές σε επίπεδο mRNA του PPAR $\gamma$  ως επικρατούντα γεγονότα στην ογκογένεση. Επιπρόσθετα, προέκυψε η θεωρία ότι οι αντικαρκινικές επιδράσεις, που προκλήθηκαν από συνθετικούς αγωνιστές είναι ανεξάρτητες από την δραστηριότητα αυτού του υποδοχέα. Κλινικές δοκιμές απέτυχαν να καταδείξουν την αποτελεσματικότητα τέτοιων αγωνιστών ως μονοθεραπεία στη

θεραπεία του καρκίνου, γεγονός που ευνόησε την έρευνα για συνδυαστικές θεραπείες (320).

## 10.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ PPAR $\gamma$

### 1. Ετεροδιμερή PPAR- $\gamma$ -RXR

Ένας από τους βασικούς μηχανισμούς δράσης του PPAR- $\gamma$  είναι αυτός του ετεροδιμερούς PPAR $\gamma$ -RXR. Προάγει τη μεταγραφή των γονιδίων, των οποίων οι υποκινητές περιέχουν στοιχεία ανταποκρινόμενα στην υπερπλασία των υπεροξυσωμάτων (PPREs) (Εικ19).

#### Δραστηριότητα ετεροδιμερών PPAR $\gamma$ -RXR

**Σε λιποκύτταρα**, αρκετά γονίδια, όπως τα aPC, είναι θεμελιωδώς συνδεδεμένα σε συμπλέγματα PPAR $\gamma$ -συνενεργοποιητή, ανάμεσα στα οποία το επικρατέστερο είναι το PPAR $\gamma$ -RXR.. Η σημασία της δραστηριότητας αυτού του ετεροδιμερούς σε κλινικούς όγκους δεν έχει αποσαφηνιστεί. Θεραπείες, που συνδυάζουν συνδέτες για PPAR- $\gamma$  και RXR, έχουν ως αποτέλεσμα αθροιστική ή συνεργιστική επαγωγή της δράσης του διμερούς. Σε πρώιμες μελέτες των αποτελεσμάτων δράσης του PPAR- $\gamma$  στον καρκίνο, αυτή η συμπεριφορά παρατηρήθηκε σε μια **κυτταρική σειρά λιποσαρκώματος**. Πρόσφατα, εν τούτοις, η δραστηριότητα αυτού του ετεροδιμερούς φάνηκε να απουσιάζει από αρκετές καρκινικές κυτταρικές σειρές, λόγω φωσφορυλίωσης του πυροδοτούμενου αυξητικού παράγοντα του RXR $\alpha$ , ενώ η συνέργεια μεταξύ συνδετών για δυο υποδοχείς μπορεί να αποκατασταθεί, μέσω είτε απόσυρσης αυξητικών παραγόντων, είτε προσθήκης αναστολέων MAPK. Μια αύξηση της φωσφορυλίωσης του RXR $\alpha$  έχει, πράγματι, παρατηρηθεί **σε κλινικά δείγματα κολοορθικού καρκίνου** σε σχέση με μη-κακοήγη επιθηλιακό ιστό κόλου.

#### Ετεροδιμερή PPAR- $\gamma$ -RXR και $\beta$ -κατενίνη

Η ογκογόνος πρωτεΐνη  $\beta$ -κατενίνη έχει φανεί ότι αλληλεπιδρά τόσο με RXR, όσο και με PPAR- $\gamma$ . Επιπλέον, θεραπεία των κυττάρων με συνδέτες PPAR $\gamma$ , κατά τη διάρκεια εξωγενούς έκφρασης PPAR $\gamma$  και RXR, μειώνει την ικανότητα της  $\beta$ -κατενίνης να διενεργοποιεί τα γονίδια-στόχους της (316).

### 2. Συνενεργοποιητές

Η μεταγραφική δραστηριότητα των γονιδίων-στόχων PPAR- $\gamma$  μπορεί επίσης να επιτευχθεί μέσω συμπλεγμάτων, που περιέχουν PPAR- $\gamma$  και ποικίλους συνενεργοποιητές, αν και η ειδικότητα των γονιδίων-στόχων μπορεί να ποικίλλει. Ένα σύμπλεγμα με **PGC-1alpha** ενεργοποιεί τη μεταγραφή του UCP-1, που είναι μη-προσβάσιμο σε PPAR $\gamma$ -RXR.

Διαφορετικοί συνενεργοποιητές έχουν επίσης διαφορετικούς τρόπους δραστηριότητας. Πολλοί από τους κλασικούς συνενεργοποιητές, όπως οι **CBP/p300** και **SRC-1**, επιτυγχάνουν αυτή τη δράση 1) μέσω της δραστηριότητας της ακετυλοτρανσφεράσης των ιστονών (HAT), και 2) στρατολογούν άλλους συνενεργοποιητές σε συμπλέγματα με PPAR $\gamma$ , όπως ο PGC-1alpha.

#### **Επίδραση συνδετών PPAR- $\gamma$**

Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αλληλεπίδραση μεταξύ του PPAR- $\gamma$  και των συνενεργοποιητών του ενισχύεται από τη δράση συνδετών. Η επίδραση των συνδετών PPAR- $\gamma$  ποικίλλει στη δραστηριότητα αυτών των συνενεργοποιητών. Μερικοί συνενεργοποιητές, παρόλα αυτά, όπως οι **ARA70** και **SHP** **ενεργοποιούν τον PPAR- $\gamma$  θεμελιωδώς.**

Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ ορισμένων συνενεργοποιητών μπορεί να ενισχύεται από μόνο μια υποομάδα των συνδετών PPAR- $\gamma$ . Η σύνδεση σε PGC-1alpha ενισχύεται, σύμφωνα με αναφορές, από την προσθήκη των 15-d-PGJ2 και τρογλιταζόνης, όχι όμως της ροζιγλιταζόνης. Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται στο γεγονός ότι η διαθεσιμότητα των συνενεργοποιητών **nuclear respiratory factor-1 (NRF-1), estrogen receptor alpha (ERalpha), retinoic acid (RA) receptor** και **thyroid receptor beta** καθορίζει σημαντικά τη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$  σε όγκους (403).

#### **3. Συγκатаστολείς**

Η δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$  ρυθμίζεται επίσης μέσω αλληλεπίδρασης με συγκатаστολείς, 1) είτε μέσω καταστολής της δραστηριότητας του PPAR- $\gamma$ , 2) είτε μέσω ενίσχυσης από τον PPAR- $\gamma$  της ικανότητας αυτών των συγκатаστολέων να διακαταστέλλουν άλλα γονίδια.

Η συνάφεια του PPAR- $\gamma$  για αυτές τις πρωτεΐνες καθορίζεται από πολυάριθμους παράγοντες. Οι περισσότεροι από αυτούς τους συγκатаστολείς χάνουν τη συνάφειά τους για πυρηνικούς υποδοχείς όταν αυτοί οι υποδοχείς ενεργοποιούνται από τους αντίστοιχους συνδέτες τους, ενώ μερικές από τις αλληλεπιδράσεις αυτές *ενισχύονται* από συνδέτες. Η σύνδεση του συγκатаστολέα RIP140 με τα συμπλέγματα PPAR- $\gamma$

και RXR, παραδείγματος χάρη, ενισχύεται από την προσθήκη RXR συνδετών. Επιπλέον, τουλάχιστον μια πρωτεΐνη είναι γνωστό ότι αναστέλλει την αλληλεπίδραση μεταξύ του PPAR- $\gamma$  και των συγκαταστολέων του. Άμεση αλληλεπίδραση με τη φωσφορυλιωμένη κινάση ERK5 παρατηρήθηκε να αυξάνει τη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$ 1, πιθανώς αναχαιτίζοντας την αλληλεπίδρασή του με τον συγκαταστολέα SMRT. Σε μελέτες παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης της μιτογόνου κινάσης ERK5, σε δείγματα προστατικού όγκου σε σχέση με τον αντίστοιχο μη-κακοήθη ιστό, γεγονός που υπαινίσσεται ότι η ERK5 θα μπορούσε να μειώσει την ικανότητα αυτών των συγκαταστολέων να καταστέλλουν τη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$  (404) (Εικ.25).

#### **Συγκαταστολείς / Συγκαταστολή – Διακαταστολή - SUMOylation**

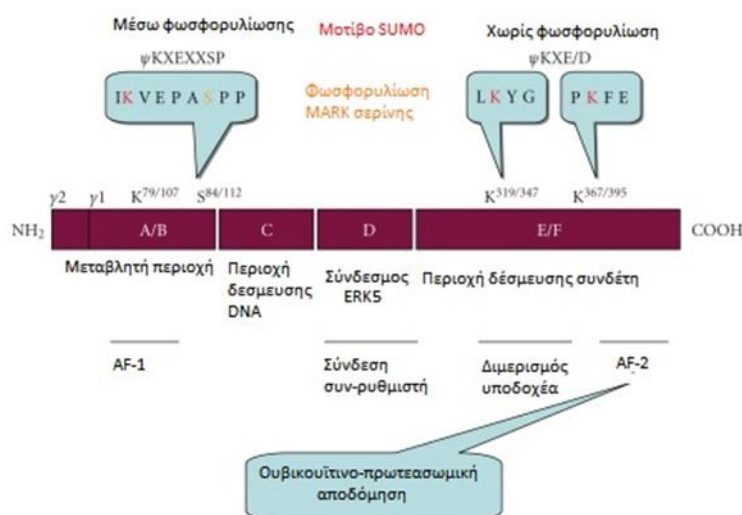
Ο PPAR- $\gamma$ , όταν δεν είναι μέρος ενεργού συμπλέγματος, απαντάται φυσιολογικά στην ανενεργή μορφή του, προσδεμένος σε έναν συγκαταστολέα, όπως τους SMRT ή NCoR. Συνήθως, η αλληλεπίδραση με έναν συνδέτη προκαλεί αποσύνδεση του PPAR- $\gamma$  από τον συγκαταστολέα και σύνδεση σε έναν συνενεργοποιητή. Ο συγκαταστολέας, με τη σειρά του, μπορεί να ελευθερωθεί, ώστε να συνδεθεί σε άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, διακαταστέλλοντας έτσι τα γονίδια-στόχους τους. Η ενεργοποίηση του συνδέτη ενισχύει επίσης τη **SUMOylation του PPAR- $\gamma$** . Πρόκειται για μια αλλαγή, που παρακινεί την προσέλκυση του PPAR- $\gamma$  σε συμπλέγματα NCoR-HDAC3, που σχετίζονται με ειδικά γονίδια, και ως εκ τούτου καταστέλλεται η μεταγραφή τους, λόγω αναχαιτίσης της ουβικουϊτινο-διαμεσολαβούμενης αποδόμησης των συμπλεγμάτων (316).

#### **4.Καταστολή των PPREs (Peroxisome Proliferator Response Elements) από άλλες πρωτεΐνες**

Η γενωμική δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$  μπορεί επίσης να παρεμποδιστεί μέσω σύνδεσης άλλων πρωτεϊνών με στοιχεία ανταποκρινόμενα στην υπερπλασία των υπεροξυσωμάτων (PPREs). Αυτό ισχύει για τον υποδοχέα οιστρογόνων. Μια παρόμοια καταστολή των PPREs έχει αναφερθεί για ένα θυρεοειδικό μεταλλαγμένο  $\beta$ -υποδοχέα, κλινικά παρατηρημένο, όπου ένα ομοδιμερές είτε ετεροδιμερές με PPAR- $\gamma$  ή με RXR θα μπορούσε να συνδεθεί και να καταστείλει τα PPREs (316).

#### **5.Πρωτεασωμική αποδόμηση**

Η δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$  ρυθμίζεται επίσης μέσω πρωτεασωμικής αποδόμησης. Στόχευση του PPAR- $\gamma$  στο πρωτεάσωμα συμβαίνει μέσω ουβικουίτινιοποίησης του τμήματος AF-2 στην περιοχή σύνδεσης με τον συνδέτη του (Εικ.22).



**Εικ.22.** Δραστηριότητα του PPAR $\gamma$  μέσω αλληλεπίδρασης με συγκαταστολείς, φωσφορυλιωμένης ERK5 και ουβικουίτινο-πρωτεασωμικής αποδόμησης

Αυτή η διεργασία ενισχύεται από την προσθήκη των TZDs, ένα αποτέλεσμα που αντιτίθεται με τη δράση του στην ενεργοποίηση των PPREs. Παρόλα αυτά, σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, η επίδραση αυτής της διαδικασίας εμφανίζεται συχνά να παρακάμπτεται από ανταγωνιστικό μηχανισμό. Αναφέρεται ότι τα κύτταρα PC-3 δεν εμφανίζουν καμιά αλλαγή του PPAR- $\gamma$  επί θεραπείας με τρογλιταζόνη, ενώ παρόμοια θεραπεία επιφέρει αύξηση στην έκφραση του PPAR- $\gamma$  σε κύτταρα 21MT (316).

## 6.Μεταγραφική ρύθμιση

Λίγα είναι γνωστά ως προς τον έλεγχο της μεταγραφής στα επιθηλιακά κύτταρα. Ο μεταγραφικός παράγοντας Zac, ο οποίος είναι γνωστό ότι παίζει ρόλο στην απόπτωση, έχει αναφερθεί ότι ενεργοποιεί τη μεταγραφή του PPAR- $\gamma$  και εκφράζεται σε μερικές κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της καλά μελετημένης διεργασίας, όπου NIH-3T3 κύτταρα

διαφοροποιούνται σε λιποκύτταρα μέσω ενεργοποίησης του PPAR- $\gamma$ , προκύπτει ένας βρόγχος θετικής ανατροφοδότησης, όπου ο PPAR- $\gamma$  και ο γονιδιακός του στόχος C/EBP $\alpha$  ρυθμίζουν ανοδικά τη μεταγραφή ο ένας του άλλου. Ένας παρόμοιος βρόγχος μπορεί να είναι ενεργός κατά τη διάρκεια της θεραπείας καρκινωμάτων με συνθετικούς αγωνιστές PPAR- $\gamma$ . Δυο μεταγραφικοί παράγοντες, ρυθμιζόμενοι από τον TGF $\beta$ , οι Egr-1 και AP1, θεωρούνται επίσης σημαντικοί ρυθμιστές της μεταγραφής PPAR- $\gamma$  σε λεία μυϊκά κύτταρα (316).

## **10.6 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΔΙΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ - ΔΙΑΚΑΤΑΣΤΟΛΗΣ**

### **Συνολική θεώρηση**

Μελέτες μικροσυστοιχιών έχουν αναδείξει ότι διάφορα μονοπάτια μπορεί να τροποποιηθούν από συνδέτες του PPAR- $\gamma$ . Συγκεκριμένα, σε μελέτες PPAR- $\gamma$  αγωνιστών σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων έχει αναδειχθεί ανοδική ρύθμιση των δεικτών διαφοροποίησης, καθώς και αλλαγές αντιπροσωπευτικών γονιδίων σε επίπεδο mRNA.

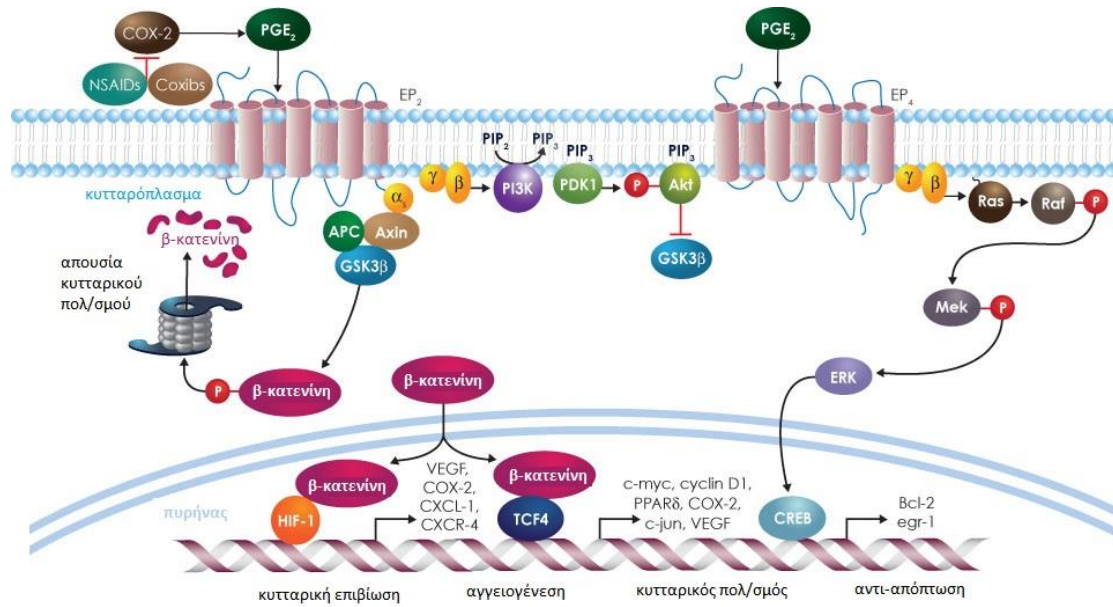
Παρατηρήθηκε ότι ρυθμίζονται γονίδια, που σχετίζονται με: 1) τον κυτταρικό κύκλο (MDM2, CHEK2 και RBX1), 2) την απόπτωση (BCLX (L), MCL-1, BAX, XIAP και Survivin), 3) την αλληλεπίδραση κυτοκίνης - υποδοχέα κυτοκίνης και αυξητικούς παράγοντες (IL18 και VEGFB), 4) την ουβικουΐτινο- διαμεσολαβούμενη πρωτεόλυση (UBE2E1 και RBX1), 5) τη σηματοδότηση φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (INPP5D), 6) την οδό σηματοδότησης Wnt (RBX1), 7) το μονοπάτι κολοορθικού καρκίνου (APPL) και 8) τη σηματοδότηση ασβεστίου (SLC25A4) (449, 450).

### **1. Καλά μελετημένοι μη γενωμικοί στόχοι**

#### **α. Β-κατενίνη**

Πιστεύεται ότι ο PPAR $\gamma$  αναστέλλει τη σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού της  $\beta$ -κατενίνης. Η δραστηριότητα της  $\beta$ -κατενίνης είναι σημαντική στην προώθηση **επιθηλιακής – μεσεγχυματικής μετατροπής**, μιας σημαντικής διαδικασίας στην εξέλιξη του όγκου. Η προογκογόνος δραστηριότητα της σηματοδότησης Wnt/ $\beta$ -catenin προκύπτει από την πυρηνική εντόπιση της  $\beta$ -κατενίνης, η οποία ενεργοποιεί

την οικογένεια TCF/LEF μεταγραφικών παραγόντων με το να τους μεταθέτει από τον συγκαταστολέα Groucho/TLE. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μια ανοδική ρύθμιση της **Cyclin D** και **c-myc**, τα οποία ασκούν προογκογόνες επιδράσεις. Σε μη κακοήθη κύτταρα αυτό το γεγονός εμποδίζεται από το σύμπλεγμα αποικοδόμησης, που περιέχει Axin, APC και την κινάση GSK-3beta, που φωσφορυλιώνει την β-κατενίνη, έτσι ώστε να την στοχεύσει για πρωτεασωμακή αποδόμηση (405) (Εικ23).



**Εικ.23** Μονοπάτι β-κατενίνης και ποικίλες δράσεις στην αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την ογκογένεση

### Πειράματα σε ποντίκια APC

Ο APC είναι ένας καθιερωμένος ογκοκαταστολέας, απαραίτητος για την ορθή λειτουργία του συμπλέγματος αποικοδόμησης της β-κατενίνης. Η επίδραση του PPAR-γ στο μονοπάτι Wnt/β-catenin φάνηκε όταν σε πρώιμα μοντέλα ποντικών APC (+/-) δεν επιδείχθηκε χημειοπροστατευτική επίδραση για τους συνδέτες PPAR-γ έναντι της κολορθικής ογκογένεσης, ενώ παρατηρήθηκε προστατευτική δράση κατά τη διάρκεια θεραπείας άγριου τύπου ποντικών με μεταλλαξιόγόνους παράγοντες.

### PPARγ – E-cadherin – β-catenin

Η αλληλεπίδραση του PPAR-γ σε αυτό το μονοπάτι επιπλέκεται περαιτέρω από την επίδρασή του στην E-Cadherin. Η E-Cadherin είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη, της οποίας η έκφραση συσχετίζεται αντίστροφα με την κακοήθεια. Η E-cadherin διαχωρίζει / συνδέει την β-catenin στην κυτταρική μεμβράνη, προλαμβάνοντας έτσι την εντόπισή της στον πυρήνα. Μελετητές πρόσφατα αναφέρουν ότι θεραπείες με σιγλιταζόνη και λινολεϊκό οξύ σε αρκετές κυτταρικές σειρές προστατικού καρκίνου



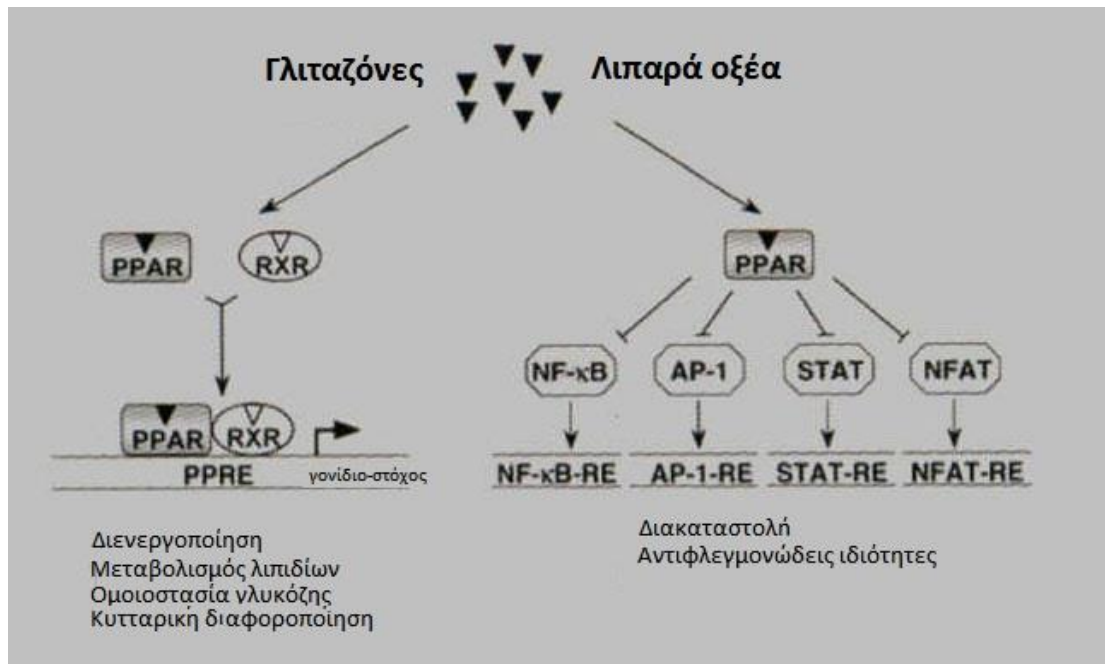
οδηγούν σε θετική ρύθμιση της E-Cadherin παράλληλα με αρνητική ρύθμιση της N-Cadherin. Τα αποτελέσματα αυτών των συνδετών, εξάλλου είναι PPAR-γ εξαρτώμενα εφόσον αντιστρέφονται από τον ανταγωνιστή του PPAR-γ, GW9662. Οδηγούν επίσης σε μια καταστολή τόσο της β-catenin όσο και της έκφρασης c-myc, υποδεικνύοντας ότι το πλήρες μονοπάτι είναι πράγματι επηρεαζόμενο από αυτές τις θεραπείες. Μια ομάδα ερευνητών έχει αποδώσει αυτό το αποτέλεσμα σε μια καταστολή του Snai1, μεταγραφικού παράγοντα, που παρατηρήθηκε σε κυτταρικές σειρές μη μικροκυτταρικού καρκινώματος πνεύμονα. Ο Snai1 καταστέλλει ευθέως τη μεταγραφή της E-Cadherin. Αυτή η καταστολή πιστεύεται ότι έχει διαμεσολαβηθεί μέσω παρεμπόδισης της πρωτεασωμικής αποδόμησής του μέσω GSK3β ή μέσω της αναστολής της ERK (372).

### **β. STAT3/NF-kappaB**

Η ικανότητα του PPAR-γ να αναστέλλει τη σηματοδότηση του Il-6/STAT3/NF-kB έχει αναφερθεί ευρέως σε ποικιλία κυτταρικών τύπων. Πρόκειται για ένα σημαντικό επιγενετικό θετικό βρόγχο ανατροφοδότησης (IL6→ STAT3→ NFKappaB→ Lin28→ Let-7→ IL6), ο οποίος έχει βρεθεί να είναι ενεργός στις μισές από τις καρκινικές κυτταρικές σειρές, που μελετήθηκαν. Ανάμεσα στα αποτελέσματα του PPAR-γ σε αυτό το μονοπάτι είναι η αναστολή προώθησης των γονιδίων στόχων του STAT3. Αυτές οι θεραπείες παρόλα αυτά δεν φαίνονται να επηρεάζουν την ικανότητα του STAT3 να ενεργοποιεί τον NF-KappaB. Η STAT3-διαμεσολαβούμενη επεξεργασία του NF-KappaB απαιτεί την ακετυλίωση του STAT3, γεγονός που ο PPAR-γ δεν φαίνεται να διακόπτει.

### **Σύνδεση των πρωτεϊνών στο STAT3**

Οι συνδέτες του PPAR-γ φαίνεται να επηρεάζουν τη σύνδεση των πρωτεϊνών στο STAT3, παρά τη φωσφορυλίωση του STAT3 (Εικ.24).



Εικ.24 PPAR $\gamma$ , STAT3 και NF-kB

### Μείωση της ικανότητας του NF-kB να προάγει γονίδια-στόχους

Οι θεραπείες με αγωνιστές του PPAR- $\gamma$  έχει επίσης παρατηρηθεί ότι μειώνουν την ικανότητα του NF-KappaB να προάγει τα γονίδια-στόχους του. Ανάμεσα σε αυτούς τους αγωνιστές, ο 15d-PGJ2 έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλει την NF-KappaB διαμεσολαβούμενη μεταγραφή, απουσία του PPAR- $\gamma$ . Αντίθετα, η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$ , από όλους τους εξετασθέντες συνδέτες φαίνεται να αναχαιτίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ NF-KappaB και των γονιδίων-στόχων του. Ένας μηχανισμός, που μπορεί να εξηγήσει αυτή τη δραστηριότητα, είναι μια συνδετοεπαγόμενη SUMO-ποίηση του PPAR- $\gamma$  με αποτέλεσμα τη σύνδεση με συμπλέγματα συγκαταστολέων, συσχετιζόμενων με NF-KappaB γονίδια-στόχους. Το γεγονός αυτό αναστέλλει τη μεταγραφή αυτών των γονιδίων αναχαιτίζοντας την αποδόμηση των συμπλεγμάτων.

### Μείωση διαθεσιμότητας μέσω PCG-1

Η ενεργοποίηση των συνδετών PPAR- $\gamma$  έχει αναφερθεί ότι προωθεί τη σύνδεσή του με PGC-1, και έτσι μειώνεται η διαθεσιμότητα αυτού του συνενεργοποιητή για σύνδεση με τον NF-kappaB. Ενώ έχει αναφερθεί ότι οι συνδέτες του PPAR- $\gamma$  μπορούν να παρεμποδίσουν την επαγωγή της IL-6 από στρωματικά κύτταρα σε κυτταρική σειρά πολλαπλού μυελώματος (υποθετικά μέσω αναστολής του NF-kappaB), τέτοιες θεραπείες δεν έχουν αναφερθεί να διακόπτουν αυτοκρινείς

βρόγχους, που περιλαμβάνουν την IL-6 σε κυτταρικές σειρές καρκινώματος.

#### **Καταστολή υποομάδας γονιδίων-στόχων**

Ο PPAR-γ μπορεί να καταστέλλει μόνο μια υποομάδα των γονιδίων – στόχων του NF-kappaB, που δεν περιέχει Lin28. Τα αποτελέσματα της αναστολής των αγωνιστών PPAR-γ σε αμφοτέρω τα STAT3 και NF-kappaB είναι γενικότερα πλαίσιο – εξαρτώμενα, αφότου η καταστολή του STAT3, μέσω τρογλιταζόνης, εξαρτάται από το επίπεδο του **SMRT**, ενώ η διακαταστολή των γονιδίων – στόχων του NF-kappaB αμβλύνεται από την απενεργοποίηση του **NCoR**.

#### **Tyk2-διαμεσολαβούμενη φωσφορυλίωση του STAT3**

Οι αγωνιστές PPAR-γ μπορούν επίσης να αναστείλουν την Tyk2-διαμεσολαβούμενη φωσφορυλίωση του STAT3, μέσω άγνωστου μηχανισμού. Αυτός ο μηχανισμός πιστεύεται ότι διαμεσολαβεί τα αποτελέσματα της αναστολής της αύξησης, που έχουν οι αγωνιστές PPAR-γ σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστώματος, σε κλινικούς προστατικούς όγκους, καθώς και σε κυτταρική σειρά καρκίνου κεφαλής και τραχήλου. Άλλες μελέτες έχουν αναδείξει ότι η έκφραση Tyk2 συμβάλλει στη μετάσταση (316).

#### **γ. Ανδρογονικός υποδοχέας**

Ως προς τον προστατικό καρκίνο, φαίνεται πως οι συνδέτες PPAR-γ παρεμβάλλονται στη σηματοδότηση του ανδρογονικού υποδοχέα.

#### **Πώς λειτουργεί**

Κατόπιν διέγερσης από ανδρογόνα, αυτός ο μεμβρανο-εξαρτώμενος πυρηνικός υποδοχέας εσωτερικεύεται και δρα ως μεταγραφικός παράγοντας για γονίδια, των οποίων οι υποκινητές περιέχουν στοιχεία υπεύθυνα ανδρογόνων. Ανάμεσα σε αυτά είναι το PSA, ένας σημαντικός δείκτης ανίχνευσης του προστατικού καρκίνου.

#### **Σχέση με PSA – τρογλιταζόνη – σιγλιταζόνη**

Ερευνητές σημείωσαν καταστολή αυτής της δραστηριότητας, όταν θεραπεία των ανδρογονο-εξαρτώμενων LNCaP κυττάρων με τρογλιταζόνη προκάλεσε χαρακτηριστική μείωση των επιπέδων PSA τους. Ομοίως, σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι ασθενείς με ανδρογονο-εξαρτώμενο προστατικό καρκίνο, όπως επίσης και μια υποομάδα ασθενών με ανδρογονοανθεκτικό προστατικό καρκίνο, είχαν πτώση των επιπέδων του PSA τους κατά τη θεραπεία με τρογλιταζόνη.

Σε μια άλλη μελέτη εν τούτοις, θεραπεία των LNCaP κυττάρων με αγωνιστές PPAR-γ, μείωσε το επίπεδο PSA, χωρίς να τροποποιήσει το πρωτεϊνικό επίπεδο του ανδρογονικού υποδοχέα. Έχει επίσης καταδειχτεί σε μελέτες ότι τόσο η

**τρογλιταζόνη** όσο και η **σιγλιταζόνη** αναχαιτίζουν την προσέλκυση του ανδρογονικού υποδοχέα σε ανδρογόνο-υπεύθυνα στοιχεία επί των υποκινητών των γονιδίων – στόχων του.

Σε ανοσοϊστοχημική μελέτη του PPAR- $\gamma$  σε κλινικά δείγματα καρκίνου του προστάτη, βρέθηκε ανάστροφη συσχέτιση μεταξύ της ανοσοθετικότητας του PPAR- $\gamma$  και των επιπέδων του PSA, υποδεικνύοντας ότι τα αποτελέσματα των συνδετών του PPAR- $\gamma$  στο PSA εξαρτώνται από τη σύνδεση αυτών των συνδετών με τον PPAR- $\gamma$  (406).

## **2.Επαληθευμένοι γενωμικοί στόχοι**

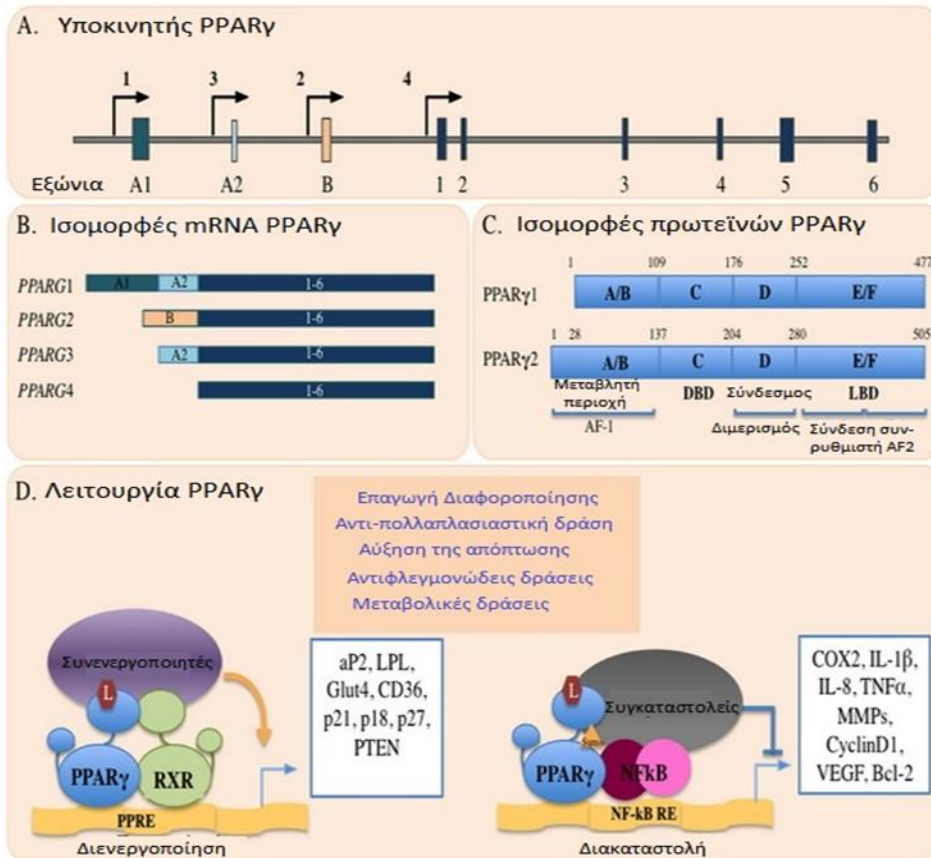
### **A.P53**

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο P53 συμβάλλει στην επαγωγή της απόπτωσης και τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Έχει αναφερθεί ότι η ροζιγλιταζόνη υποκινεί την έκφραση P53 σε μεταγραφικό επίπεδο σε MCF7 καρκινικά κύτταρα μαστού μέσω προσέλκυσης του PPAR- $\gamma$  σε μια θέση NF-KB πάνω στον υποκινητή του. Αυτή η δραστηριότητα πιθανά διαμεσολαβείται από την διακατασταλτική δραστηριότητα στα Bcl-2, survivin, IGFR, Mcl-1 και PIK3CA και τη διενεργοποίηση τέτοιων στόχων, όπως τα P21, PTFG και Gadd45 (407).

### **B.PTEN**

#### **Πώς λειτουργεί**

Ένας αντικαρκινικός μηχανισμός, που προέρχονται από τη γενωμική δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$ , είναι η ευθεία ενεργοποίηση του υποκινητή του PTEN από το ετεροδιμερές PPAR- $\gamma$  - RXR, μέσω καταστολής της Akt (Εικ.25).



Εικ.25 Σχέση του PPAR $\gamma$  και PTEN

Αν και οι μεταλλάξεις του PTEN είναι πολύ συχνές στους περισσότερους τύπους καρκίνου, ως προς τον παγκρεατικό καρκίνο έχει αναφερθεί ότι η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  στην κυτταρική σειρά PANC-1, μέσω θεραπείας με ροζιγλιταζόνη, αυξάνει το πρωτεϊνικό επίπεδο του PTEN ενώ συμβαίνει το αντίστροφο με την προσθήκη του ανταγωνιστή του PPAR- $\gamma$ , του Gw9662. Τα αποτελέσματα της καταστολής της ανάπτυξης, που προκύπτουν από τη ροζιγλιταζόνη είναι ιδιαίτερα προφανή, σχεδόν χωρίς καθόλου μετρήσιμη ανάπτυξη σε αλλομοσχεύματα, κατόπιν έναρξης της θεραπείας. Γίνεται κατανοητό ότι η καταστολή του PTEN μπορεί να αντιστραφεί μέσω ενεργοποίησης του PPAR- $\gamma$ . Ερευνητές υποδεικνύουν ότι, αν οι ρυθμοί μετάλλαξης του πληθυσμού αποδειχτούν αξιόπιστοι προγνωστικοί δείκτες επαγωγής του PTEN μέσω δραστηριότητας του PPAR- $\gamma$ , τότε καρκινώματα οισοφάγου, κεφαλής και τραχήλου, ωθητικής και πνεύμονα μπορεί να είναι δυνητικά υποψήφια για αυτό το μηχανισμό με ρυθμούς μετάλλαξης του PTEN <2% (408).

## **Προοπτική**

Εκτός από το ρόλο του ως ειδικού στόχου για αντικαρκινικές θεραπείες, ο PPAR- $\gamma$  προβάλλει τώρα ως δυνητικός βιοδείκτης πρόβλεψης της πρόγνωσης ασθενών. Η έκφραση του PPAR- $\gamma$  μπορεί επίσης να γίνει ένα χρήσιμο εργαλείο για επιλογή θεραπειών. Π.χ., η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  θα πρέπει να οδηγήσει σε θετική ρύθμιση του ABCG2, που ανταγωνίζεται αρκετά διακεκριμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

### **Πρόγνωση – πρόβλεψη φαρμακευτικής αντοχής**

Ο PPAR- $\gamma$  θα μπορούσε ίσως να ρυθμίσει επιπρόσθετες multidrug resistance proteins (MDR). Δεδομένου ότι άλλα φάρμακα είναι συνεργιστικά ως προς τη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$ , αν επιπλέον MDR πρωτεΐνες δεν επηρεάζονται από τον PPAR- $\gamma$ , τότε η έκφραση του PPAR- $\gamma$  είναι περισσότερο πιθανό να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης φαρμακευτικής αντοχής όταν συνδυάζεται με άλλους τέτοιους δείκτες.

### **Πρόγνωση – πρόβλεψη αντοχής σε ακτινοθεραπεία**

Ο PPAR- $\gamma$  μπορεί επίσης να είναι χρήσιμος ως προς την πρόβλεψη αντοχής στην ακτινοθεραπεία, καθώς αναφέρεται ότι ενεργοποιεί την Heat Shock Protein70 (Hsp70).

### **Αναστολέας έκφρασης λιποξυγενασών και προσταγλανδινών**

Η προσπάθεια για την ανάπτυξη αναστολέων σε στόχους καθοδικά των COX-1/COX-2, συμβάλλει στην κατανόηση της έκφρασης των λιποξυγενασών, ως αναστολέων, όσο και της κλινικής σημασίας των ποικίλων προσταγλανδινών, ως συνδετών PPAR- $\gamma$  για βελτιστοποίηση τέτοιων θεραπειών (316).

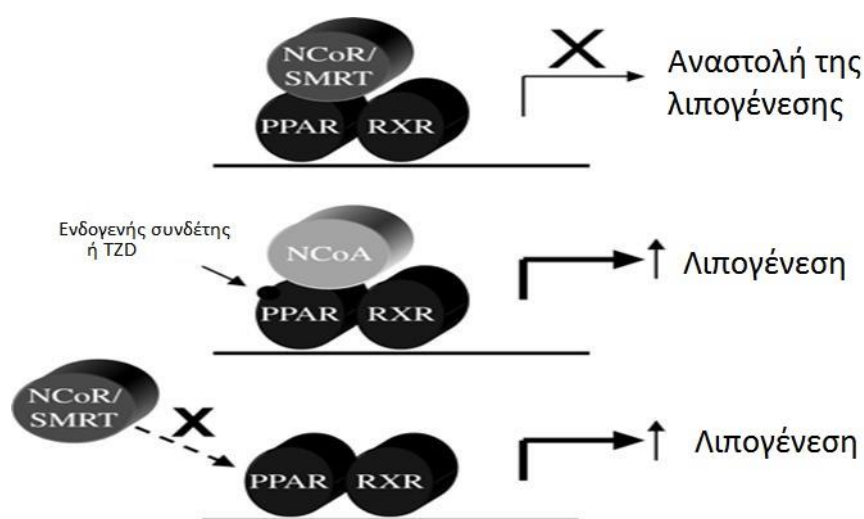
## **3.Μεταγραφική ενεργοποίηση - Καταστολή – Διακαταστολή**

**Διενεργοποίηση:** παρουσία συνδετών, ο PPAR $\gamma$  συνδέει τα συγγενή PPRE ως ετεροδιμερή με τους RXR και ενεργοποιεί την έκφραση γονιδίων.

**Διακαταστολή:** παρουσία συνδετών, η SUMOylated μορφή του υποδοχέα αλληλεπιδρά με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, όπως ο NF $\kappa$ B, και καταστέλλει τα μεταγραφικά γονίδια-στόχους τους.

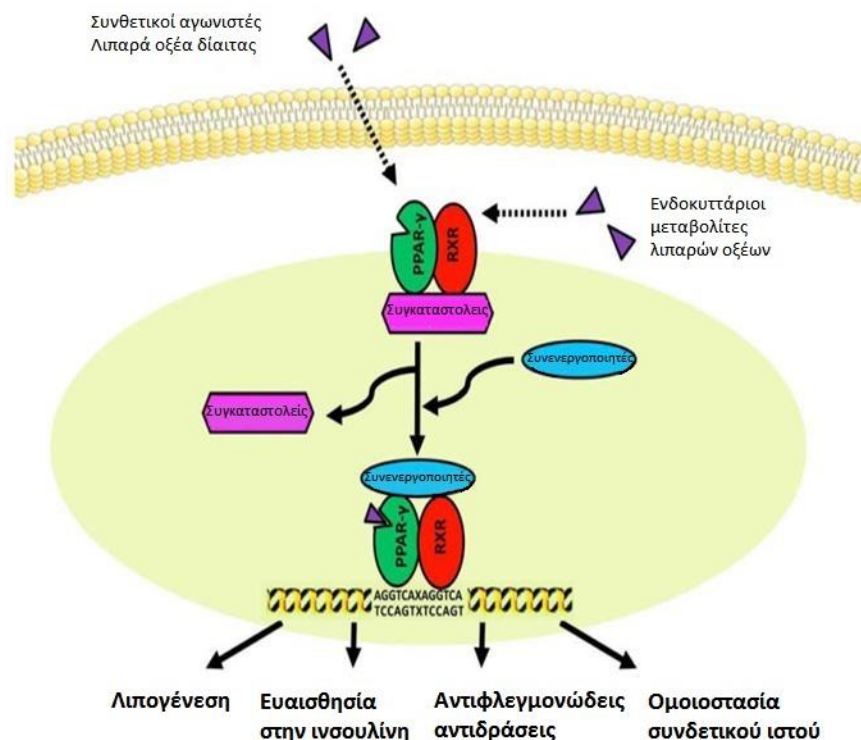
**Συνδετο-εξαρτώμενη διακαταστολή:** Ο PPAR $\gamma$  μπορεί επίσης να ρυθμίσει αρνητικά τη γονιδιακή ρύθμιση με συνδετο-εξαρτώμενο τρόπο αναστέλλοντας τις δραστηριότητες άλλων μεταγραφικών παραγόντων, όπως μέλη των οικογενειών NF $\kappa$ B και AP-1. Αντίθετα προς τη μεταγραφική ενεργοποίηση και καταστολή, η διακατασταλτική δραστηριότητα δεν περιλαμβάνει σύνδεση με τα τυπικά στοιχεία -

PPRE. Επιπλέον, απουσία συνδετών, ο PPAR $\gamma$  έχει το δυναμικό να καταστέλλει τη μεταγραφή μέσω συνδετο-ανεξάρτητης καταστολής. Στην περίπτωση αυτή, ο PPAR $\gamma$  και ο RXR συνδέονται σε μεταγραφικά συγκατασταλτικά συμπλέγματα, όπως ο Nuclear Receptor Corepressor (N-CoR) ή Silencing Mediator of Retinoid and Thyroid receptors (SMRT), που λειτουργούν ανταγωνιστικά στις δράσεις των συννεργοποιητικών συμπλεγμάτων (Εικ26).



**Εικ26. Μοντέλο της συγκατασταλτικής δράσης σε κύτταρα 3T3-L1.** Απουσία συνδέτη, ο PPAR $\gamma$  προσελκύει συγκατασταλείς, ώστε να παρεμποδίσει τη λιπογένεση. Παρουσία συνδέτη, οι συγκατασταλείς απελευθερώνονται και προσελκύονται επιπλέον συννεργοποιητές, οδηγώντας σε μεταγραφική ενεργοποίηση και στην έκφραση των ειδικών για λιποκύτταρα γονιδίων. Απουσία συγκαταστολέων, η μεταγραφική δραστηριότητα του PPAR $\gamma$  ενισχύεται επίσης, οδηγώντας και πάλι σε αυξημένη μεταγραφή των γονιδίων των λιποκυττάρων.

Οι μεταγραφικοί συννεργοποιητές και συγκατασταλείς διαθέτουν ή στρατολογούν πολυπρωτεϊνικά συμπλέγματα, συμπεριλαμβανομένων ιστονο-τροποποιητικών ενζύμων, όπως ακετυλτρανφεράσες (p300/CBP) και δεακετυλάσες (HDAC 3) ιστονών, αντίστοιχα. Η δραστηριότητα αυτών των ιστονο-τροποποιητικών ενζύμων επηρεάζει τη γονιδιακή μεταγραφή, αλλάζοντας τη δομή της χρωματίνης και έτσι ρυθμίζει την συνδεόμενη RNA πολυμεράση (Εικ27).



**Εικ27 Μοντέλο της συνδετο-επαγόμενης ενεργοποίησης του PPAR-γ.** Απουσία συνδέτη, το ετεροδιμερές PPAR/RXR προσδένεται σε μεταγραφικούς συγκαταστολείς, που εμποδίζουν τη σύνδεσή του στα PPRE. Μετά την ενεργοποίηση από τον συνδέτη, οι PPARs υφίστανται αλλαγή της διαμόρφωσης και προσελκύουν συν-ενεργοποιητές, όπως τους p300/CBP και p160, ώστε να εκτοπίσουν τους συγκαταστολείς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δέσμευση του γονιδίου στόχου στα PPRE και την επαγωγή της μεταγραφής.

#### 4.Φωσφορυλίωση

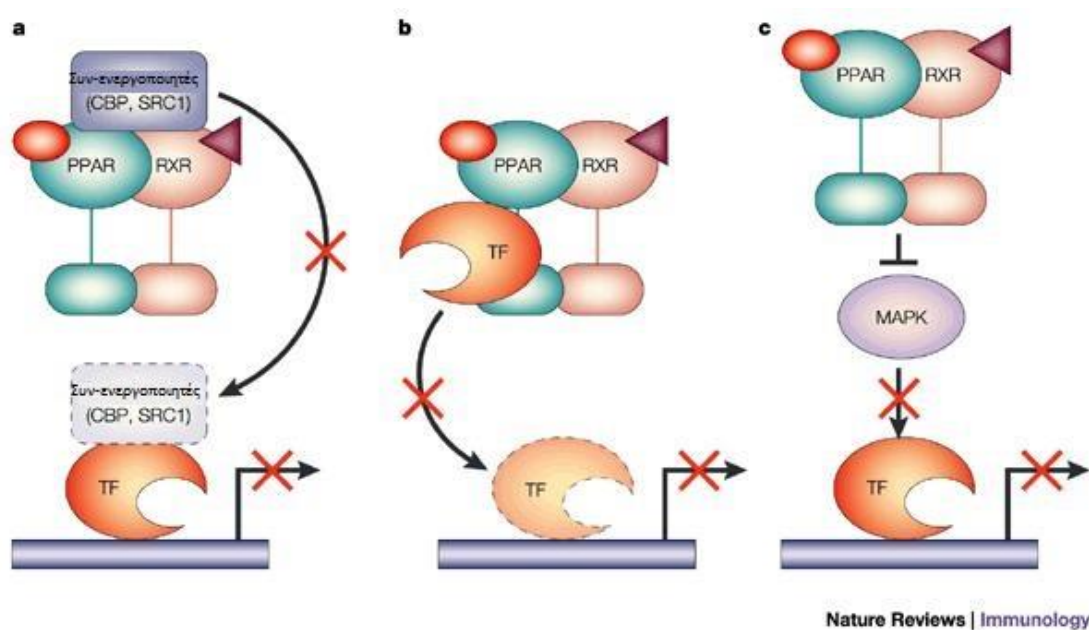
Οι PPARs είναι φωσφοπρωτεΐνες και η μεταγραφική τους δραστηριότητα επηρεάζεται από την ενδοεπικοινωνία με κινάσες και φωσφατάσες κατά συνδετο-εξαρτώμενο ή συνδετο-ανεξάρτητο τρόπο.

Η φωσφορυλίωση του PPAR-γ παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμισή του. Αυτές οι επιπτώσεις της φωσφορυλίωσης στη δραστηριότητα του υποδοχέα εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, όπως τον ισότυπο του PPAR $\gamma$ , το τροποποιημένο υπόλειμμα, το ερέθισμα και την κινάση. Η σύνδεση των συνδετών μέσω του PPAR $\gamma$  ρυθμίζεται από την ενδομοριακή επικοινωνία μεταξύ του αμινοτελικού τομέα A/B και του καρβοξυτελικού συνδεόμενου τομέα (LBD). Η τροποποίηση του τομέα A/B από την φυσιολογική φωσφορυλίωση από την κινάση MAP μειώνει τη συγγένεια υποκατάστασης και έτσι ρυθμίζει αρνητικά τις μεταγραφικές και βιολογικές λειτουργίες του PPAR $\gamma$ . Εξωκυττάρια σήματα, όπως ο επιδερμικός αυξητικός



παράγοντας (EGF) και ο PDGF διεγείρουν τη φωσφορυλίωση στη σερίνη 112 του τομέα A/B μέσω σηματοδότησης MAPK και έτσι μειώνουν τη συνδετο-εξαρτώμενη μεταγραφική δραστηριότητα του PPAR $\gamma$ . Εναλλακτικά, η θεραπεία με ινσουλίνη αυξάνει τη συνδετο-ανεξάρτητη μεταγραφική δραστηριότητα του PPAR $\gamma$  μέσω φωσφορυλίωσης, που διαμεσολαβείται από τη MAPK (409).

Θεραπεία των NIH3T3 και 293T κυττάρων είτε με EGF είτε με PDGF φάνηκε να ρυθμίζει καθοδικά τη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$ , γεγονός που αποδόθηκε: **1)** στη MAPK-διαμεσολαβούμενη φωσφορυλίωση του PPAR- $\gamma$ 1 στη Ser82 **2)** μέσω φωσφορυλίωσης του RXR (μέρους ετεροδιμερούς με τον PPAR- $\gamma$ ) κάτω από τις ίδιες συνθήκες, και **3)** μέσω διαμόλυνσης με RXR μετάλλαξη, προστατευμένης έναντι της φωσφορυλίωσης. Οι δυο τελευταίοι μηχανισμοί είναι στην πραγματικότητα συμπληρωματικοί (316) (Εικ.28).



Εικ.28 Διακατασταλτικοί μηχανισμοί των PPAR: a) ικανότητα των PPARs να ανταγωνίζονται επιτυχώς στο κύτταρο για περιοριστικά ποσά συνενεργοποιητικών πρωτεϊνών, όπως τις cAMP response element binding (CREB)-binding protein (CBP) και steroid receptor co-activator 1 (SRC1), καθιστώντας αυτούς τους συν-ενεργοποιητές μη-διαθέσιμους σε άλλους μεταγραφικούς παράγοντες b) η «διασταυρούμενη σύζευξη» ή ο «αμοιβαίος ανταγωνισμός υποδοχέα» διευκολύνεται από την ικανότητα των PPARs να συσχετίζονται φυσικά με διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες. Η συσχέτιση αυτή παρεμποδίζει το μεταγραφικό παράγοντα από τη σύνδεση στο PPRE και έτσι αναστέλλει τη δυνατότητά του να επάγει γονιδιακή έκφραση c) ο PPAR έχει τη δυνατότητα να παρεμποδίσει την ενεργοποίηση της MAP κινάσης (MAPK), αναστέλλοντας τη MAPK από τη

φωσφορυλίωση και ενεργοποιώντας καθοδικά μεταγραφικούς παράγοντες (TF), RXR και υποδοχέα 9-cis-retinoic acid.

## **10.7 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ PPAR $\gamma$ ΣΕ ΜΗ-ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΥΣ**

### **Ρόλος του PPAR $\gamma$ στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων**

Τα υψηλά επίπεδα της έκφρασης του PPAR $\gamma$  στο λιπώδη ιστό οδήγησαν στο χαρακτηρισμό του σημαντικού του ρόλου στη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων και στη ρύθμιση του μεταβολισμού των λιπιδίων. Πολλά από όσα γνωρίζουμε για το ρόλο του PPAR $\gamma$  προέρχονται από την ανακάλυψη ότι τα θειαζολινιδινεδιονικά (TZD) (αντιδιαβητικά) φάρμακα είναι στην πραγματικότητα υψηλής συγγένειας αγωνιστές συνδέτες του PPAR $\gamma$ . Στο λιπώδη ιστό του αρουραίου, οι TZDs φαίνεται να εκφράζουν την έκφραση γονιδίων – στόχων, όπως τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Η ενεργοποίησή του ευνοεί την πρόσληψη από τα λιποκύτταρα των κυκλοφορούντων λιπαρών οξέων, που οδηγούν στον καθαρό διαχωρισμό των λιπιδίων στα λιποκύτταρα (316).

### **Αντίσταση στην ινσουλίνη**

Ο ρόλος του PPAR $\gamma$  στην ανάπτυξη των λιποκυττάρων έδειξε μια πιθανή σχέση μεταξύ της δραστηριότητας του PPAR $\gamma$  και της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Η ανακάλυψη ότι ο PPAR $\gamma$  ως ο βιολογικός στόχος για τη θειαζολινιδινεδιόνη παρείχε την πρώτη ένδειξη της άμεσης μείωσης στη συστηματική αντίσταση στην ινσουλίνη των περιφερικών ιστών. Η ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$  έχει ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στον ορό σε ασθενείς με διαβήτη. Έτσι, οι αγωνιστές PPAR $\gamma$  χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πράξη ως αντιδιαβητική αγωγή (320).

### **Ρόλος στη φλεγμονή**

Επιπλέον, οι αγωνιστές PPAR $\gamma$  διακόπτουν τις δράσεις του TNF $\alpha$  σε λιποκύτταρα in vivo μέσω αναστολής της έκφρασης του TNF $\alpha$ , μιας προ-φλεγμονώδους κυτοκίνης που εκφράζεται από λιποκύτταρα, και έχουν επίσης συσχετιστεί με την αντοχή στην ινσουλίνη και τη μειωμένη μεταγωγή σήματος της ινσουλίνης. Οι ανασταλτικές δράσεις της ενεργοποίησης της δράσης του TNF $\alpha$  οδήγησε αρκετές ομάδες

ερευνητών να διερευνήσουν τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των PPAR $\gamma$  αγωνιστών. Πράγματι, οι PPAR $\gamma$  συνδέτες δεν εμποδίζουν μόνο την παραγωγή του TNF $\alpha$ , αλλά και άλλων κυτοκινών, όπως ιντερλευκίνης (IL)-1b, IL-6 και επάγουν έναν αναπαυόμενο φαινότυπο σε μακροφάγα με καθοδική ρύθμιση της παραγωγής της συνθάσης νιτρικού οξειδίου (NOS). Έτσι, ο PPAR $\gamma$  μπορεί να ενοχοποιηθεί σε πολλαπλές άλλες φλεγμονώδεις διεργασίες, καθώς εκφράζεται σε όλη την έκταση του ανοσοποιητικού συστήματος και υποδεικνύει ένα δυνητικό στόχο θεραπείας φλεγμονωδών αλλοιώσεων, όπως αθηροσκλήρωση, αρθρίτιδα και φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (320).

### **Ρόλος στην αγγειακή βιολογία**

Τελευταία, οι αγωνιστές PPAR $\gamma$  παίζουν σημαντικό ρόλο στην αγγειακή βιολογία. Οι PPAR $\gamma$  αγωνιστές (θειαζολιδινεδιόνες ή γλιταζόνες) ανταγωνίζονται τις επιδράσεις της αγγειοτενσίνης II in vivo και in vitro και έχουν καρδιαγγειακές αντι-οξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι PPAR $\gamma$  αγωνιστές μειώνουν την πίεση του αίματος και διορθώνουν την αγγειακή δομή και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε πειραματικά μοντέλα υπέρτασης (320).

## **10.8 ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PPAR- $\gamma$ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

### **10.8.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ PPAR- $\gamma$**

#### ***Εισαγωγή***

Η διαδικασία της νεοπλασματικής εξεργασίας αντιπροσωπεύει τη διαταραχή ισορροπίας μεταξύ ελέγχου κυτταρικής ανάπτυξης, απόπτωσης και τελικής διαφοροποίησης. Φαίνεται πως ο PPAR- $\gamma$  παρουσιάζει αντινεοπλασματική δράση, καθώς η ενεργοποίησή του από φυσικούς ή συνθετικούς συνδέτες οδηγεί είτε στην αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και/ή στην επαγωγή απόπτωσης ή τελικής διαφοροποίησης.

Η επαγωγή διαφοροποίησης και απόπτωσης μέσω συνδεδετών υποδοχέων πυρηνικών ορμονών (NHR) αποτελεί μια νέα θεραπευτική προσέγγιση στον καρκίνο, ειδικότερα με τη χρήση ρετινοϊκών οξέων (RAs) στη θεραπεία οξείας προμυελοκυτταρικής

λευχαιμίας, πρώιμων αλλοιώσεων καρκίνου κεφαλής και τραχήλου, πλακώδους καρκινώματος του τραχήλου και δερματικού καρκίνου.

Οι πιθανοί μηχανισμοί αντινεοπλασματικής δράσης του PPAR- $\gamma$  είναι:

#### **A. Μηχανισμοί αντι-πολλαπλασιασμού**

Σύμφωνα με μελέτες σε σειρές καρκινικών κυττάρων, ο PPAR- $\gamma$  φαίνεται να εμπλέκεται στον κυτταρικό κύκλο. Οι αγωνιστές του PPAR- $\gamma$  στοχεύουν αναστολείς της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης (Cyclin-Dependent Kinase, CDK), όπως τα P18, P21, P27 κλπ. Αυτό συμβαίνει με τους εξής τρόπους:

**-Οι αναστολείς της CDK ανακόπτουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου μέσω απενεργοποίησης του σχηματισμού συμπλεγμάτων κυκλίνης/CDK, τα οποία είναι κρίσιμα για τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης ρετινοβλαστώματος (RB1), όταν συμπλέκονται με E2F. Σε μη-φωσφορυλιωμένη κατάσταση το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος είναι αρνητικός ρυθμιστής της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου. Έχει παρατηρηθεί ότι διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη G1 φάση συμβαίνει σε σειρές παγκρεατικών νεοπλασματικών κυττάρων όταν το P21 επάγεται με γλιταζόνες. Θετική ρύθμιση του P21 επίσης παρατηρήθηκε σε σειρές παγκρεατικών νεοπλασματικών κυττάρων με τρογλιταζόνη (TGZ) (187). Επιπλέον, οι Itami και συν και Motomura και συν περιέγραψαν τη θετική ρύθμιση του P27, όχι όμως του p21 (Waf1/Cip1) σε παγκρεατικούς όγκους κατόπιν θεραπείας με έναν αγωνιστή του PPAR- $\gamma$  (188). Οι Koga και συν υπέθεσαν ότι τα p21, p27 και p18 μπορεί να εμπλέκονται σε αναστολή του επαγόμενου από τρογλιταζόνη κυτταρικού κύκλου σε ανθρώπινα κύτταρα ηπατοκυτταρικού καρκίνου (189). Με τη θετική ρύθμιση των αναστολέων της CDK, οι αγωνιστές του PPAR- $\gamma$  επάγουν τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Παρ' όλα αυτά, οι ακριβείς μηχανισμοί της αναστολής του πολλαπλασιασμού διαφέρουν μεταξύ των κυττάρων.**

Συνεπώς, πιθανολογείται, βάσει των μελετών, πως η επίδραση των αγωνιστών PPAR- $\gamma$  είναι η **προαγωγή της διακοπής του κυτταρικού κύκλου μέσω της αναστολής της δραστηριότητας της CDK** σε διάφορες σειρές νεοπλασματικών κυττάρων, όπως σε **παγκρεατικό καρκίνο (188), όγκους μαστού, μη-μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα και καρκίνο ουροδόχου κύστης**. Αγωγή με TGZ ανέστειλε την ανάπτυξη των MCF-7 καρκινικών **κυττάρων μαστού** μέσω συσσώρευσης κυττάρων στη φάση G1 (427). Παρατηρήθηκε ότι η TGZ στοχεύει αρκετούς G1 ρυθμιστές της φωσφορυλίωσης του pRb (κυκλίνη D1, CDK2, CDK4

και CDK6) και ειδικότερα την **κυκλίνη D1** (426). Επιπλέον, επαγωγή της υπερέκφρασης της κυκλίνης D1 εν μέρει προφύλαξε τα MCF-7 κύτταρα από παύση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1, λόγω διαμεσολάβησης της TGZ. Αγωγή των T24 καρκινικών κυττάρων ουροδόχου κύστης με TGZ ανέστειλε δραματικά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προκάλεσε κυτταρικό θάνατο. Αυτό συνοδεύτηκε από αυξημένη έκφραση των δυο CDKIs, της p21 και της p16 και μειωμένη έκφραση κυκλίνης D1, εύρημα συμβατό με G1 παύση (410).

Οι Shao και συν ανέφεραν ότι η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  έχει αντινεοπλασματικές δράσεις σε Ras-σχηματισμένα κύτταρα. Ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση μέσω της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου, που συσχετίστηκε με

**-αναστολή της δραστηριότητας της φωσφατιδυλοϊνοσιτολο 3'-κινάσης (PI3K)/Akt** καθώς και με μείωση της έκφρασης της κυκλίνης D1. Η PI3K/Akt είναι σημαντικός παράγοντας της Ras-σηματοδότησης και διαμεσολαβεί την πολλαπλασιαστική σήμανση σε Ha-Ras-σχηματισμένα RIE κύτταρα. Ογκογενετικές μεταλλάξεις στο **Ras** έχουν ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της PI3K/πρωτεϊνοκινάσης B. Αναστολείς της PI3K, όπως Wortmannin και LY-294002, αυξάνουν δραματικά τη δραστηριότητα του PPAR- $\gamma$ . Η διασταύρωση των μονοπατιών του PPAR- $\gamma$  και της PI3K είναι πολύ ενδιαφέρουσα και δυναμικά πολύ σημαντική (190). Οι Patel και συν ανέφεραν ότι οι PPAR- $\gamma$  αγωνιστές ρύθμισαν θετικά την

**-έκφραση της PTEN**, μιας λιπιδικής φωσφατάσης, που παίζει σημαντικό ρόλο στην διακοπή του κυτταρικού κύκλου και στην απόπτωση. Αποτελεί ένα από τα πιο συχνά μεταλλαγμένα ογκοκατασταλτικά γονίδια, που ανευρίσκονται στον καρκίνο, και μπορεί να απενεργοποιήσει την PI3K. Επειδή οι συνδέτες του PPAR- $\gamma$  BRL-49653 δεν αύξησαν την έκφραση της PTEN σε K-Ras-μετασχηματισμένα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, η αναστολή της PI3K/Akt δραστηριότητας από BRL-49653 σε IEC-iK-Ras κύτταρα μπορεί να περιλαμβάνει άλλους μηχανισμούς (428).

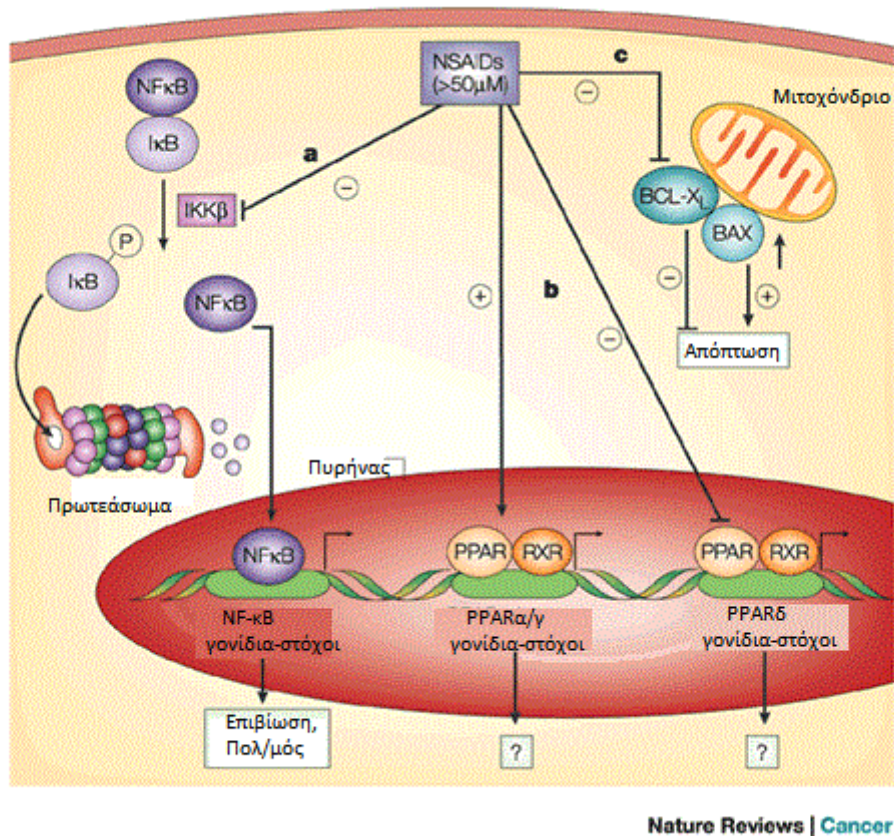
Έχει αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες ότι η ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$  μέσω ροζιγλιταζόνης ρυθμίζει ανοδικά την έκφραση του PTEN σε ανθρώπινα μακροφάγα, κύτταρα κολοορθικού καρκίνου Caco2, κύτταρα καρκίνου του μαστού MCF7, λιποκύτταρα 3T3-L1 και σκελετικά μυϊκά κύτταρα C2C12. Αυτή η ανοδική ρύθμιση συσχετίστηκε με μειωμένη δραστηριότητα της PI-3K και οι επιδράσεις των

αγωνιστών PPAR $\gamma$  στην έκφραση του PTEN εξαφανίστηκαν, είτε με προεπεξεργασία με έναν ανταγωνιστή PPAR $\gamma$ , είτε με αναστολή της έκφρασης του PPAR $\gamma$  (429). Έχει επίσης καταδειχτεί ότι οι PPAR $\gamma$  συνδέτες αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων καρκίνου του πνεύμονα μέσω αυξημένης έκφρασης των **PTEN** και **p21** (430). Σε άλλες μελέτες, η ροζιγλιταζόνη μείωσε τη φωσφορυλίωση του Akt και αύξησε την έκφραση της πρωτεΐνης PTEN σε κύτταρα μη-μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) και αυτό συσχετίστηκε με αναστολή του πολλαπλασιασμού των νεοπλασματικών κυττάρων μέσω PPAR $\gamma$ -εξαρτώμενων σημάτων (431).

### **B. Μηχανισμοί επαγωγής απόπτωσης**

Οι Elstner και συν ανέφεραν ότι έκθεση ανθρώπινων **καρκινικών κυττάρων μαστού** σε συνδυασμό με TGZ και all-*trans*-ρετινοϊκού οξέος μείωσε τη **bcl-2 πρωτεΐνη** σε σχεδόν μη ανιχνεύσιμα επίπεδα (192). Ανάλογα αποτελέσματα σημειώθηκαν σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων μαστού, όχι όμως σε φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα μαστού. Σε C6 **κύτταρα γλοιώματος**, οι Zander και συν et al περιέγραψαν θετική ρύθμιση των προαποπτωτικών **πρωτεϊνών BAX** και **BAD** και έναν λειτουργικό ρόλο της θετικής ρύθμισης του BAX για την επαγωγή του αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου. Η θετικά ρυθμισμένη έκφραση των BAX και BAD προκαλεί απόπτωση μέσω της απελευθέρωσης του **κυτοχρώματος c** και επακόλουθη ενεργοποίηση αρκετών εκτελεστικών κασπασών (193). Αντίστοιχα με αυτή την υπόθεση, οι Shimada και συν σημείωσαν κυτταρικό θάνατο και απόπτωση, κατόπιν αγωγής με TGZ σε καρκινικά κύτταρα κόλου, τα οποία εξαφανίστηκαν με αναστολές παν-κασπασών (412). Ιδιαίτερα, η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα της **caspase-3** σε **ανθρώπινα κύτταρα κακοήθους αστροκυτώματος**. Παρόλα αυτά, οι Eibl και συν βρήκαν ότι σε ανθρώπινα παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα, θεραπεία με αγωνιστές του PPAR- $\gamma$  μείωσε την κυτταρική βιωσιμότητα και ανάπτυξη (413). Αυτό εν μέρει διαμεσολαμβάνεται από την επαγωγή της ανεξάρτητης από την caspase-3 απόπτωση, επειδή ένας ειδικός αναστολέας της caspase-3 δεν προστάτευσε αυτές τις κυτταρικές σειρές από την επαγόμενη από PPAR- $\gamma$  αγωνιστές απόπτωση, γεγονός που έκανε ο pan-caspase αναστολέας ZVAD-FMK. Σε σειρές ανθρώπινων καρκινικών ηπατοκυττάρων η TGZ προκάλεσε την ενεργοποίηση της caspase-3, αλλά όχι της caspase-8.

Ωστόσο, τα επίπεδα έκφρασης του αντιαποπτωτικού παράγοντα bcl-2 και της απόπτωσης, που παράγει τον παράγοντα BAX, εν γένει δεν επηρεάστηκαν. Επίσης οι Ohta και συν δεν παρατήρησαν αύξηση της BAX πρωτεΐνης σε **ανθρώπινα καρκινικά θυρεοειδικά κύτταρα** κατόπιν αγωγής με γλιταζόνες (Εικ.29).



Nature Reviews | Cancer

Εικ.29. PPARγ και BAX

Ειδικότερα, οι ερευνητές αυτοί ανέφεραν ότι στα **κύτταρα καρκίνου θυρεοειδούς** η έκφραση του PPARγ συσχετίστηκε με την ευαισθησία των TDZ και 15d-PGJ2 (414). Τα κύτταρα καρκίνου του θυρεοειδούς, που δεν εξέφρασαν τον PPARγ, δεν παρουσίασαν αναστολή αύξησης με τις TDZ και 15d-PGJ2. Ο κυτταρικός θάνατος, που παρατηρήθηκε στα κύτταρα καρκίνου του θυρεοειδούς φαίνεται να οφείλεται στην απόπτωση, δεδομένου ότι συνδέεται για τον PPARγ επάγουν πυκνωση του πυρήνα και κατάτμηση της χρωματίνης σε νουκλεοσωμάτια. Σε μια άλλη μελέτη, οι Martelli και συν κατέδειξαν ότι η σιγλιταζόνη ήταν αποτελεσματική στη μείωση της αύξησης των κυττάρων καρκίνου του θυρεοειδούς, που εξέφρασαν τον PPARγ, αλλά όχι των κυττάρων, που δεν τον εξέφρασαν (432). Παρόλα αυτά, η εισαγωγή του άγριου τύπου PPARγ σε PPARγ-στερούμενα κύτταρα μετέτρεψε τα κύτταρα αυτά σε ευαίσθητα στη σιγλιταζόνη. Επιπλέον, η υπερέκφραση του PPARγ αύξησε σημαντικά

την απόπτωση, συγκρινόμενη με κύτταρα διαμολυσμένα με άδειο ή μη-λειτουργικό PPAR $\gamma$  cDNA. Τα ευρήματα αυτά, υποδεικνύουν μια **PPAR $\gamma$ -εξαρτώμενη απόπτωση** από PPAR $\gamma$  συνδέτες σε κύτταρα θυρεοειδικού καρκινώματος.

Οι Shimada και συν δεν βρήκαν ιδιαίτερες διαφορές στα επίπεδα m-RNA των γονιδίων της bcl-2 οικογένειας σε HT-29 **καρκινικά κύτταρα κόλου** κατόπιν επώασης με 15d-PGJ2 ή TGZ (412). Αναφέρουν ότι η επαγόμενη από PPAR- $\gamma$  συνδέτη απόπτωση συσχετίστηκε με την αρνητική ρύθμιση της έκφρασης του **c-myc**, και τη θετική ρύθμιση έκφρασης των **c-jun** και **gadd153**. Επίσης, παρατήρησαν ότι την επαγόμενη από PPAR- $\gamma$  συνδέτη απόπτωση ανταγωνίστηκε η διαμεσολαβούμενη μέσω PI3K σηματοδότηση.

Η **TRAIL** είναι μέλος της TNF-οικογένειας των κυτοκινών, που προκαλεί απόπτωση. Η TRAIL συνήθως καταστρέφει τα καρκινικά κύτταρα ενώ σέβεται τους φυσιολογικούς ιστούς. Ποικίλοι φυσικοί και τεχνητοί PPAR- $\gamma$  συνδέτες ευαισθητοποιούν τα καρκινικά, όχι όμως τα φυσιολογικά κύτταρα, σε απόπτωση TRAIL (268). Οι PPAR- $\gamma$  συνδέτες μειώνουν επιλεκτικά τα επίπεδα της FLICE-ανασταλτικής πρωτεΐνης (FLIP), μιας πρωτεΐνης, που καταστέλλει την απόπτωση και ανακόπτει τα πρώιμα γεγονότα στη σήμανση του υποδοχέα θανάτου της TRAIL/TNF οικογένειας. Οι PPAR- $\gamma$  προσαρμοστές επάγουν ουβικουϊτινοποίηση και την πρωτεασωματική εξαρτώμενη αποδόμηση του FLIP χωρίς επακόλουθες μειώσεις του FLIP mRNA. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι αρκετά αποπτωτικά μονοπάτια μπορούν να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο ως απάντηση στην ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  (415).

Πρόσφατα, οι Bonofiglio και συν περιέγραψαν ένα νέο μοριακό μηχανισμό με τον οποίο η ροζιγλιταζόνη επάγει απόπτωση σε **κύτταρα καρκίνου του μαστού** (416). Στη μελέτη αυτή, έδειξαν ότι η ροζιγλιταζόνη ενίσχυσε την έκφραση της **FasL**, μιας τρανς-μεμβρανικής πρωτεΐνης, που επάγει απόπτωση μέσω διασταύρωσης με τον υποδοχέα Fas. Ο ρόλος των μονοπατιών PPAR $\gamma$  και Fas/FasL στα ροζιγλιταζονο-επαγόμενα αποπτωτικά γεγονότα αξιολογήθηκε μέσω της caspase 8, παρουσία ειδικών ανταγωνιστών PPAR $\gamma$  και τμημάτων RNA PPAR $\gamma$  και FasL. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι ο PPAR $\gamma$  ρυθμίζει θετικά την έκφραση FasL σε απάντηση στη ροζιγλιταζόνη. Επιπλέον, φαίνεται να υπάρχει ένας κοινός μηχανισμός σε κύτταρα καρκίνου του μαστού, αφού απαντάται σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων καρκίνου του μαστού. Παρόλα αυτά, οι μελέτες αποκάλυψαν ότι η επαγωγή της απόπτωσης



μέσω PPAR $\gamma$  αγωνιστών είναι κυτταρικού τύπου εξαρτώμενη και δεν μπορεί πάντα να αποδοθούν στην ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$ .

### ***Γ. Μηχανισμοί επαγωγής διαφοροποίησης***

Ο PPAR- $\gamma$  προκαλεί *in vitro* και *in vivo* τελική διαφοροποίηση ανθρώπινων κυττάρων **πρωτοπαθούς λιποσαρκώματος**, χαρακτηριζόμενη από συσσώρευση ενδοκυττάρων λιπιδίων και επαγωγή γονιδίων, ειδικών για λιποκύτταρα (417). Σε ανθρώπινο **καρκίνο μαστού**, η ενεργοποίηση του συνδέτη του PPAR- $\gamma$  προκαλεί εκτεταμένη συσσώρευση λιπιδίων και αλλαγές στην έκφραση επιθηλιακών γονιδίων προς την κατεύθυνση πιο διαφοροποιημένου και λιγότερο κακοήθους φαινότυπου (433). Σε σειρές **καρκινικών κυττάρων παγκρέατος**, οι PPAR- $\gamma$  αγωνιστές επάγουν τη θετική ρύθμιση διαφόρων δεικτών διαφοροποίησης, όπως τα CEA, E-cadherin και αλκαλική φωσφατάση (418). Σε **κακοήθη κύτταρα γλοιώματος** αρουραίου και ανθρώπου, η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$ , όχι μόνο έχει ως αποτέλεσμα την απόπτωση, αλλά επάγει και την προσωρινή έκφραση του δείκτη επαναδιαφοροποίησης γλοιώματος, της N-cadherin, η οποία συνοδεύεται από αύξηση των αστεροειδών τύπου-αστροκυττάρων αποφυάδων σε μικρή υποομάδα κακοήθων κυττάρων (419). Σε T24 **σειρές καρκινικών κυττάρων ουροδόχου κύστης**, η TGZ επάγει ένα ενδογενές γονίδιο-στόχο του PPAR- $\gamma$ , την Adipocyte-type Fatty Acid Binding Protein (**A-FABP**), η έκφραση του οποίου συσχετίζεται με διαφοροποίηση (410). Σε **κυτταρική σειρά LA-N-5** ανθρώπινου **νευροβλαστώματος**, ο φυσικός συνδέτης του PPAR- $\gamma$ , 15PG-J2, καθώς και ο συνθετικός αγωνιστής του PPAR- $\gamma$ , GW1929, μπορούν να διεγείρουν τη διαφοροποίηση κυττάρων νευροβλαστώματος (420). Αυτό αποδεικνύεται με την αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την αύξηση των νευριτικών αποφυάδων, την αυξημένη δραστηριότητα ακετυλχοληστερινάσης και τη μείωση της έκφρασης του N-myc. Η έκφραση αυτού του υποδοχέα συσχετίζεται με το στάδιο ωρίμανσης των κυττάρων νευροβλαστώματος. Σε **σειρές μη-μικροκυτταρικού καρκινώματος**, αγωγή με συνδέτες του PPAR- $\gamma$ , παρουσία ορού, είχε ως αποτέλεσμα τη μη αναστρέψιμη απώλεια της ικανότητας υποστρωματο - εξαρτώμενης αύξησης, μειωμένη δραστηριότητα και έκφραση πολλών δεικτών με τρόπο αντίστοιχο προς τη διαφοροποίηση. Ειδικότερα, υπήρξε θετική ρύθμιση γενικών δεικτών διαφοροποίησης και επαγωγή του **HTI56**, έναν δείκτη τελικής

διαφοροποίησης τύπου I πνευμονοκυττάρων (421). Οι ανωτέρω παρατηρήσεις είναι συμβατές με πιο ώριμο και λιγότερο κακοήθη φαινότυπο.

#### **Δ. Αναστολή αγγειογένεσης**

Η αγγειογένεση, δηλαδή ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων, εκτός από φυσιολογικές διεργασίες, όπως εμβρυική ανάπτυξη, ωορρηξία και επούλωση τραύματος, εμπλέκεται και σε παθολογικές καταστάσεις, όπως στην ανάπτυξη συμπαγούς όγκου, διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και σχετιζόμενη με την ηλικία εκφύλιση ωχράς κηλίδας. Η αγγειογένεση ελέγχεται κυρίως από μέλη της οικογένειας αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και τους υποδοχείς τους (VEGFR), οι οποίοι φαίνεται να αποτελούν τους βασικούς διαμεσολαβητές.

Η ανάπτυξη συμπαγών όγκων και χορήγησης μετάστασης εξαρτώνται από την αγγειογένεση. Η αντιαγγειογενετική θεραπεία μπορεί να είναι αποτελεσματική στη διατήρηση μακρόχρονης ύφεσης σε ασθενείς με προχωρημένη μεταστατική νόσο, ανθεκτική σε άλλους τύπους θεραπείας.

Τα PPAR- $\gamma$  knockout έμβρυα ποντικού πεθαίνουν τη 10<sup>η</sup> μέρα ζωής, λόγω αλληλεπίδρασης/ παρέμβασης με το πρότυπο τελικής διαφοροποίησης των τροφοβλαστών, καθώς επίσης και με την αγγείωση του πλακούντα. Επιπλέον μελέτες αποκάλυψαν ότι η ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  με φυσικούς ή συνθετικούς συνδέτες μπορεί να αναστείλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, να επάγει την απόπτωσή τους, να αναστείλει τη μετανάστευση των VEGF-επαγόμενων ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro* και να καταστείλει την VEGF-επαγόμενη αγγειογένεση *in vivo* (422).

Οι **PPAR $\gamma$  αγωνιστές αναστέλλουν** την Fibroblast Growth Factor-2- (**FGF2**) και Vascular Endothelial Growth Factor(**VEGFR**)- διεγερόμενη ανάπτυξη. Η ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$  από γλιταζόνες επάγει την έκφραση του PPAR $\gamma$  σε νεοπλασματικά ενδοθηλιακά κύτταρα και αναστέλλει την αγγειογένεση τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Επιπλέον, η συνδετο-διαμεσολαβούμενη ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$  έχει ως αποτέλεσμα τη δυναμική αναστολή της ενδοθηλιακής διαφοροποίησης σε σωληνοειδείς δομές *in vitro* και καταστολή της VEGF-επαγόμενης αγγειογένεσης *in vivo*. Επιπλέον, η ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$ , μέσω της 15d-PGJ2, αναστέλλει επίσης την έκφραση τουλάχιστον τριών σημαντικών γονιδίων της αγγειογενετικής διαδικασίας τους, των **VEGF-R1 (Flt-1)**, **VEGF-R2 (Flk/KDR)** και **urokinase plasminogen activator (uPA)** (423).

Περαιτέρω μελέτες αποκάλυψαν ότι ο PPAR $\gamma$  επηρεάζει επίσης την αγγειογένεση μέσω πολλαπλασιασμού της λεπτίνης σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα.

**Η λεπτίνη**, το προϊόν του γονιδίου *ob*, λειτουργεί ως δυναμικός επαγωγέας αγγειογένεσης, που υποκινεί τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και την κυτταρική επιβίωση μέσω ενεργοποίησης του PI3K/Akt/NOS. Έχει αναφερθεί ότι η ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$ , μέσω TZDs, ρυθμίζει καθοδικά το επίπεδο της λεπτίνης, *in vitro* και *in vivo* (424) και εμποδίζει την λεπτινο-διεγερόμενη μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω αναστολής των Akt και eNOS (425).

#### ***E. Αντι-ογκογόνες επιδράσεις διαμεσολαβούμενες μέσω PPAR $\gamma$ -ανεξάρτητων μονοπατιών***

Μεγάλος αριθμός μελετών έχει αναφερθεί στις ποικίλες επιδράσεις των PPAR $\gamma$  αγωνιστών στην αύξηση, εξέλιξη και μετάσταση του όγκου. Παρόλα αυτά, φαίνεται πως μερικά από τα αντιογκογόνα αποτελέσματα δεν είναι εξ ολοκλήρου ή μερικώς PPAR $\gamma$ -εξαρτώμενα αλλά περισσότερο PPAR $\gamma$ -ανεξάρτητα.

Διάφορες μελέτες, όπως κυττάρων καρκίνου του προστάτη και της ουροδόχου κύστης, αναφέρουν ότι, κατόπιν χορήγησης TZDs, ανέστειλαν την αύξηση του όγκου κατά έναν PPAR $\gamma$ -ανεξάρτητο τρόπο, λόγω υψηλών επιπέδων της προσταγλανδίνης E2 (PGE2), ως επακόλουθο επαγωγής της κυκλοοξυγενάσης (COX-2), καθώς και λόγω επαγωγής φωσφορυλίωσης της MAP κινάσης (MAPK) (434). Άλλοι ερευνητές, με αντίστοιχα ευρήματα, αποδιδόμενα σε PPAR $\gamma$ -ανεξάρτητους μηχανισμούς, υποδεικνύουν ως εμπλεκόμενα μόρια τα Bcl-2 και Bcl-xL σε κύτταρα καρκίνου του μαστού (435), όγκους υπόφυσης από αλλομοσχεύματα ζωικών μοντέλων (436) και κύτταρα γλοιώματος (193), και τα γονίδια *c-myc*, *c-jun* και *gadd153* σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου (437), καθώς και τους παράγοντες TNF και NF- $\kappa$ B (438). Πρόσφατη αναφορά επισημαίνει ότι ειδικοί τύποι όγκων και το μοναδικό μικροπεριβάλλον του όγκου συμπεριφέρονται διαφορετικά στην ενεργοποίηση ή αναστολή του PPAR $\gamma$  (439).

## 10.8.2 ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PPAR $\gamma$ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

### PPAR $\gamma$ και PPAR $\gamma$ -αγωνιστές

Ανάμεσα σε αρκετούς συμπαγείς όγκους, ο PPAR $\gamma$  εκφράζεται στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και το επίπεδο της έκφρασής του συσχετίζεται με το βαθμό και το στάδιο του όγκου (271).

### A-FABP

Πρώιμες μελέτες έχουν αναφέρει ότι οι PPAR $\gamma$  αγωνιστές παίζουν σημαντικό ρόλο στην επαγωγή της διαφοροποίησης σε ουροθηλιακά καρκινώματα και της επιβίωσης μέσω αυξανόμενης έκφρασης των πρωτεϊνών A-FAB (Adipocyte-type Fatty Binding proteins) (274). Ο PPAR $\gamma$  αλληλεπιδρά ευθέως με τις A-FABP και η απώλεια του PPAR $\gamma$  έχει καταδειχτεί ότι συσχετίζεται με την εξέλιξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης (270).

Η φλεγμονώδης διεργασία θα μπορούσε να παράγει ευνοϊκό μικροπεριβάλλον για μια λανθάνουσα βλάβη του DNA, ώστε να προχωρήσει η καρκινογένεση, η οποία περιλαμβάνει απελευθερούμενους αυξητικούς παράγοντες και παράγοντες επιβίωσης, που προάγουν την αγγειογένεση, δεν οδηγούνται σε απόπτωση, αναστρέφουν την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή και επαναδομούν το μικροπεριβάλλον, ώστε να διευκολυνθεί η μετανάστευση και μετάσταση του όγκου (320).

### Γονιδιακός πολυμορφισμός

Στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης ο γονιδιακός πολυμορφισμός σε γονίδια, που ρυθμίζουν τη φλεγμονώδη διεργασία, όπως η IL-6 και ο PPAR $\gamma$ , συσχετίζεται με κίνδυνο υποτροπής, εξέλιξη και επιβίωση (441). Ασθενείς με παραλλαγές αλληλόμορφων PPAR $\gamma$  (Single Nucleotide Polymorphism-Pro12Ala) έδειξαν μειωμένη δραστηριότητα του υποδοχέα PPAR $\gamma$  και συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και εξέλιξης καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Η μειωμένη δραστηριότητα του PPAR $\gamma$ , που οφείλεται στις παραλλαγές αλληλόμορφων, οδηγεί σε μειωμένη αντι-φλεγμονώδη και αντι-πολλαπλασιαστική δραστηριότητα και έτσι μπορεί να εξασφαλίσει ευνοϊκές συνθήκες για ανάπτυξη του όγκου (441).

## **PPAR $\gamma$ και BCG**

Σε πρόσφατες μελέτες έχει καταδειχτεί ότι κύτταρα όγκου ουροδόχου κύστης, στα οποία η έκφραση του PPAR $\gamma$  ήταν ασθενής ή απύσασ, η πρότυπη θεραπεία με BCG (Bacillus Calmette-Guerin) προκάλεσε την επαγωγή κυτταροπλασματικής έκφρασης του PPAR $\gamma$  (443). Επιπλέον, έχει διερευνηθεί ο υποσχόμενος μηχανισμός του BCG, που θεραπεύει το επιφανειακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης (444). Στη μελέτη αυτή, οι Seban και συν καθόρισαν τη διαφορική γονιδιακή έκφραση στην ουροδόχο κύστη ποντικού κατόπιν χρόνιας ενδοκυστεκτικής θεραπείας με BCG. Αξιοσημείωτη είναι η παρατήρηση ότι τα γονιδιακά δίκτυα ειδικής θεραπείας με BCG αλληλοεπικαλύπτονταν με αρκετά κανονικά σηματοδοτικά μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένου του PPAR $\gamma$ .

## **PPAR $\gamma$ και αγγειογενετικά φάρμακα**

Λόγω του αγγειακού φαινότυπου του καρκίνου της ουροδόχου κύστης, ο PPAR $\gamma$  μπορεί να στοχεύσει τη νεοαγγειογένεση του όγκου, καθώς έχει φανεί ότι ανταποκρίνεται καλά στα αγγειογενετικά φάρμακα (445). Σε μελέτη των Possati et al, η έκφραση του PDECGF (Platelet Derived Endothelial Cell Growth Factor), ενός αγγειογενετικού παράγοντα, συσχετίστηκε με την υποτροπή καρκίνου της ουροδόχου κύστης και πτώχή πρόγνωση (446). Παρόλα αυτά, η συνυπάρχουσα έκφραση του PPAR $\gamma$  συσχετίστηκε με σημαντικά χαμηλή επίπτωση στην υποτροπή του όγκου ή στην εξέλιξη, υποδεικνύοντας μια προστατευτική δράση του PPAR $\gamma$  σε σχέση με τον PDECGF.

Η συνδυασμένη θεραπεία ενάντια στον καρκίνο, που περιλαμβάνει τον συνδυασμό PPAR $\gamma$  αγωνιστών και άλλων παραγόντων, φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική από τη χρήση ενός παράγοντα μόνο (447). Επιπλέον, μερικές μελέτες υποδεικνύουν μια διασταυρούμενη στιχομυθία μεταξύ μονοπατιών σηματοδότησης του PPAR $\gamma$  και EGFR (448).

## 11. ΝΕΟΤΕΡΟΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

### Οικογένεια BCL2 / Bax και απόπτωση

Η οικογένεια Bcl-2 αποτελείται από προ-αποπτωτικές (Bax και Bad) και αντι-αποπτωτικές (Bcl-2) πρωτεΐνες, που ρυθμίζουν την ακεραιότητα της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, την απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c* και ενεργοποίηση της κασπάσης, που οδηγεί στην απόπτωση (313, 440). Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι με την ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/Akt η έκφραση της οικογένειας Bcl-2 αυξήθηκε και η Akt αναστέλλει την απόπτωση μέσω μιτοχονδριακών μονοπατιών. Μετατοπίζοντας την ισορροπία προς προ-αποπτωτικά αποτελέσματα, τα μέλη της οικογένειας Bcl-2 ενεργοποιούν την caspase-3 (πρωτεάση, που ανήκει στον καταρράκτη των κασπασών και εμπλέκεται στην απόπτωση) και έτσι εκτελείται το πρόγραμμα της απόπτωσης (370, 450).

### MLH1

Το MLH1 είναι ένα από τα δυο γονίδια – εντολείς (MSH2 και MLH1) του ανθρώπινου συστήματος επιδιόρθωσης λαθεμένου ζευγαρώματος του DNA (MMR) κατά τη διάρκεια της αντιγραφής (322). Η απενεργοποίηση των γονιδίων, που κωδικοποιούν το σύστημα MMR και οι επακόλουθες απώλειες στις πρωτεΐνες MLH1 και MSH2 έχουν ως αποτέλεσμα μια μεγάλη αύξηση της αυθόρμητης μεταλλαξιμότητας, που οδηγεί σε ανάπτυξη της μικροδορυφορικής αστάθειας και της κακοήθειας (351, 367).

### Τελομεράση

Η τελομεράση είναι ένα μεγάλο ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλεγμα, που σταθεροποιεί και επεκτείνει τα τελομερή των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων, ρυθμίζοντας το αντιγραφικό δυναμικό και το μέσο όρο ζωής του κυττάρου. Η δομή του τελομερούς μπορεί να διασπαστεί λόγω ευθείας ζημιάς, κρίσιμης βράχυνσης ή λόγω ανωμαλιών σε σχετιζόμενες με το τελομερές πρωτεΐνες (452). Γενικά, τα φυσιολογικά με άθικτα τα p53 και pRB σημεία ελέγχου ανταποκρίνονται στην ύπαρξη ενός δυσλειτουργικού τελομερούς με το να υποστούν κυτταρική γήρανση, κάτι το οποίο μπορεί να συμβάλλει σε διάφορους φαινότυπους γήρανσης. Αν μόνο το p53 σημείο ελέγχου είναι άθικτο, η τελομερική δυσλειτουργία γενικά προάγει τον

κυτταρικό θάνατο, μεσολαβούντος του p53. Στις περιπτώσεις όπου υπάρχει απώλεια της λειτουργίας των p53 και pRB, τα κύτταρα μπορεί να επιζήσουν με γενωμικές αναδιατάξεις και αστάθεια, που μπορούν να οδηγήσουν σε καρκίνο (451).

Η ανθρώπινη τελομεράση αποτελείται από μια RNA υπομονάδα και αρκετά πρωτεϊνικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένης της καταλυτικής υπομονάδας του συμπλέγματος της τελομεράσης ( **hTERT**), η οποία θεωρείται ότι είναι το ενεργό συστατικό του συμπλέγματος (452). Η ενεργοποίηση της τελομεράσης συσχετίστηκε με την αθανатоποίηση των νεοπλασματικών κυττάρων ενώ η αναστολή της έχει εμπλακεί με την κυτταρική γήρανση και απόπτωση. Η hTERT, ειδικότερα, θεωρείται ότι επιδεικνύει έναν αντιαποπτωτικό ρόλο, όπως έχει επιδειχθεί σε αρκετές κυτταρικές σειρές, π.χ. σε καρδιακά μυϊκά κύτταρα, ανθρώπινα εμβρυικά νεφρικά και ενδοθηλιακά κύτταρα ή αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. Ο ρόλος αυτός αποδίδεται, έστω μερικά, στην αλληλεπίδραση της πυρηνικής hTERT με την πρωτεΐνη σήματος βλάβης του DNA, την PARP, και τη συμμετοχή της στην υποστήριξη της ακεραιότητας του γονιδιώματος (453).

Τα φυσιολογικά σωματικά ανθρώπινα κύτταρα με εξαίρεση τα γεννητικά κύτταρα και τα αρχέγονα κύτταρα των ιστών, που αναγεννώνται δεν έχουν ανιχνεύσιμη δραστικότητα τελομεράσης. Αντίθετα, σχεδόν όλοι οι κακοήθεις όγκοι εκφράζουν δραστικότητα τελομεράσης. Έτσι, έχει υποτεθεί ότι η σταθεροποίηση των τελομερών μπορεί να απαιτείται από τα κύτταρα ώστε να διαφύγουν του εξαναγκασμού του θανάσιμου φαινοτύπου τους και ότι η δραστικότητα της τελομεράσης είναι πιθανώς ένα ρυθμοκαθοριστικό και όχι το κρίσιμο βήμα, που απαιτείται για την ανάπτυξη και το συνεχιζόμενο πολλαπλασιασμό των όγκων (454).

Όσον αφορά την καταλυτική υπομονάδα της τελομεράσης hTERT, μελετάται η έκφραση του mRNA καθώς και η έκφραση τη πρωτεΐνης hTERT. Οι Kolquist και συν (455) βρήκαν ότι το mRNA της hTERT ανιχνεύθηκε σε κύτταρα, που έχουν μακροπρόθεσμη πολλαπλασιαστική ικανότητα, όπως τα πρόδρομα αιμοποιητικά κύτταρα, λεμφοκύτταρα βλαστικού κέντρου, σπερματογόνια, καθώς και σε ορισμένα κύτταρα ενεργώς αναγεννώμενα, όπως η βασική στιβάδα του δέρματος. Η σχέση μεταξύ της έκφρασης της καταλυτικής υπομονάδας hTERT με την καρκινική εξέλιξη μελετήθηκε αναλύοντας τα επίπεδα του mRNA της hTERT σε αλλοιώσεις από μαστό, κόλον και τράχηλο (455,456). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ανιχνεύθηκαν υψηλά επίπεδα mRNA παρόμοια αυτών που παρατηρούνται σε υψηλού βαθμού επιθηλιακή δυσπλασία καθώς και σε διηθητικά και μεταστατικά καρκινώματα.

Έχει δειχθεί σε μελέτη ότι η πυρηνική εντόπιση της πρωτεΐνης hTERT (αντίστροφη μεταγραφάση της τελομεράσης) σχετίζεται με βελτιωμένη ολική επιβίωση ασθενών με ουροθηλιακό καρκίνο της κύστης (369).



## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## I. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη, σε πρωτεϊνικό επίπεδο, των κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) και υποδοχέα ενεργοποίησης της υπερπλασίας των υπεροξυσωμάτων γ (PPARγ) σε ουροθηλιακά καρκινώματα ουροδόχου κύστης. Για την εντόπιση των πρωτεϊνών εφαρμόστηκε ανοσοϊστοχημική μέθοδος τριών βημάτων. Η έκφραση των ανωτέρω δεικτών υποβλήθηκε σε στατιστική ανάλυση για τη διερεύνηση της σχέσης τους με α) τις γνωστές κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους του ουροθηλιακού καρκίνου (ηλικία, φύλο, βαθμός κακοήθειας, στάδιο νόσου), β) νεότερους βιολογικούς δείκτες, όπως ανοσοϊστοχημική έκφραση δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού, απόπτωσης, διαφοροποίησης και επιδιόρθωσης (Ki-67, caspase-3, πρωτεΐνη bax, MLH1, hTERT, bcl-2, p53) και γ) την ολική επιβίωση των ασθενών. Οι πληροφορίες για τους νεότερους προγνωστικούς δείκτες προέκυψαν από την αρχειακή βάση δεδομένων του ερευνητικού εργαστηρίου της Καθηγήτριας κ. Νακοπούλου. Τα ευρήματα, που προέκυψαν, σχολιάζονται σε σχέση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα με στόχο την εκτίμηση της επίδρασης των μελετώμενων δεικτών στη διαφοροποίηση, αποπτωτικό δυναμικό και πρόγνωση του ουροθηλιακού καρκίνου.

## II. ΥΛΙΚΟ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 134 ασθενείς με ουροθηλιακό καρκίνωμα ουροδόχου κύστης, οι οποίοι χειρουργήθηκαν στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό».

Τα χειρουργικά παρασκευάσματα μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα ουδέτερης φορμαλδεΰδης 10%, τα δε ιστικά δείγματα που ελήφθησαν για παθολογοανατομική εξέταση σκηνώθηκαν σε παραφίνη. Η μικροσκοπική εξέταση πραγματοποιήθηκε με χρώσεις αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Τα ιστολογικά δείγματα ταξινομήθηκαν και οι όγκοι από μεταβατικό επιθήλιο κατατάχθηκαν σύμφωνα με τα κριτήρια του WHO/ISUP (1998). Οι όγκοι, ανεξάρτητα από τη θηλώδη τους διαμόρφωση, ταξινομήθηκαν ανάλογα με το βαθμό διαφοροποίησης σύμφωνα με το τριτοβάθμιο σχήμα του Mostofi που υιοθετήθηκε από το American Bladder Tumor Registry και το οποίο αναγνωρίζει τρεις ιστολογικούς βαθμούς κακοήθειας [Grade 1 (καλής διαφοροποίησης) - 29 περιπτώσεις, Grade 2 (μέτριας διαφοροποίησης) - 42 περιπτώσεις, Grade 3 (πτωχής διαφοροποίησης) - 63 περιπτώσεις] (Πίνακας 1.1).

Η σταδιοποίηση των καρκινωμάτων έγινε σύμφωνα με το TNM σύστημα της Διεθνούς Ένωσης κατά του Καρκίνου (TNM System of the International Union against Cancer, 1999). Η σταδιοποίηση του όγκου πραγματοποιήθηκε βασισμένη στα αποτελέσματα του υπερηχογραφικού ελέγχου, της ενδοφλέβιας πυελογραφίας (όπου χρειαζόταν), υπολογιστικής τομογραφίας, αμφίχειρης κλινικής εξέτασης υπό αναισθησία και διουρηθρικής βιοψίας. Οι όγκοι διακρίθηκαν σε «επιφανειακούς» (Τα-T1) (79 περιπτώσεις) και σε «αμιγώς διηθητικούς» (T2-T4) (55 περιπτώσεις).

Αυτή η ομαδοποίηση (επιφανειακοί έναντι διηθητικών καρκινωμάτων) είναι δικαιολογημένη κλινικά, διότι η φυσική εξέλιξη των ουροθηλιακών καρκινωμάτων υποστηρίζει το γεγονός ότι δεν πρόκειται για μία μοναδική-ενιαία πάθηση. Φαίνεται να υπάρχουν δύο ομάδες ασθενών με διαφορετική πορεία νόσου: ασθενείς με επιφανειακά στοιχεία ανάπτυξης και ασθενείς με όγκους, που διηθούν το μυϊκό χιτώνα.

Από την άλλη μεριά, *in situ* (επίπεδοι όγκοι) ουροθηλιακά καρκινώματα (Tis) δεν συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη, διότι αντιπροσωπεύουν μια ξεχωριστή οντότητα των προδιηθητικών βιολογικά επιθετικών όγκων, που δεν μπορούν να καταταγούν στην ομάδα των επιφανειακών θηλωδών ουροθηλιακών καρκινωμάτων.

Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 68,8 έτη (31 έως 89 ετών) και η αναλογία ανδρών / γυναικών 119:15.

Το μέσο διάστημα παρακολούθησης ήταν 48 μήνες (18-145 μήνες), κατά τη διάρκεια των οποίων 47 ασθενείς απεβίωσαν από ουροθηλιακό καρκίνωμα.

Κανένας από τους ασθενείς δεν έλαβε προηγουμένως χημειοθεραπεία, ενδοκυστικές εγχύσεις ή ακτινοβολία. Οι επιφανειακοί όγκοι παρακολουθήθηκαν και αντιμετωπίστηκαν θεραπευτικά μόνο μετά από υποτροπή με ενδοκυστικές εγχύσεις, είτε με BCG είτε με επιρουμπικίνη, σύμφωνα με τα κλινικά πρωτόκολλα. Τα διηθητικά καρκινώματα αντιμετωπίστηκαν θεραπευτικά με κυστεκτομή, ακτινοβολία ή συστηματική χημειοθεραπεία.

### III. ΜΕΘΟΔΟΙ

#### III.A. ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

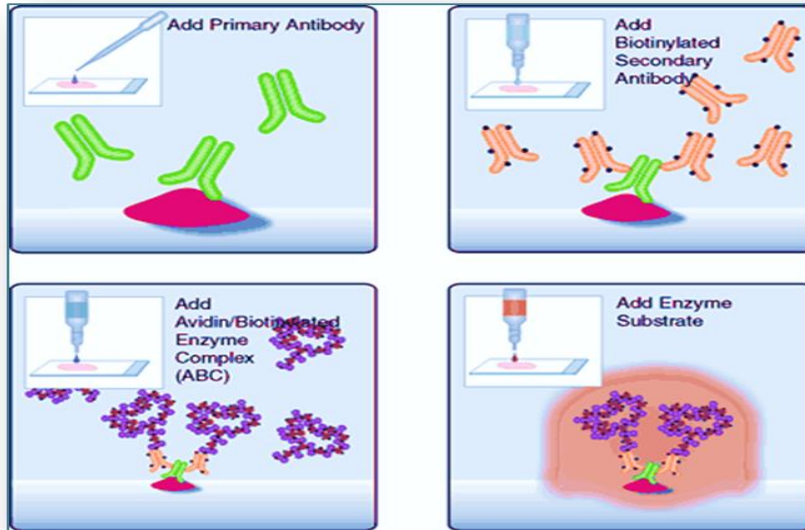
Ο προσδιορισμός των COX-2 και PPAR $\gamma$  στα ουροθηλιακά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης από κύβους παραφίνης αρχειακού υλικού, πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή ενζυμικής ανοσοϊστοχημικής μεθόδου, η οποία βασίζεται στην ανοσοδραστικότητα των αντισωμάτων και στις χημικές ιδιότητες των ενζύμων ή ενζυμικών συμπλεγμάτων. Αυτά αντιδρούν με αχρωμάτιστα υποστρώματα χρωμογόνων ενώσεων προς σχηματισμό ενός χρωματισμένου προϊόντος. Το ένζυμο που χρησιμοποιήθηκε είναι η υπεροξειδάση του ραπανιού, ενώ η μέθοδος, αυτή του συμπλέγματος Αβιδίνης – Βιοτίνης – Υπεροξειδάσης (ABC / HPR).

Η μέθοδος περιλαμβάνει τρία βήματα:

- 1<sup>ο</sup>) εφαρμογή του πρωτογενούς αντισώματος,
- 2<sup>ο</sup>) εφαρμογή του δευτερογενούς αντισώματος, και
- 3<sup>ο</sup>) επώαση με το σύμπλεγμα Αβιδίνης – Βιοτίνης – Υπεροξειδάσης.

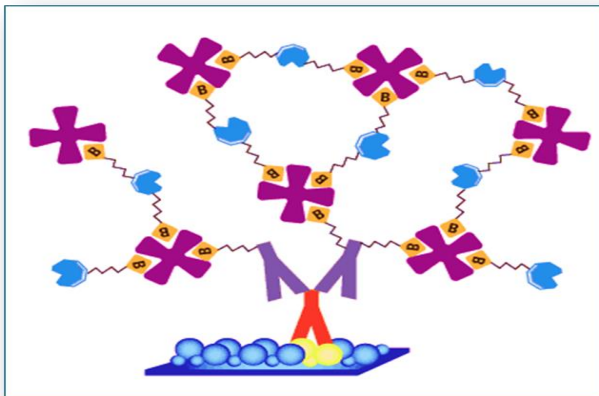
Είναι εξαιρετικά ευαίσθητη τεχνική, λόγω της μεγάλης δεσμευτικής ικανότητας μεταξύ της αβιδίνης και της βιοτίνης. Η αβιδίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με MB 70.000 Daltons, που προέρχεται από το λευκό του αυγού της κότας και έχει μεγάλη τάση σύνδεσης (4 συνδετικές θέσεις ανά μόριο) για τη βιοτίνη. Η βιοτίνη, δηλαδή η βιταμίνη Η, είναι προσθετική ομάδα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης και χρησιμεύει ως μεταφορέας διοξειδίου του άνθρακα μέσα στα μιτοχόνδρια. Έχει την τάση να συνδέεται με IgG γι' αυτό και χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την αβιδίνη με την οποία κάνει ισχυρή σύνδεση («Βιολογία Κυττάρου», Μαργαρίτης και συν., 2004).

Το πρώτο αντίσωμα συνδέεται με το δεύτερο αντίσωμα που είναι ομοιοπολικά συζευγμένο με βιοτίνη. Αυτή στη συνέχεια μπορεί να συνδεθεί με το σύμπλεγμα Αβιδίνης – Βιοτίνης – Υπεροξειδάσης, το οποίο και ανιχνεύεται ιστοχημικά (Εικόνες 1-2)



Εικόνα 1

- (α) προσθήκη πρωτογενούς (ειδικού) αντισώματος
- (β) προσθήκη δευτερογενούς βιοτινυλιωμένου αντισώματος
- (γ) προσθήκη συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης-ένζυμο
- (δ) προσθήκη υποστρώματος ενζύμου



Εικόνα 2

- (i) Κίτρινο χρώμα = υπό μελέτη αντιγόνο
- (ii) Πορτοκαλί χρώμα = πρώτο αντίσωμα
- (iii) Μωβ χρώμα = δεύτερο αντίσωμα
- (iv) Βυσσινί χρώμα = αβιδίνη
- (v) Μπλε χρώμα = ένζυμο
- (vi) B = βιοτίνη

## ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η μέθοδος των τριών βημάτων της αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης, εφαρμόστηκε σε τομές παραφίνης πάχους 4  $\mu\text{m}$ , που έχουν προέλθει από τα καρκινώματα της ουροδόχου κύστης της μελέτης αυτής.

Οι τομές παραφίνης υποβλήθηκαν αρχικά σε αποπαραφίνωση με τον οργανικό διαλύτη ξυλόλη για 30 min (15 min x 2), ενυδάτωση με κατιόντα διαλύματα αιθανόλης [100° (5 min x2), 96° (5 min x2) ] και τέλος εμβύθιση σε απεσταγμένο νερό. Η χρήση του ενζύμου υπεροξειδάση προϋποθέτει την εξουδετέρωση του ενδογενούς ενζύμου των κυττάρων. Για το σκοπό αυτό, οι τομές επώασθησαν με διάλυμα 0,3% υπεροξειδίου του υδρογόνου σε ρυθμιστικό διάλυμα για 30 min σε σκοτεινό περιβάλλον. Οι τομές, μετά το πέρας της αντίδρασης, εκπλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα TBS [Tris Buffer Saline (50mM Tris base, 150 mM NaCl, pH 7.6 σε αναλογία 1:9].

Η χρήση της φορμαλδεΐδης ως μονιμοποιητικού μέσου είναι γνωστό ότι προκαλεί ενδοδιασταυρούμενες αντιδράσεις μεταξύ των αμινοξέων των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να μειώνεται η αντιγονικότητα των ιστών, λόγω «κάλυψης» των επιτόπων. Για την αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων οι τομές εμβαπτίσθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0,01 M, pH 6.0 και υπέστησαν προεργασία θέρμανσης σε φούρνο μικροκυμάτων ισχύος 750 Watt για 10 min (5 min X2). Ακολούθως οι τομές αυτές παρέμειναν στο ίδιο διάλυμα και σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min ώστε να επανέλθουν σταδιακά σε χαμηλότερη θερμοκρασία (περιβάλλοντα χώρου) και να ανακτήσουν οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες την τριτοταγή τους διαμόρφωση.

Οι ιστικές τομές με την ολοκλήρωση των παραπάνω διαδικασιών εκπλύθηκαν με απεσταγμένο νερό και ρυθμιστικό διάλυμα TBS, όπου και παρέμειναν για 5 min.

Ακολούθησε επικάλυψη των τομών με φυσιολογικό ορό αλόγου (horse) με αραιώση 1:5 (normal horse serum: TBS) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20-30 min με στόχο την ελάττωση της μη ειδικής χρώσης που μπορεί να προέρχεται από ενδοδιασταυρούμενες αντιδράσεις τόσο των πρωτογενών αντισωμάτων με τα ενδογενή αντιγόνα, όσο και των αντιωρών του συστήματος προσδιορισμού.

Στη συνέχεια, μετά την αφαίρεση του υπερκείμενου αντιορού, οι τομές επικαλύφθηκαν με τα πρωτογενή αντισώματα και η επώαση έγινε ολονύκτια στους 4°C. Τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

1. COX-2: πολυκλωνικό αντίσωμα αίγας (goat polyclonal, C-20) Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) έναντι του καρβοξυτελικού άκρου της ανθρώπινης COX-2. Η αραίωση που εφαρμόστηκε ήταν 1:130 σε TBS.
2. PPAR $\gamma$ : μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού (mouse monoclonal, E-8, sc-7273) της εταιρείας Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA. Η αραίωση που εφαρμόστηκε ήταν 1:40 σε TBS.

Την επόμενη ημέρα οι τομές εκπλύθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα TBS για 15 min (5 min X3). Το σύστημα προσδιορισμού που χρησιμοποιήθηκε για την εντόπιση των συμπλόκων αντιγόνου-αντισώματος ήταν το Kit αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης της εταιρείας Vector (VectorLab, Burlingame, CA), οι αντιοροί του οποίου είχαν παραχθεί σε άλογο (horse).

Οι τομές επώασθησαν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min με το βιοτινυλιωμένο αντιορό αλόγου έναντι ανοσοσοσφαιρίνης 1) ποντικού (biotinylated horse anti-mouse IgG) σε αραίωση 1:40 σε TBS για τον PPAR $\gamma$  και 2) αίγας (biotinylated horse anti-goat IgG) σε αραίωση 1: 130 για την COX-2. Οι τομές, ακολούθως, εκπλύθηκαν με TBS για 15 min (5 min X3) και εν συνεχεία επώασθησαν με το σύμπλεγμα αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min και αραίωση 1:50 για το κάθε συστατικό σε TBS.

Οι τομές εκπλύθηκαν με TBS για 15 min (5 min X3) και η χρωστική αντίδραση πραγματοποιήθηκε με επώαση των τομών με διάλυμα 0,5 mg/ml τετραϋδροχλωρικής 3,3' διαμινοβενζιδίνης (DAB) (Sigma, Chemical Co., St.Louis MO) και 0,06% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε Tris ρυθμιστικό διάλυμα (50 mM Tris base pH 7.6) για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Η DAB αποτελεί το χρωμογόνο υπόστρωμα της υπεροξειδάσης και η αντίδραση πολυμερισμού της, με ταυτόχρονη πρόσληψη δύο ηλεκτρονίων, που προέρχονται από το υπεροξείδιο, παρέχει με καφέ χρώμα τις εντοπίσεις των ανοσοσυμπλεγμάτων.

Τα τελευταία βήματα της μεθόδου αφορούσαν στη χρώση υποστρώματος με αιματοξυλίνη Harris, για την εκτίμηση της μορφολογίας του ιστού, στην αφυδάτωση με ανιόντα διαλύματα αιθανόλης (αντίστροφη πορεία της αρχικής ενυδάτωσης), στη βύθιση σε ξυλόλη και τέλος επίστρωση των αντικειμενοφόρων πλακιδίων με καλυπτρίδα και μικροσκόπηση.

*Μάρτυρες:* Ως θετικοί μάρτυρες για τα COX-2 και PPAR $\gamma$  χρησιμοποιήθηκαν τομές παραφίνης από ουροθηλιακά καρκινώματα ουροδόχου κύστης. Αρνητικοί μάρτυρες



αποτελέσαν τομές παραφίνης από τα ίδια καρκινώματα, στις οποίες εφαρμόστηκαν όλα τα βήματα της μεθόδου, με τη διαφορά της αντικατάστασης των πρωτογενών αντισωμάτων με TBS (δηλαδή το πρωτογενές αντίσωμα παραλήφθηκε) και στόχο την εκτίμηση της μη ειδικής χρώσης, που πιθανά μπορεί να δημιουργηθεί από ενδοδιασταυρούμενες επιδράσεις με τα αντιδραστήρια του συστήματος προσδιορισμού.

### ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

**COX-2:** Τα χρωστικά αποτελέσματα αξιολογήθηκαν από δύο παθολογοανατόμους με ημιποσοτική εκτίμηση της έντασης της χρώσης και του αριθμού των θετικών κυττάρων. Μελετήθηκαν 10 οπτικά πεδία με μεγέθυνση 400X για κάθε περίπτωση. Σε κάθε ένα από αυτά μετρήθηκαν τα θετικά κύτταρα και το επί τοις εκατό ποσοστό της θετικής έκφρασης ήταν ο μέσος όρος των θετικών κυττάρων και των 10 πεδίων. Η ανοσοδραστηριότητα εκτιμήθηκε ως συνδυασμός της έντασης και έκτασης της θετικής χρώσης.

Η ένταση της χρώσης μετά από σύγκριση με τους θετικούς μάρτυρες κατατάχθηκε σε 3 κατηγορίες:

- Ασθενής ένταση χρώσης (+)
- Μέτρια ένταση χρώσης (++)
- Εντονη ένταση χρώσης (+++)

Η έκταση της χρώσης με βάση το επί τοις εκατό θετικότητας κατατάχθηκε σε 4 κατηγορίες (κλίμακα 0-3):

- Αρνητική έκφραση (0) = <10% θετικά κύτταρα
- Ασθενής θετική έκφραση (1) = 10%-20% θετικά κύτταρα
- Μέτρια θετική έκφραση (2) = 21%-50% θετικά κύτταρα
- Εντονα θετική έκφραση (3) = >50% θετικά κύτταρα

Ο συνυπολογισμός έδωσε αποτελέσματα που συμπίπτουν με την κλίμακα της έκτασης της θετικότητας.

**PPAR $\gamma$ :** Η αξιολόγηση της έκφρασης του PPAR $\gamma$  εκτιμήθηκε με τη μέθοδο ανάλυσης εικόνας (image analysis), οι αρχές της οποίας αναλύονται παρακάτω:

### *Μέθοδος ανάλυσης εικόνας*

Σε καθεμιά περίπτωση, εκτιμήθηκαν 500 καρκινικά κύτταρα. Η εικόνα αποκτήθηκε χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο Zeiss AxioLab με μηχανικό στάδιο, εφαρμοσμένο σε video-camera. Η video-camera ήταν συνδεδεμένη σε προσωπικό υπολογιστή Pentium II, φορτωμένο με λογισμικό Image Scan. Οι ψηφιακές εικόνες αποθηκεύτηκαν ως αρχεία JPEG. Περαιτέρω αξιολόγηση έλαβε χώρα μέσω Εκτιμητή Χρώματος v. 2.0, μια ειδική εφαρμογή ανεπτυγμένη στο Εργαστήριό μας, σε περιβάλλον Microsoft Visual Basic 5.0 (310). Αρχικά, οι ψηφιακές εικόνες μετατράπηκαν σε αρχεία bit-map των 256 χρωμάτων. Ακολούθησε ακριβής καθορισμός και μια γραφική αναπαράσταση των ολικών νεοπλασματικών πυρήνων. Αυτόματα, οι ανοσοκεγγρωσμένοι πυρήνες απεικονίστηκαν με κόκκινο (κωδικός χρώματος: 2630911). Τέλος, υπολογίστηκε το ποσοστό του αριθμού των ανοσοϊστοχημικά θετικών νεοπλασματικών πυρήνων (κόκκινο χρώμα στις ψηφιακές εικόνες) ως προς τον ολικό αριθμό των 500 πυρήνων (χρωματισμένοι και αχρωμάτιστοι).

### **III. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ**

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση. Κατά τη στατιστική μελέτη χρησιμοποιήθηκε ανάλυση Pearson's chi-square και Fisher's exact probability test για την αξιολόγηση της σχέσης των μελετώμενων δεικτών με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους του ουροθηλιακού καρκινώματος (ηλικία, φύλο, βαθμός κακοηθείας, στάδιο της νόσου) και την έκφραση των λοιπών μοριακών δεικτών.

Η στατιστική ανάλυση της επιβίωσης των ασθενών σε σχέση με την έκφραση των μελετώμενων δεικτών έγινε με μονοπαραγοντική (Log-Rank test) στατιστική ανάλυση, ενώ η διερεύνηση της ανεξάρτητης προγνωστικής σημασίας της έκφρασης των ως άνω πρωτεϊνών και των κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων της μελέτης σε σχέση με την επιβίωση των ασθενών πραγματοποιήθηκε με το πολυπαραγοντικό μοντέλο ανάλυσης κινδύνου (Cox's proportional hazard regression model).

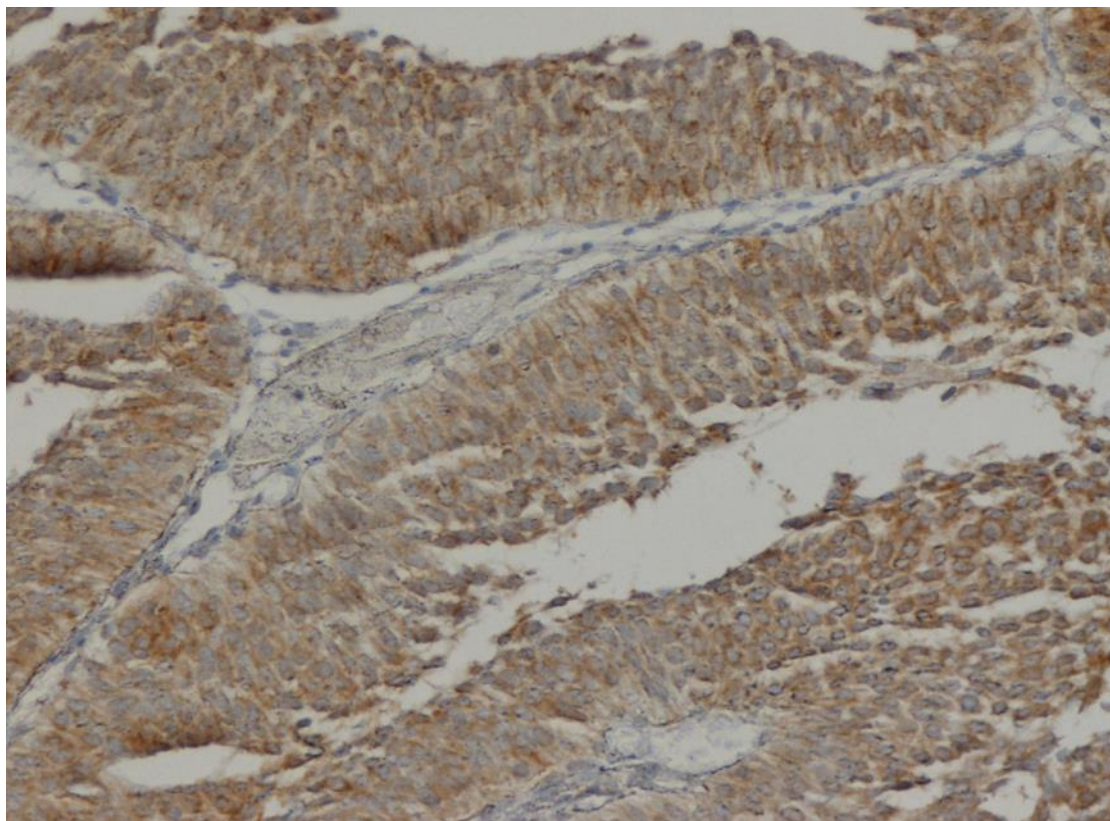
Στις παραπάνω δοκιμασίες, η στατιστική σημαντικότητα  $p < 0.05$  θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

## IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

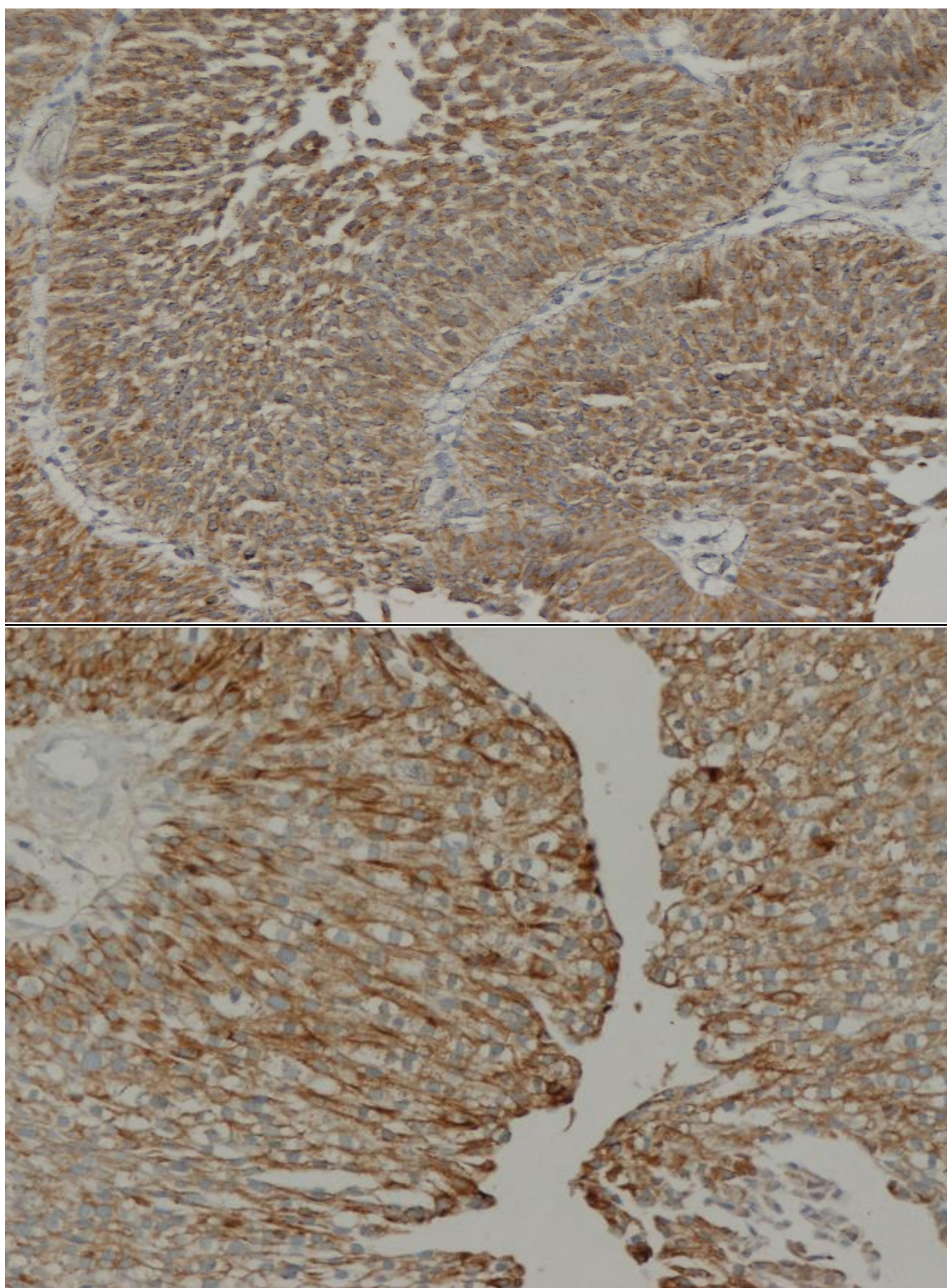
### ΙVΑ. ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

#### COX-2

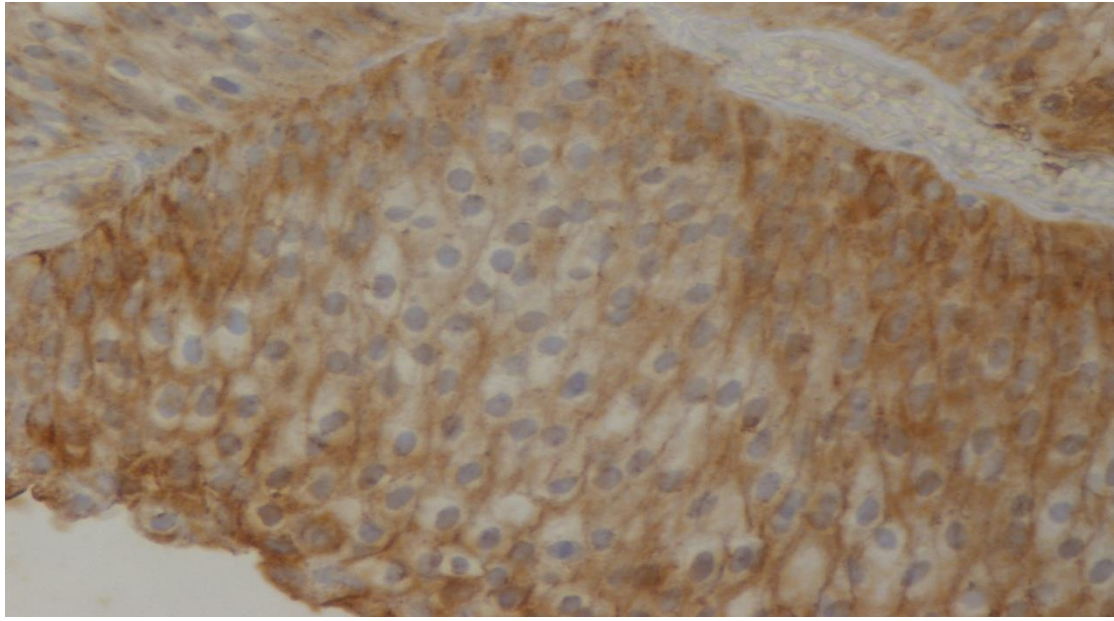
Από τα 134 ουροθηλιακά καρκινώματα, που μελετήθηκαν, 94 (70.1%) ήταν θετικά για την COX-2. Παρατηρήθηκε εντόπιση της COX-2 στα καρκινικά κύτταρα, ενίοτε με υπομεμβρανική επίταση της χρώσης (Εικόνες 3-18). Δεν παρατηρήθηκε έκφραση στο φυσιολογικό ουροθήλιο. Το πρότυπο της χρώσης ήταν διάχυτο κυτταροπλασματικό, με ετερογένεια στην ένταση.



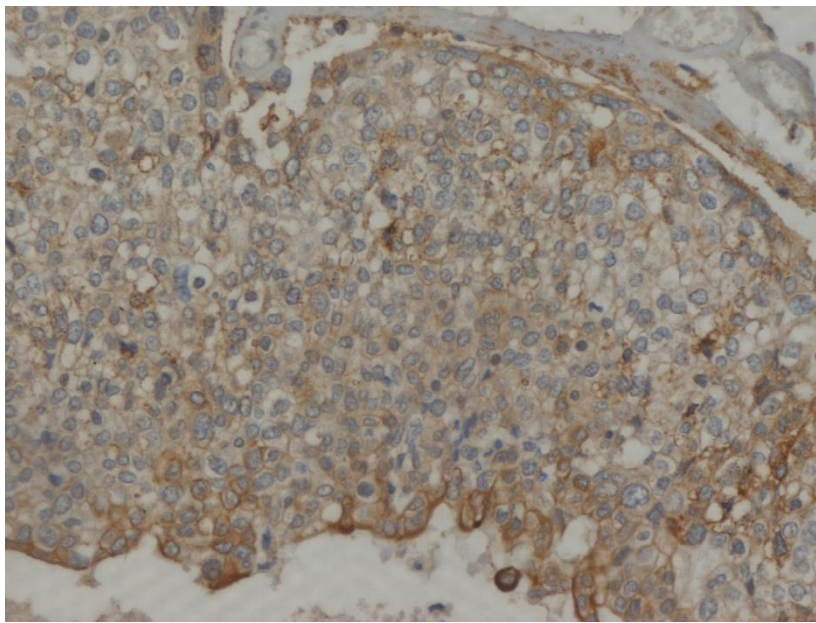
**Εικόνα 3. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός θηλώδους, μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRPx200)**



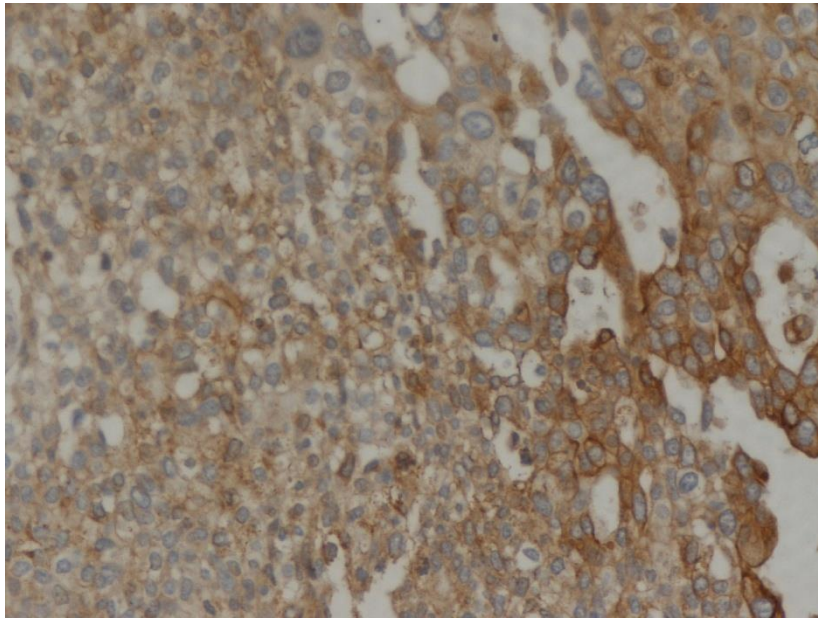
**Εικόνα 4. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός θηλώδους, μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**



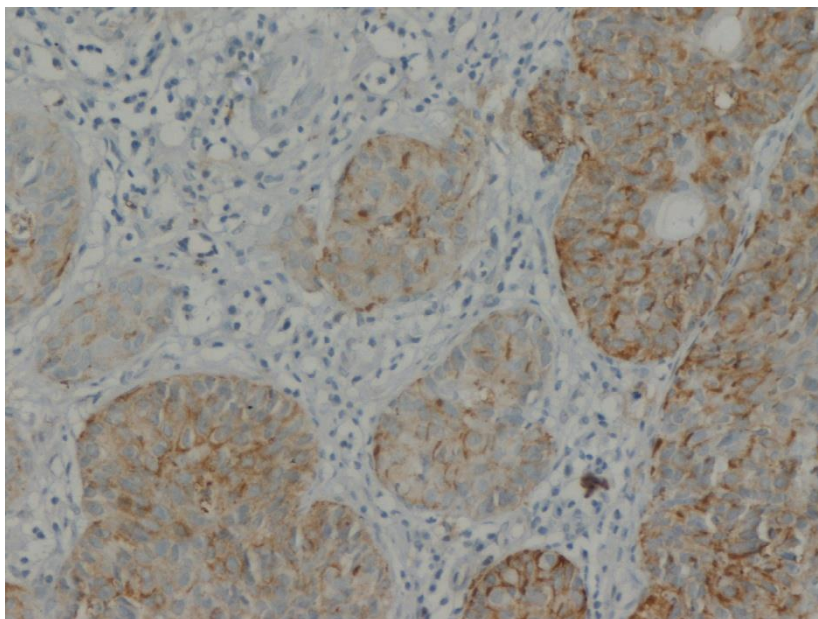
**Εικόνα 5. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός χαμηλόβαθμου θηλώδους μη διηθητικού συροθηλιακού καρκινώματος με ετερογένεια της χρώσης (ABC/HRP $\times$ 400)**



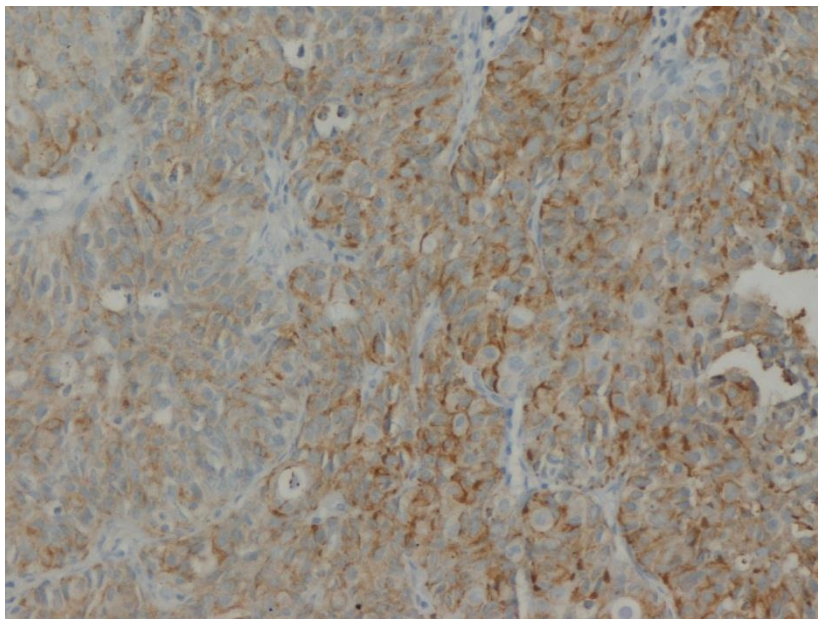
**Εικόνα 6. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός θηλώδους μη διηθητικού συροθηλιακού καρκινώματος(ABC/HRP $\times$ 200)**



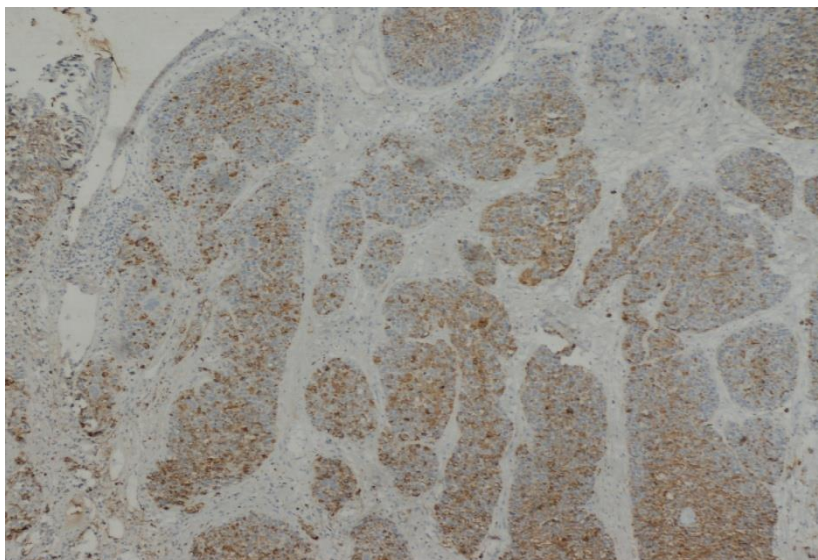
**Εικόνα 7. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου θηλώδους μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος(ABC/HRPx200)**



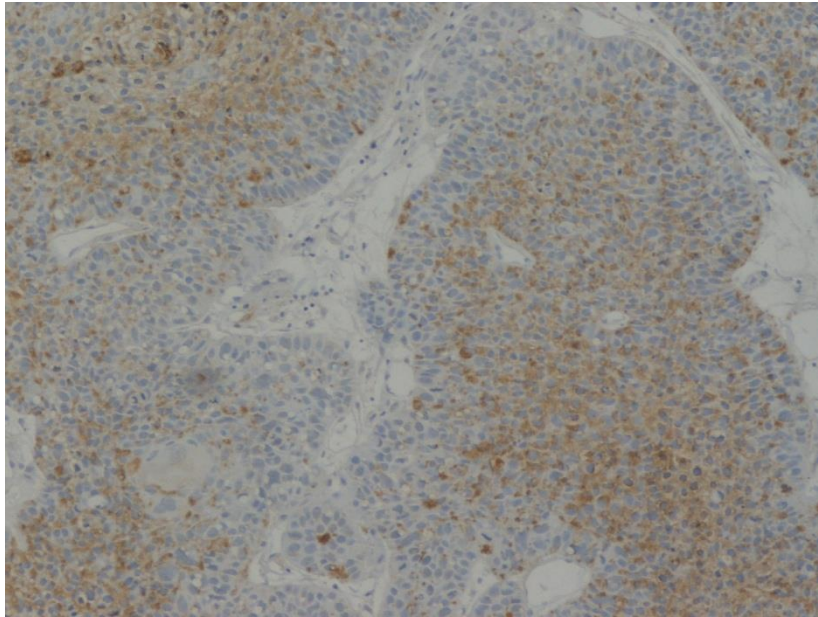
**Εικόνα 8. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου διηθητικού στο χόριο (σταδίου pT1) ουροθηλιακού καρκινώματος με ετερογένεια και υπομεμβρανική επίταση της χρώσης (ABC/HRPx200)**



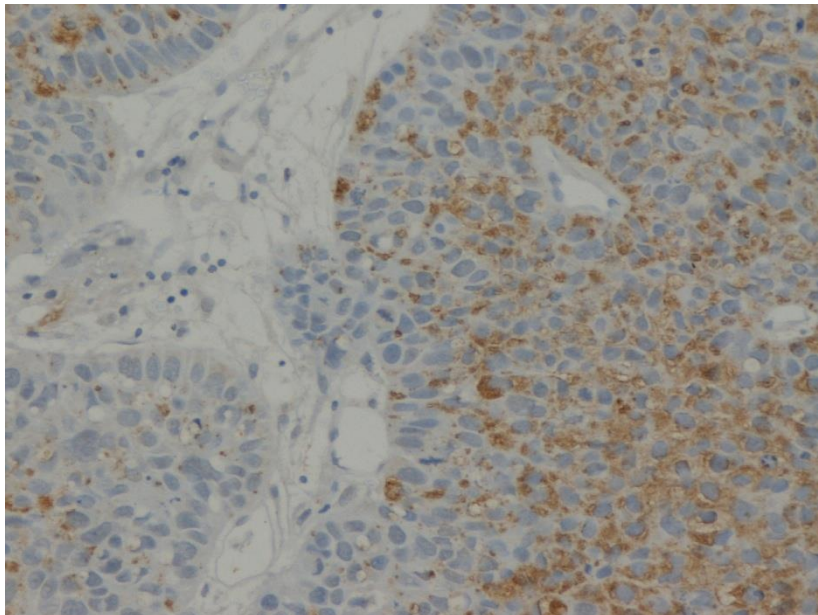
**Εικόνα 9. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου διηθητικού στο χόριο (σταδίου pT1) ουροθηλιακού καρκινώματος με ετερογένεια και υπομεμβρανική επίταση της χρώσης (ABC/HRPx200)**



**Εικόνα 10. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRPx100)**

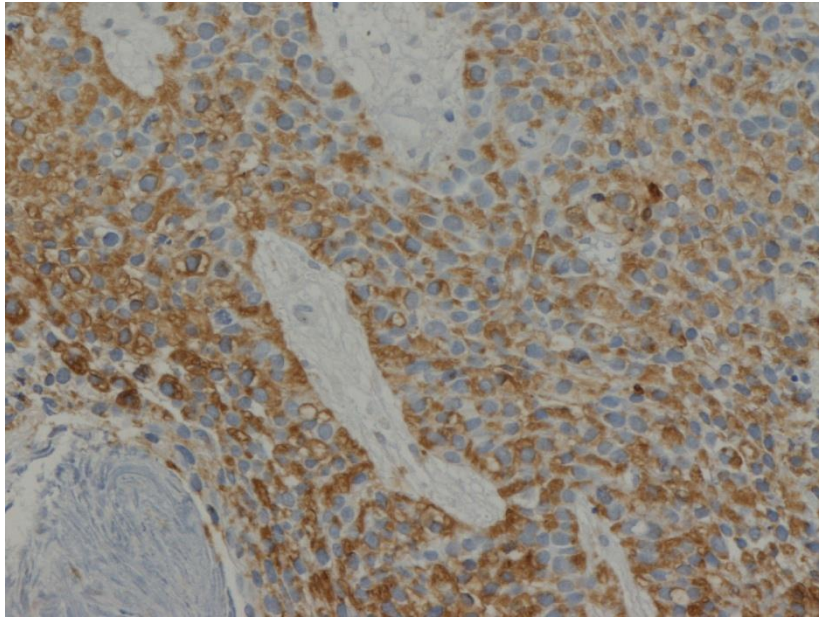


**Εικόνα 11. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου ουροθηλιακού καρκινώματος με ετερογένεια της χρώσης (ABC/HRPx100)**

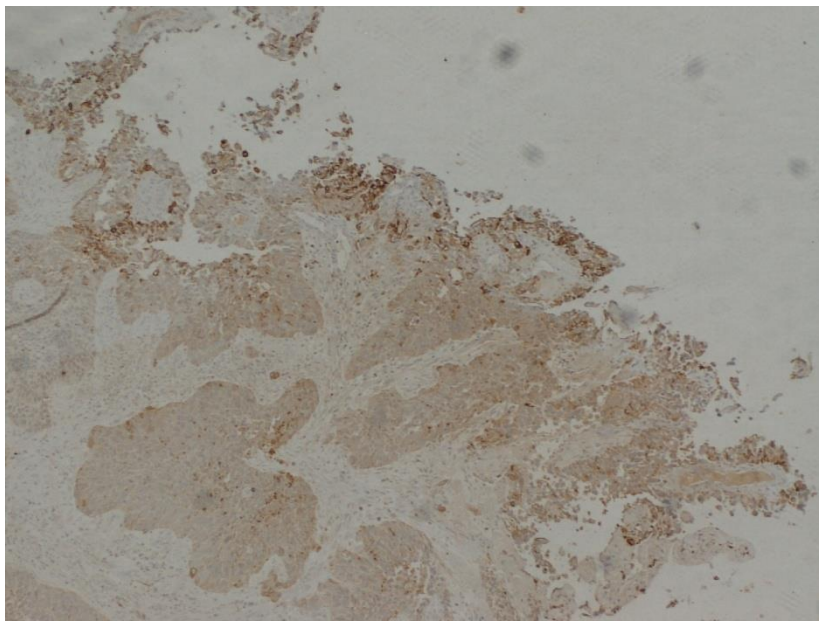


**Εικόνα 12. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου ουροθηλιακού καρκινώματος με ετερογένεια της χρώσης (ABC/HRPx200)**

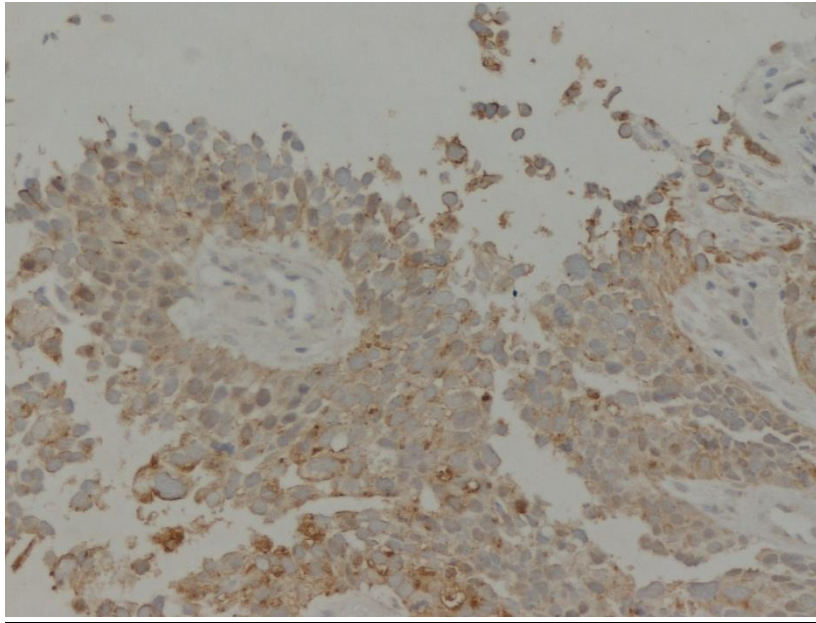




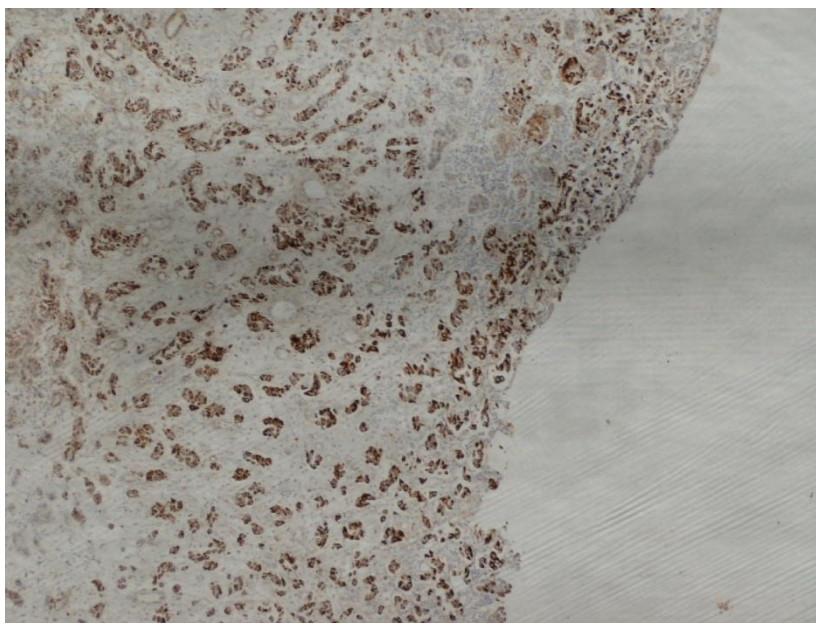
**Εικόνα 13. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου ουροθηλιακού καρκινώματος με υπομεμβρανική επίταση της χρώσης (ABC/HRPx200)**



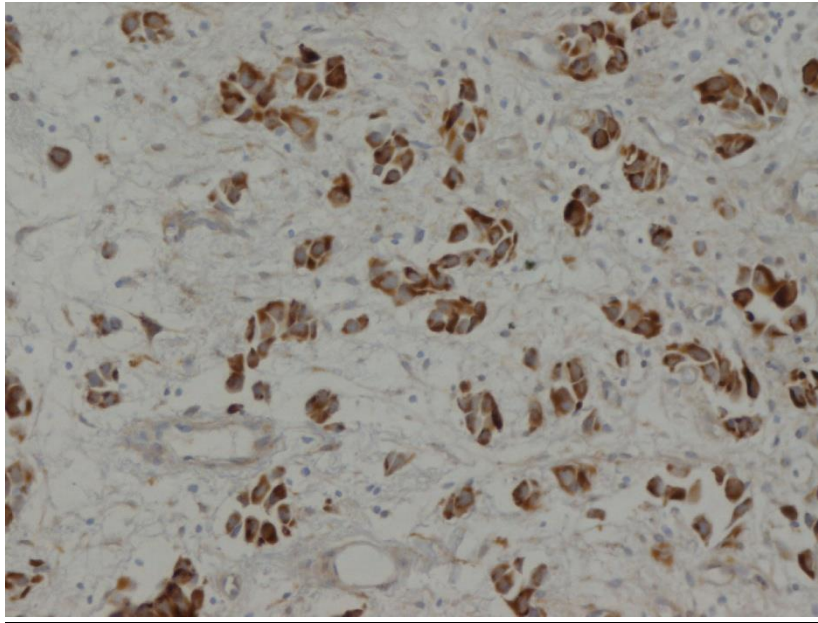
**Εικόνα 14. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου διηθητικού στο χόριο ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRPx100)**



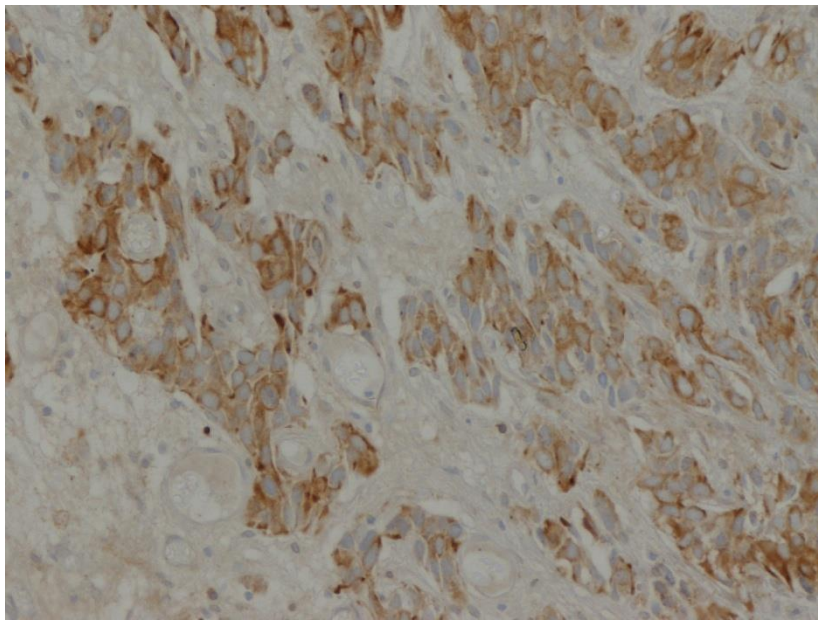
**Εικόνα 15. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων ενός υψηλόβαθμου ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRPx100)**



**Εικόνα 16. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων υψηλόβαθμου διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRPx100)**



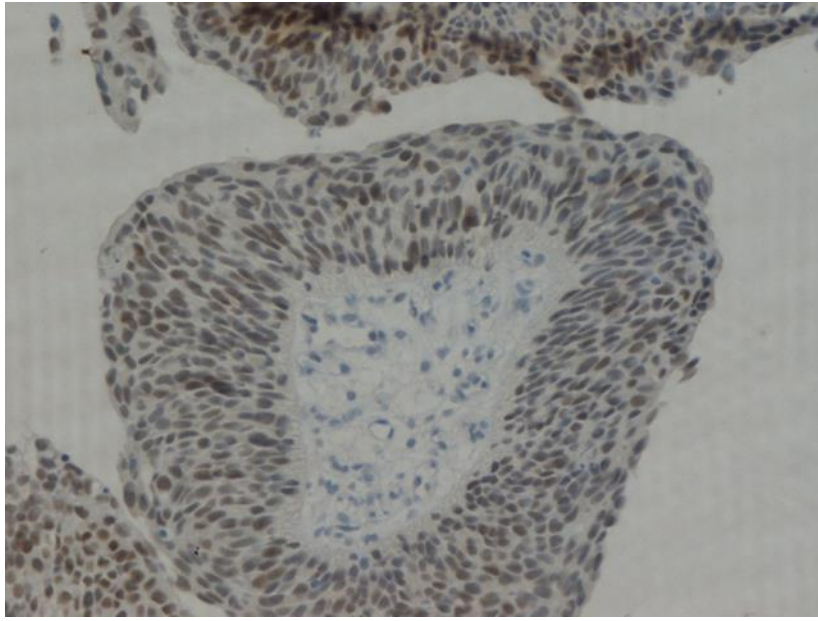
**Εικόνα 17. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων υψηλόβαθμου διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**



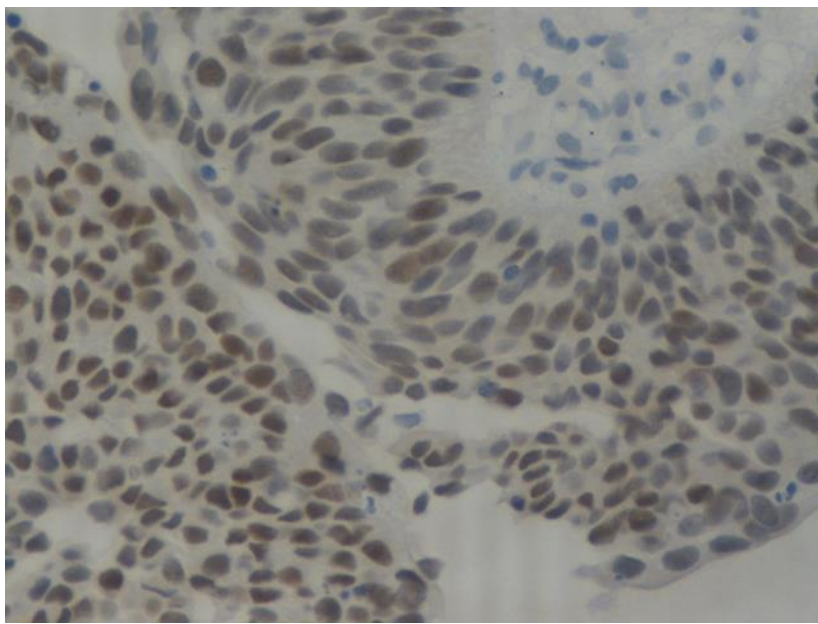
**Εικόνα 18. Θετική έκφραση της COX-2 στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**

### **PPAR $\gamma$**

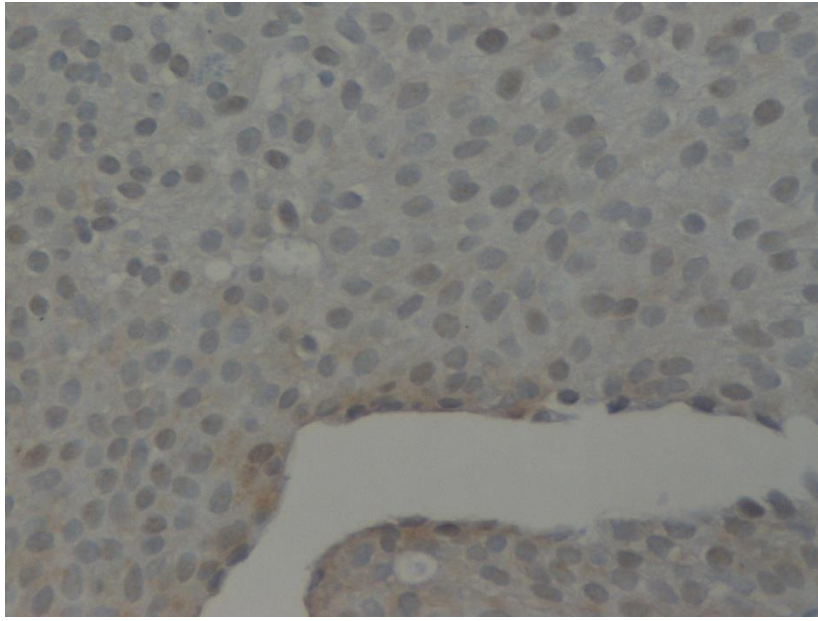
Θετική ανοσοδραστικότητα για τον PPAR $\gamma$  παρατηρήθηκε στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων (Εικόνες 19-29). Θετική πυρηνική εντόπιση σημειώθηκε σε ποσοστό 78.6% (92/117 περιπτώσεις). Το φυσιολογικό ουροθήλιο, όπου συνυπήρχε, ήταν αρνητικό.



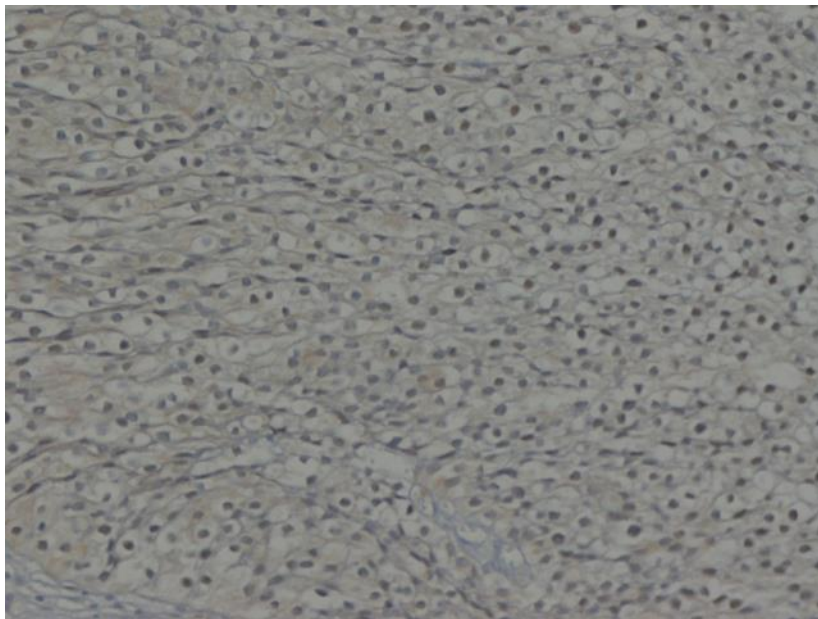
**Εικόνα 19. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων χαμηλόβαθμου μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**



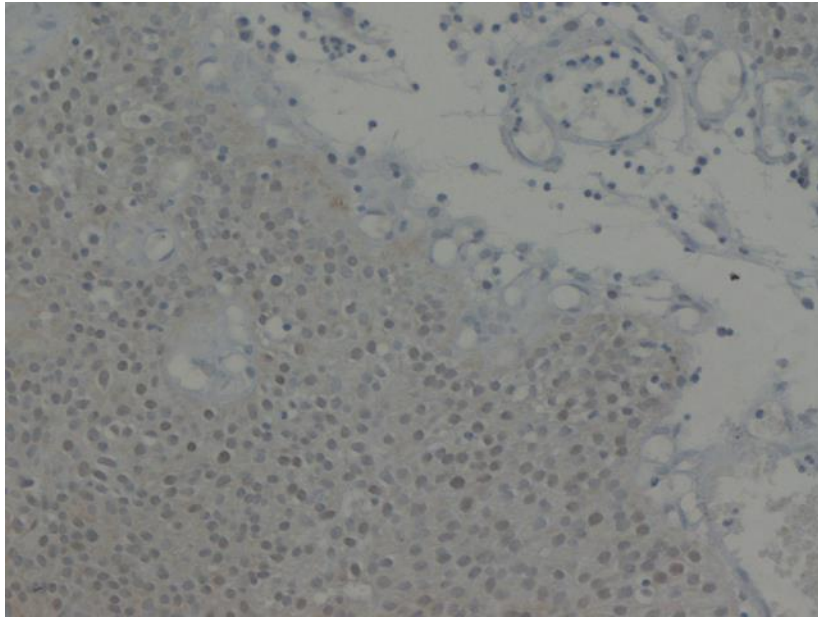
**Εικόνα 20. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων χαμηλόβαθμου μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**



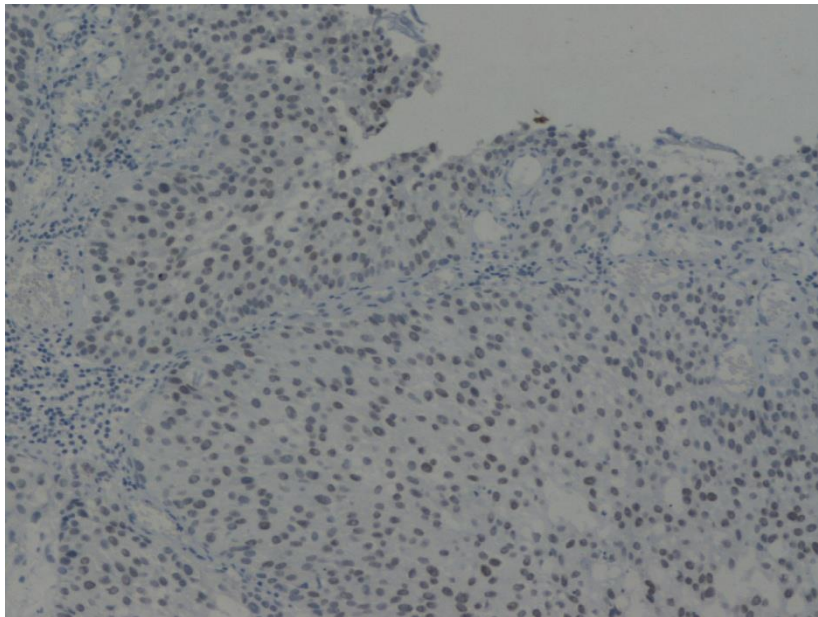
**Εικόνα 21. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων χαμηλόβαθμου μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 400)**



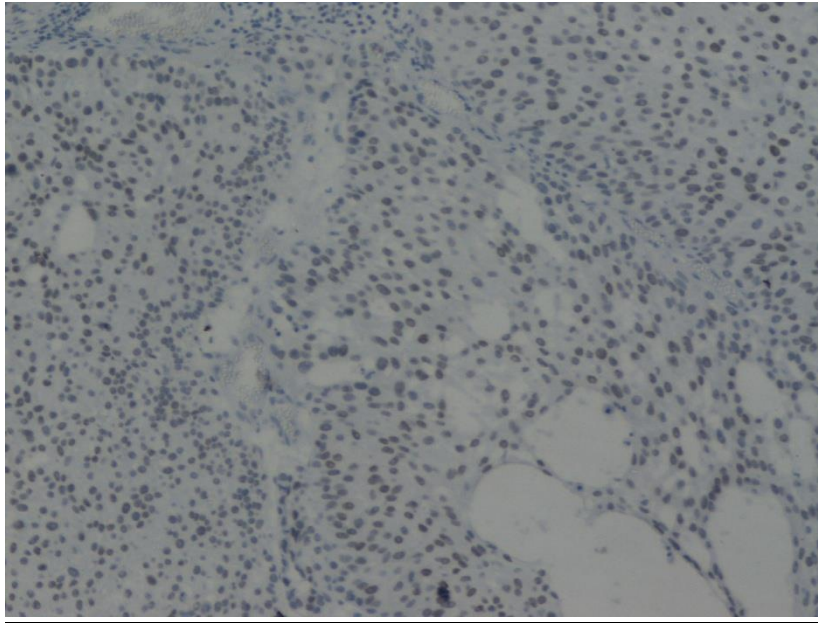
**Εικόνα 22. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων θηλώδους χαμηλόβαθμου μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**



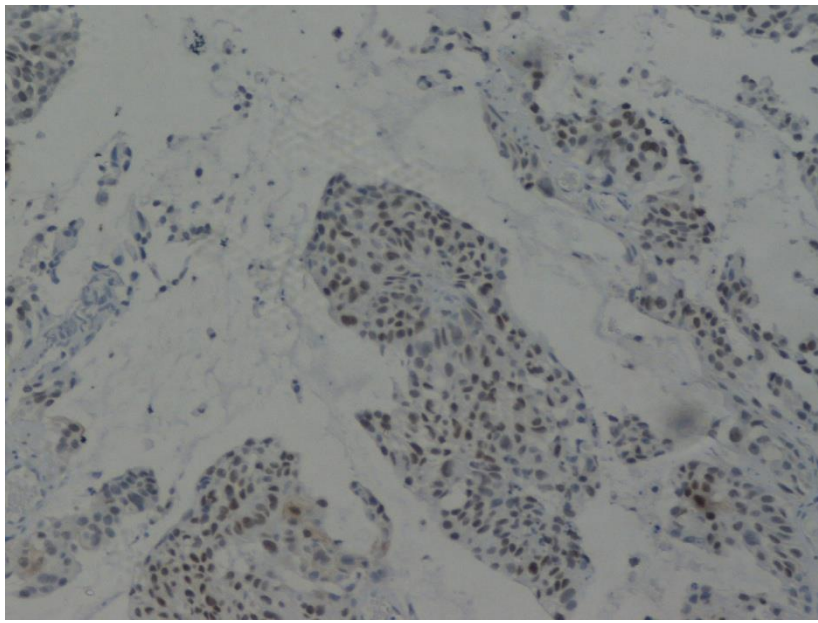
**Εικόνα 23. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων θηλώδους μη διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 400)**



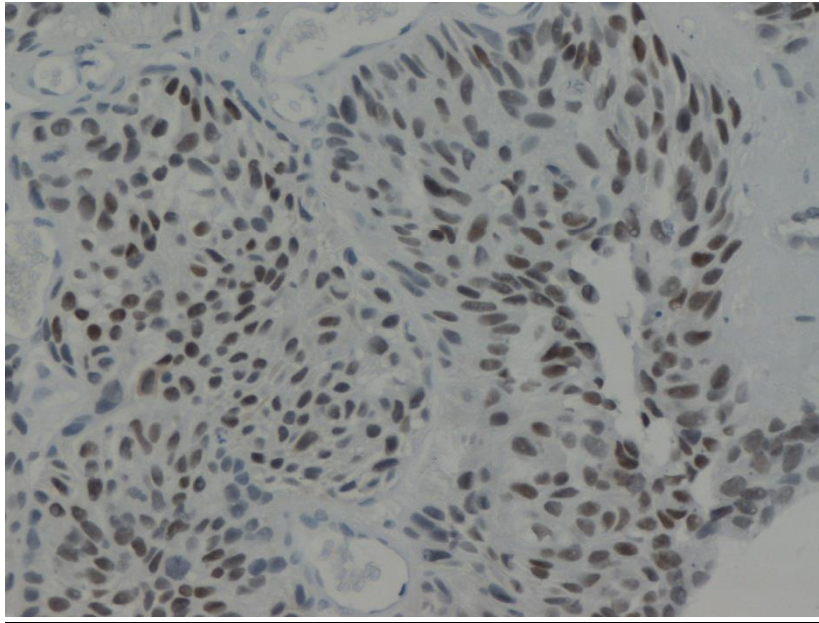
**Εικόνα 24. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων χαμηλόβαθμου αρχόμενα διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 100)**



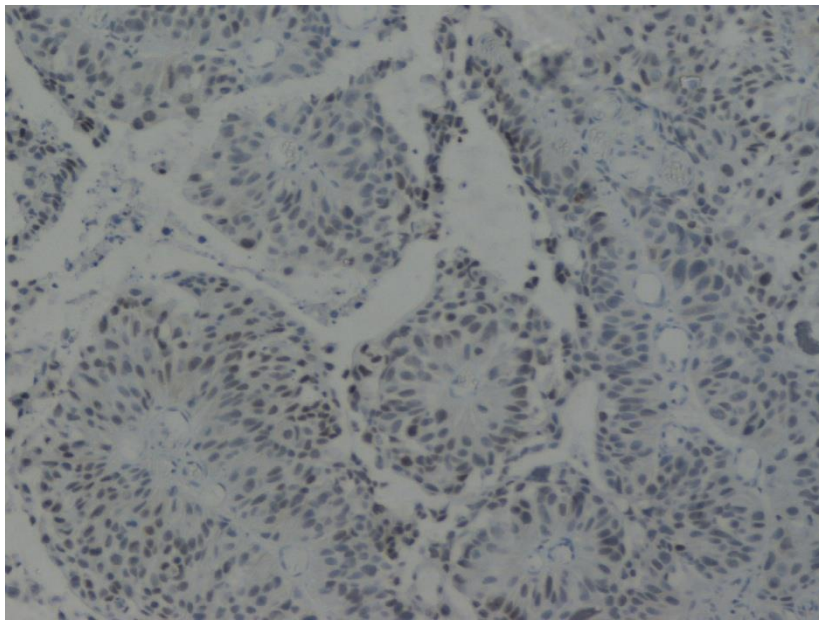
**Εικόνα 25. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων χαμηλόβαθμου αρχόμενα διηθητικού ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 100)**



**Εικόνα 26. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων υψηλόβαθμου διηθητικού στο χόριο (pT1) ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**

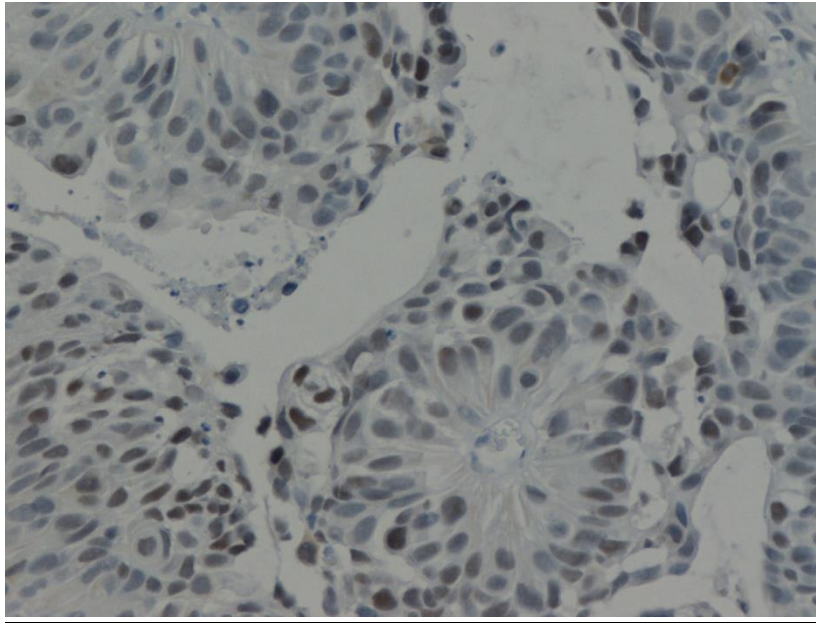


**Εικόνα 27. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων υψηλόβαθμου διθητικού στο χόριο (pT1) ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**



**Εικόνα 28. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων θηλώδους υψηλόβαθμου διθητικού στο χόριο (pT1) ουροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRP $\times$ 200)**





**Εικόνα 29. Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων θηλώδους υψηλόβαθμου συροθηλιακού καρκινώματος (ABC/HRPx200)**

#### **ΙVΒ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΜΕΝΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ**

##### **COX-2**

Κατά τη στατιστική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων η έκφραση της COX-2 δεν συσχετίστηκε με κλασικούς προγνωστικούς δείκτες, (ιστολογικός βαθμός κακοηθείας και παθολογοανατομικό στάδιο διήθησης), καθώς και με βιολογικούς δείκτες, όπως p53 και bcl-2 στο σύνολο των δειγμάτων (Πίνακας 1.1).

**Πίνακας 1.1 Συσχετίσεις της COX-2 με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους**

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	Σύνολο	n	%	p
<b>Φύλο</b>				
Άρρεν	119	82	68.9	<b>NS</b>
Θήλυ	15	12	80.0	
<b>Βαθμός κακοήθειας</b>				
1	29	18	62.1	<b>NS</b>
2	42	34	81.0	
3	63	42	66.7	
<b>Στάδιο</b>				
Ta	29	19	65.5	<b>NS</b>
T1	50	37	74.0	
T2	27	17	63.0	
T3-T4	28	21	91.7	

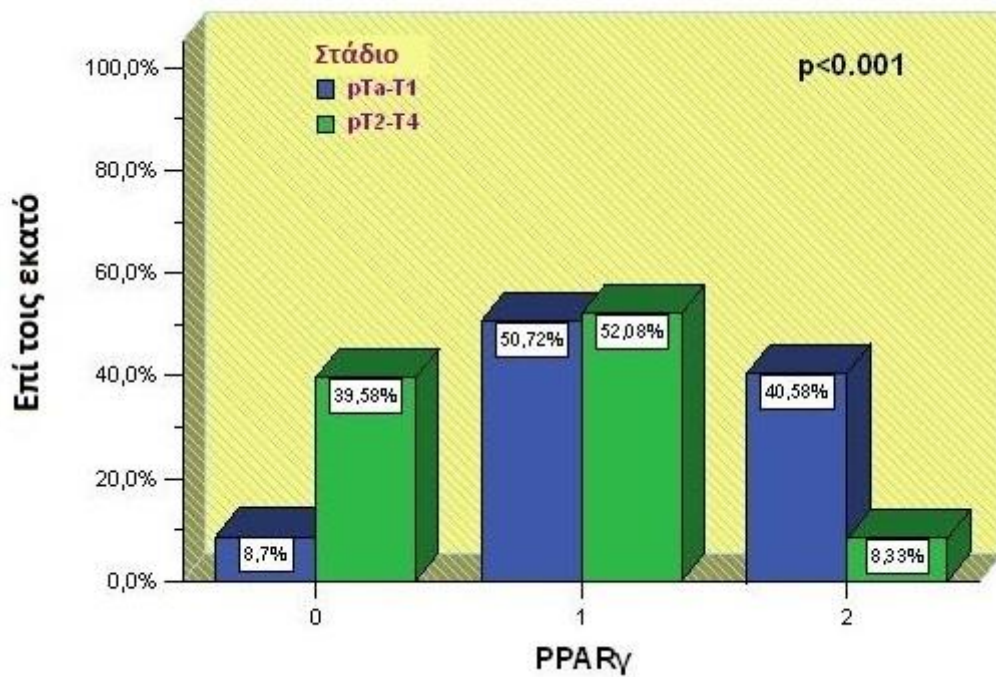
### **PPAR $\gamma$**

Από τη στατιστική αξιολόγηση, αναδείχτηκε ανάστροφη συσχέτιση με το στάδιο διήθησης ( $p < 0.001$ ), καθώς ανιχνεύτηκε πιο συχνά σε επιφανειακούς (Ta-T1) παρά σε διηθητικούς (T2-T4) όγκους (Πίνακας 1.2, Εικόνα 30).

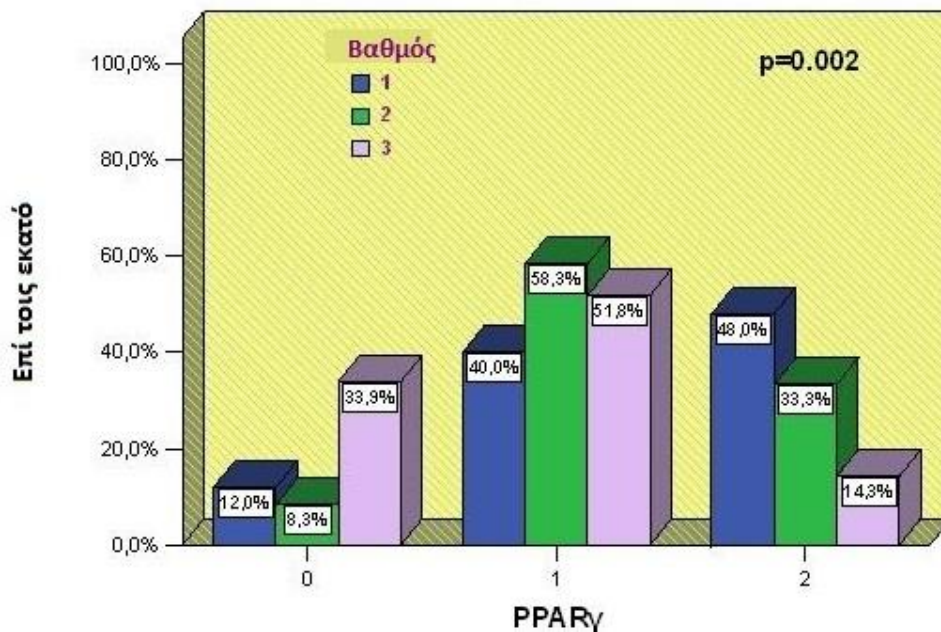
Επιπλέον, η πυρηνική έκφραση του PPAR $\gamma$  συσχετίστηκε αντίστροφα με το βαθμό κακοηθείας του όγκου ( $p = 0.002$ ), καθώς βρέθηκε να εκφράζεται πιο συχνά σε χαμηλόβαθμους όγκους (grade I) παρά σε υψηλότερου βαθμού όγκους (grade II και III) (Εικόνα 31).

**Πίνακας 1.2 Συσχετίσεις του PPAR $\gamma$  με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους**

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$					
	Αριθμός ασθενών	(1-49%)		(>= 50%)		p
		N	%	N	%	
<b>Συνολικός Αριθμός</b>	117	60	51,3	32	27,4	
<b>Φύλο</b>						
Άρρεν	103	51	49,5	29	28,2	NS
Θήλυ	14	9	64,3	3	21,4	
<b>Ιστολογικός βαθμός</b>						
1	25	10	40	12	48	<b>0,002</b>
2	36	21	58,3	12	33,3	
3	56	29	51,8	8	14,3	
<b>Στάδιο</b>						
pTa-T1	69	35	50.72	28	40.58	<b>&lt;0.001</b>
pT2-T4	48	25	52.08	4	8.33	



Εικόνα 30. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης του PPARγ με το στάδιο της νόσου



Εικόνα 31. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης του PPARγ με το βαθμό κακοηθείας

#### IVΓ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

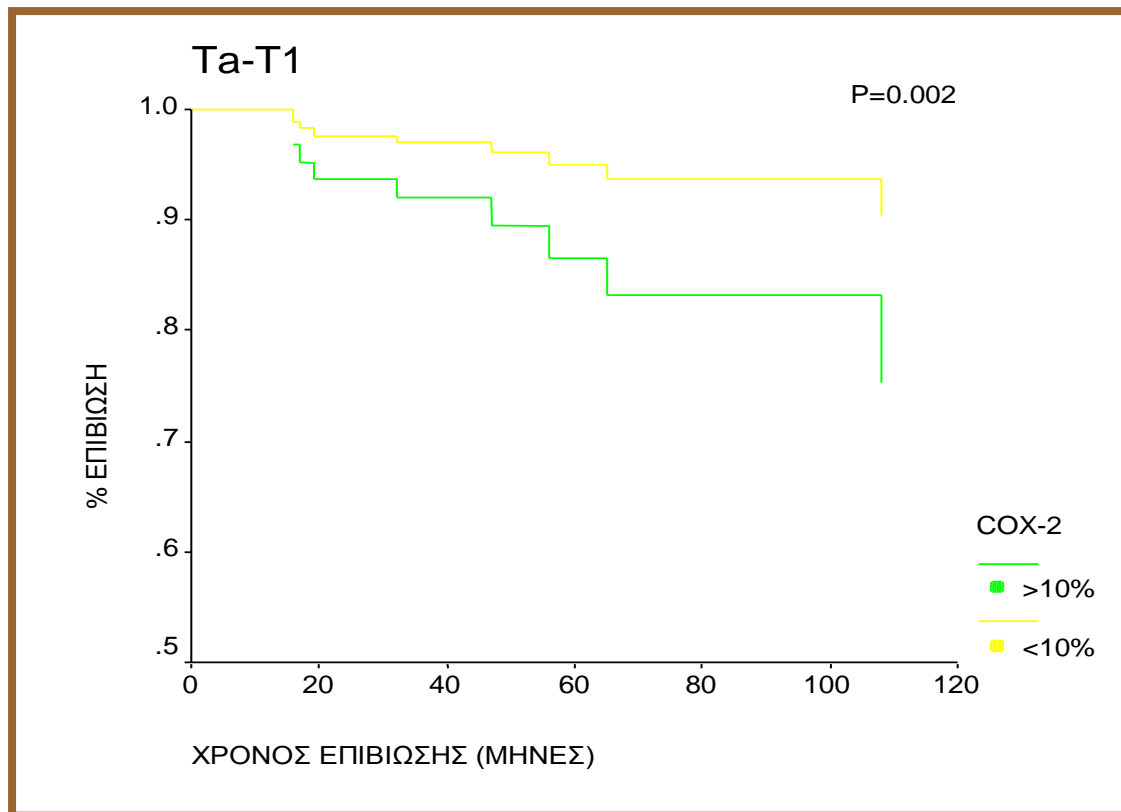
##### COX-2

Δεν βρέθηκε στατιστική συσχέτιση της ολικής επιβίωσης των ασθενών σε σχέση με την έκφραση της COX-2 ( $p=0.243$ ). Όσον αφορά τα επιφανειακά καρκινώματα (pTa-T1), η έκφραση της COX-2 παρουσίασε ανάστροφα σημαντική συσχέτιση ( $p=0,002$ ) με την επιβίωση των ασθενών (στην πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση Cox's hazards proportional model) και κυρίως σε ασθενείς με βαθμό κακοηθείας II και III (Γράφημα 1), καθώς και με την έκφραση της πρωτεΐνης p53 ( $p=0,049$ ) και με την ηλικία των ασθενών ( $p=0,019$ ) (Πίνακας 2, Εικόνα 32).

**Πίνακας 2. Συμβολή των παραμέτρων στατιστικής σημαντικότητας στην ολική επιβίωση ασθενών, μέσω μοντέλου παλινδρόμησης αναλογικού κινδύνου Cox για τις παρακάτω παραμέτρους: ηλικία, βαθμός, στάδιο, p53, bcl-2, CPP32, MLH1 και πυρηνικής hTERT**

		B	SE	p
<b>Ta-T1</b>	<b>COX-2</b>	0,060	0,019	<b>0,002</b>
	<b>p53</b>	1,610	0,817	<b>0,049</b>
	<b>ηλικία</b>	0,207	0,088	<b>0,019</b>
<b>T2-T3-T4</b>	<b>ηλικία</b>	0,053	0,023	<b>0,023</b>

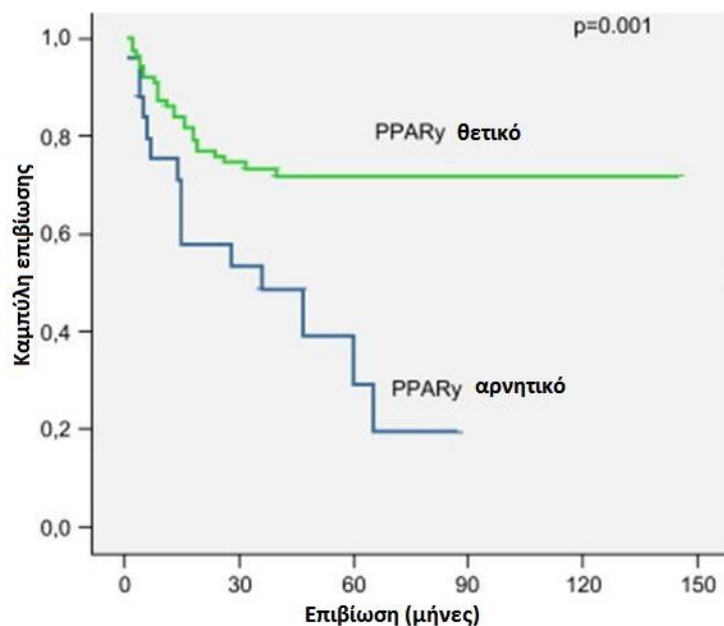
B: Συντελεστής Παλινδρόμησης , SE: Τυπικό σφάλμα



**Εικόνα 32. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης της COX-2 με την επιβίωση ασθενών σταδίου νόσου Ta-T1**

### **PPAR $\gamma$**

Ως προς τη συνολική επιβίωση, η μονοπαραγοντική στατιστική ανάλυση αποκάλυψε πως η έκφραση του PPAR $\gamma$  συσχετίζεται με μεγαλύτερο διάστημα παρακολούθησης σε ασθενείς με ουροθηλιακά καρκινώματα ουροδόχου κύστης ( $p=0.001$ ) (Εικόνα 33), μια σχέση που απέτυχε να αποδειχτεί στην πολυπαραγοντική ανάλυση, όπου μόνο το παθολογοανατομικό στάδιο και ο βαθμός κακοηθείας προέκυψαν ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες.



Εικόνα 33. Σχηματική απεικόνιση της σχέσης του PPAR $\gamma$  με την ολική επιβίωση

#### ΙVΑ.ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΜΕΝΩΝ

##### ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕ ΝΕΟΤΕΡΟΥΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

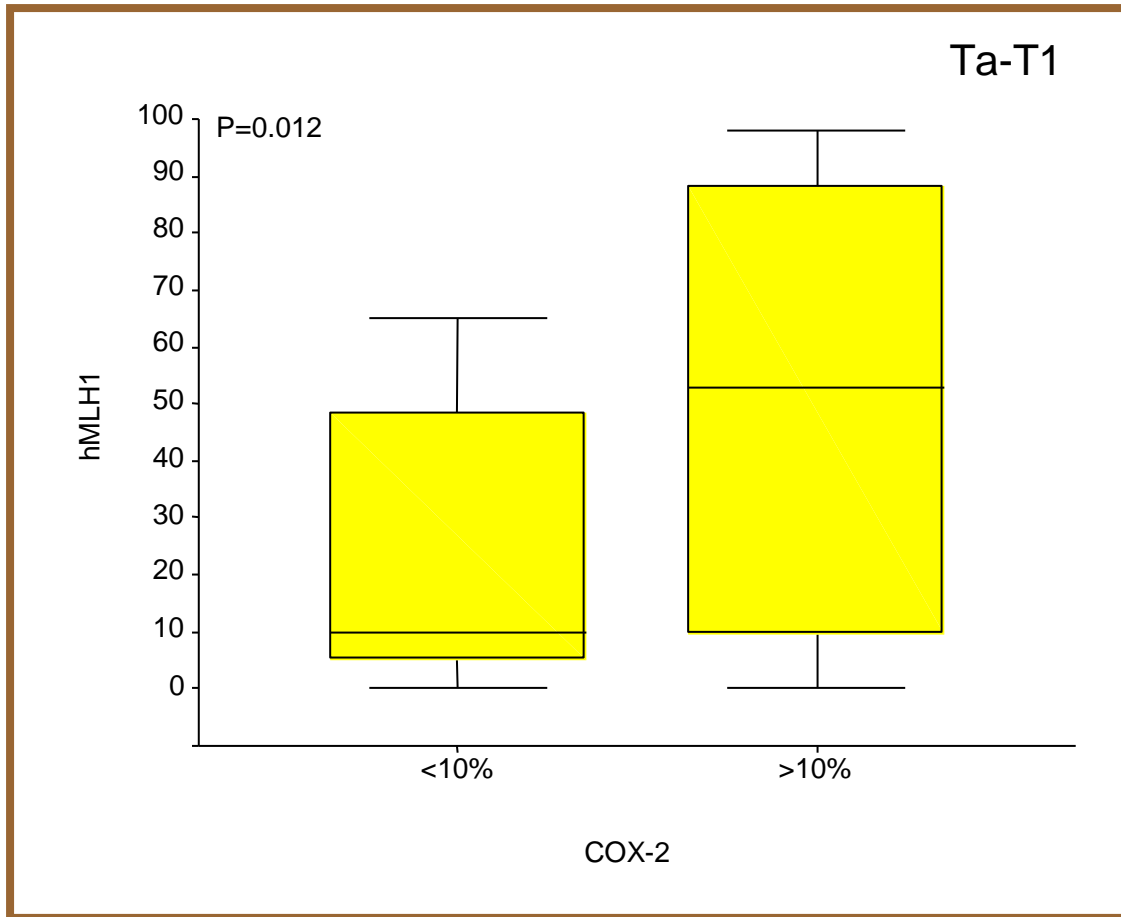
##### COX-2

Η COX-2 παρουσίασε θετική συσχέτιση με την έκφραση της caspase-3 (CPP32) ( $p=0.007$ ) (Πίνακας 3.1, Εικόνα 36). Σε ασθενείς ηλικίας κάτω των 70 ετών, η έκφραση της COX-2 παρουσίασε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πρωτεΐνη bax (Fisher's exact test,  $p=0.026$ ). Ως προς την ποσοτική έκφραση της MLH1, θετική συσχέτιση με την έκφραση της COX-2 ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα (Mann-Whitney test,  $p=0,019$ ), όπως επίσης και στην υποομάδα Ta-T1 ( $p=0,012$ ) (Εικόνα 34). Η έκφραση της COX-2 συσχετίστηκε αντίστροφα με την πυρηνική έκφραση της hTERT σε όλα τα δείγματα ( $p=0,009$  στο Fischer's exact test) (Πίνακας 3.1), όπως επίσης και στην υποομάδα Ta-T1 ( $p=0,002$ ) (Εικόνα 35).

**Πίνακας 3.1 Συσχετίσεις της COX-2 με βιολογικούς δείκτες**

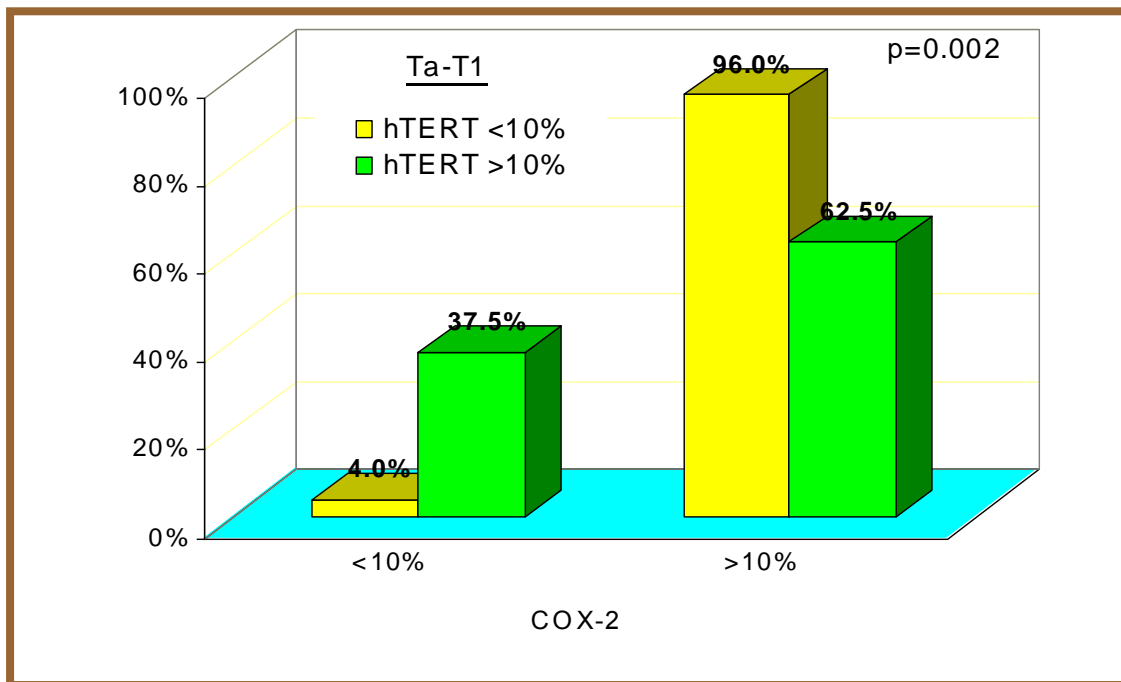
<b>ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ</b>	<b>Σύνολο</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>p</b>
<b>hTERT</b> <b>πυρηνική</b> <b>έκφραση</b>				
<10%	48	42	87,5	<b>0,009</b>
>10%	67	44	65,7	
<b>Κασπάση-3</b>				
<20%	57	35	61,4	<b>0,007</b>
>20%	24	22	91,7	



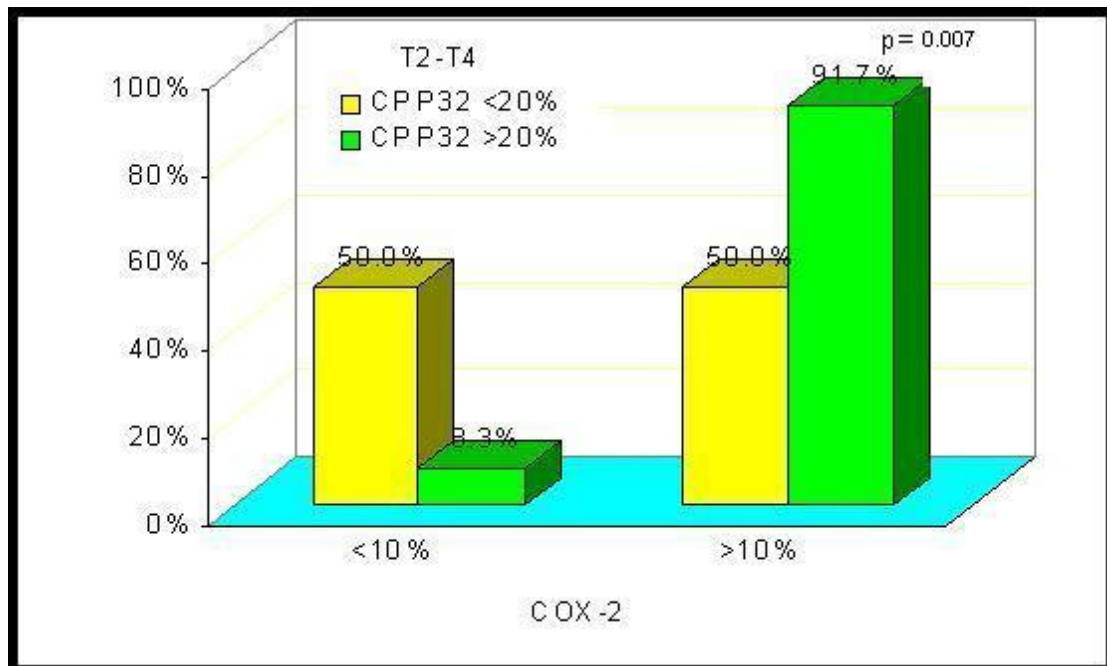


**Εικόνα 34.** Σχηματική απεικόνιση της σχέσης της COX-2 με το δείκτη MLH1

**Εικόνα 35.** Σχηματική απεικόνιση της ανάστροφης σχέσης της COX-2 με την hTERT



**Εικόνα 36.** Σχηματική απεικόνιση της COX-2 με την έκφραση της κασπάσης-3 (CPP32)

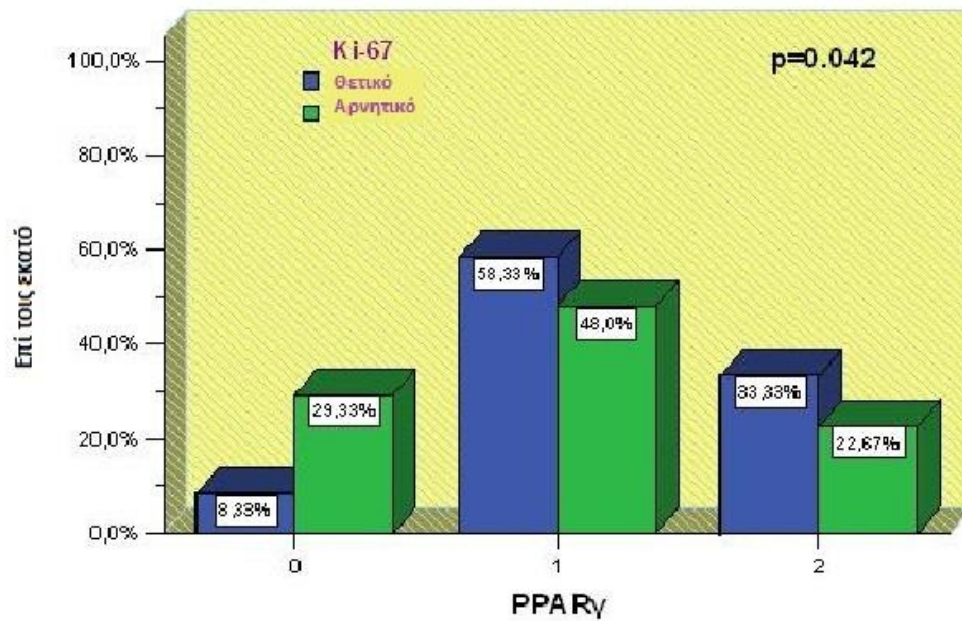


### **PPAR $\gamma$**

Η έκφραση του PPAR $\gamma$  συσχετίστηκε ανάστροφα με το δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 ( $p=0.042$ ) (Πίνακας 3.2, Εικόνα 37).

**Πίνακας 3.2 Συσχετίσεις του PPAR $\gamma$  με βιολογικούς δείκτες**

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	Θετική έκφραση του PPAR $\gamma$					p
	Αριθμός ασθενών	(1-49%)		(>=50%)		
		N				
Συνολικός Αριθμός	117	60	1,3	2	7,4	
<b>p53</b>						
Αρνητική	45	24	3,3	4	1,1	NS
Χαμηλή	32	15	6.9		8.1	
Μέτρια	26	14	3.8		9.2	
Έντονη	9	4	4.4		2.2	
<b>Ki-67</b>						
Αρνητική	36	21	8.33	2	3.33	<b>0.042</b>
Θετική	75	36	8	7	2.67	



**Εικόνα 37.** Σχηματική απεικόνιση της σχέσης του PPAR $\gamma$  με το δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67

## V. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2), ένα κριτικής σημασίας ένζυμο κατά τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος προς προσταγλανδίνη E<sub>2</sub>, επηρεάζει τη βιολογική συμπεριφορά των ανθρώπινων όγκων, εμπλεκόμενη στην καρκινογένεση, εξέλιξη του όγκου, μειωμένη απόπτωση και διαφοροποίηση.

Ο PPAR $\gamma$  αποτελεί μέλος της υπερικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων ενεργοποίησης της υπερπλασίας των υπεροξυσωμάτων (PPARs). Η σηματοδότηση του PPAR $\gamma$  επιφέρει ογκοκατασταλτική επίδραση μέσω αναστολής της αύξησης και επαγωγής απόπτωσης ή διαφοροποίησης, όπως επίσης και αναστολής της αγγειογένεσης. Αυτό καταδεικνύει τη σπουδαιότητά του και εκλαμβάνεται ισχυρά ως υποσχόμενος στόχος για αντικαρκινική θεραπεία.

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε ανοσοϊστοχημικά η πρωτεϊνική έκφραση της COX-2 και του PPAR $\gamma$  σε 134 ουροθηλιακά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης σε σχέση με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (βαθμός κακοηθείας, στάδιο νόσου και επιβίωση), καθώς επίσης με δείκτες αποπτωτικού δυναμικού, κυτταρικού πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης.

### COX-2

Η πρωτεΐνη **COX-2** εκφράστηκε σε ποσοστό 70.1% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων στα καρκινικά κύτταρα. Δεν παρατηρήθηκε έκφραση σε στρωματικά κύτταρα, ούτε σε φυσιολογικά ουροθηλιακά κύτταρα, εύρημα με το οποίο συμφωνεί η πλειοψηφία των ερευνητών στη διεθνή βιβλιογραφία ( 228, 220, 219,199).

Στη μελέτη των Mohammed και συν, 1999, η πρωτεΐνη COX-2 εκφράστηκε σε ποσοστό 86% των περιπτώσεων διηθητικών ουροθηλιακών καρκινωμάτων (228). Οι Ristimaki και συν, 2001 παρατήρησαν την έκφραση της COX-2 σε ποσοστό 66% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων (227), ποσοστό που συμφωνεί με τα δικά μας ευρήματα. Γενικά, η ανίχνευση της υπερέκφρασης της COX-2 σε ουροθηλιακά καρκινώματα διακυμαίνεται σε ποσοστά από 85% έως 31% ( Shariat και συν 2003, Wulfig και συν, 2004, Margulis και συν, 2007 Hammam και συν, 2008, Aziz και συν, 2011, Wadhwa και συν 2005, Wild και συν 2005, Friedrich και συν 2003, Ke και συν 2012, Komhoff και συν 2000, Shirahama και συν 2001, Gurocak και συν 2006, Kim και συν 2002, Yamada και συν 2008, Czachorowski και συν 2012).

Από την άλλη μεριά, υπάρχουν μελετητές, που αναφέρουν ότι η COX-2 δεν εκφράστηκε καθόλου, όπως σε χαμηλόβαθμα ουροθηλιακά καρκινώματα (Komhoff και συν 2000) (220), ή εκφράστηκε σε πολύ χαμηλά ποσοστά (Eschwege και συν 2003) (219).

Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται σε διαφορετικούς παράγοντες: α) στη διαφορετική συλλογή περιστατικών, π.χ. υλικό ριζικών κυστεκτομών, υλικό διουρηθρικών εκτομών β) στον διαφορετικό αριθμό των περιπτώσεων, που μελέτησαν οι διάφοροι ερευνητές και ο οποίος παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση (από 38 έως 266) και γ) στη χρήση διαφορετικών αντισωμάτων με διαφορετικές αραιώσεις και διαφορετική μεθοδολογία και διαφορετικό cut off.

Η έκφραση της COX-2 δεν παρουσιάζει σχέση με τους κλασικούς προγνωστικούς δείκτες, όπως βαθμό κακοηθείας και στάδιο της νόσου. Τα ως άνω ευρήματα έρχονται σε συμφωνία με τα ευρήματα άλλων ερευνητών (Shariat και συν 2003, Wulfing και συν 2004, Aziz και συν 2011, Czachorowski και συν 2012) (234, 238, 202, 350). Αντίθετα, υπάρχουν ερευνητές, που παρατήρησαν συσχέτιση με το βαθμό κακοηθείας (Kim και συν 2002, Komhoff και συν 2000) (235, 220), ή το στάδιο της νόσου (Shirahama και συν 2001, Margulis και συν 2007, Gurocak και συν 2006, Shariat και συν 2003) (222, 199, 230, 234), ή/και βαθμό κακοηθείας ή/και το στάδιο νόσου (Hammam και συν 2008, Wild και συν 2005, Wadhwa και συν 2005, Yamada και συν 2008) (198, 229, 231, 257). Η διαφορά αυτή πιθανώς οφείλεται στο ότι το υλικό, που χρησιμοποίησαν οι περισσότεροι ερευνητές ήταν ριζικές κυστεκτομές (199) ή ο αριθμός των περιπτώσεων ήταν μικρός (198, 257) ή χρησιμοποίησαν άλλες μεθόδους, (όπως παραδείγματος χάρη ιστοτικές μικροσυστοιχίες - TMA) (Wild και συν 2005) (229).

Όσον αφορά την επιβίωση των ασθενών, παρατηρήθηκε ότι ασθενείς με επιφανειακά (μη-μυοδιηθητικά) καρκινώματα, υψηλού βαθμού κακοηθείας (grade II και III) εμφανίζουν δυσμενή πρόγνωση ( $p=0.002$ ). Στη διεθνή βιβλιογραφία, η έκφραση της COX-2 σχετίστηκε με υποτροπή και εξέλιξη της νόσου σε υψηλόβαθμα επιφανειακά (pT1G3) καρκινώματα (Kim και συν 2002) (235), εύρημα που ενισχύει τα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης.

Παρόλα αυτά, υπάρχουν μελέτες, που αναφέρουν αντίθετα αποτελέσματα: σύμφωνα με τους Tadin και συν 2012, η χαμηλότερη έκφραση της COX-2 σχετίστηκε με υποτροπή του όγκου σε επιφανειακά καρκινώματα (216). Το εύρημα αυτό αποδόθηκε στο γεγονός ότι, παρότι η COX-2 ρυθμίζεται ανοδικά κατά την εξέλιξη του όγκου, ο

ρόλος της στα αρχικά στάδια της ογκογένεσης είναι πολύ σύνθετος και φαίνεται να σχετίζεται με τη φλεγμονώδη αντίδραση του στρώματος. Επιπλέον, οι Shariat και συν 2003 και Margulis και συν 2007 παρατήρησαν αρνητική συσχέτιση μεταξύ έντονης έκφρασης της COX-2 και εξέλιξης του όγκου και θνησιμότητας (234, 199). Επιπρόσθετα, ορισμένοι ερευνητές (Friedrich και συν 2003, Wild και συν 2005, Wulfing και συν 2004) δεν βρήκαν συσχέτιση της έκφρασης της COX-2 σε ουροθηλιακά καρκινώματα με την επιβίωση, ή με την υποτροπή της νόσου (194, 229, 238).

Άλλοι μελετητές (Aziz και συν 2011) παρουσίασαν αυξημένη νοσο-ειδική επιβίωση, ελεύθερης υποτροπών (202), εύρημα που δεν συμφωνεί με το δικό μας. Το γεγονός αυτό, όπως και στα διαφορετικά ποσοστά, που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία, μπορεί να οφείλονται στους ίδιους λόγους, που προαναφέραμε.

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της COX-2 με τους μοριακούς δείκτες p53 και Bcl-2 στο σύνολο των περιπτώσεων. Σε αντίθεση με τη δική μας μελέτη, η p53 βρέθηκε να εκφράζεται σημαντικά σε σειρά ουροθηλιακών καρκινωμάτων (229) από άλλους ερευνητές (Wild και συν 2005). Επίσης, σε άλλη μελέτη (Karamitoroulou και συν 2010), η bcl-2 πρωτεΐνη ανιχνεύτηκε πιο συχνά σε T1 παρά σε T2 ουροθηλιακά καρκινώματα, ενώ η p53 ανευρέθηκε σε υψηλόβαθμα υψηλότερου σταδίου καρκινώματα συγκριτικά με χαμηλόβαθμους, χαμηλότερου σταδίου ουροθηλιακούς όγκους (203). Η διαφορά των δικών μας αποτελεσμάτων με τα ανωτέρω ευρήματα αποδίδεται στο διαφορετικό αριθμό των περιστατικών, που μελετήθηκαν.

Παρατηρήθηκε παράλληλη συσχέτιση της έκφρασης της COX-2 με τον αποπτωτικό δείκτη caspase-3 ( $p=0.007$ ), την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη bax ( $p=0.026$ ) και την πρωτεΐνη επιδιόρθωσης του DNA MLH1 ( $p=0,019$ ), γεγονός που υποδηλώνει τη συμμετοχή της COX-2 στην αποπτωτική διαδικασία μέσω της προαγωγής της απόπτωσης. Σε προηγούμενη δική μας μελέτη (Giannopoulou και συν 2002), βρέθηκε αξιοσημείωτη έκφραση των πρωτεϊνών bax και caspase-3 σε ουροθηλιακά καρκινώματα, ενώ η πρωτεΐνη bax αναδείχτηκε σε ανεξάρτητο προβλεπτικό δείκτη ευνοϊκής πρόγνωσης (346). Άλλοι ερευνητές (Margulis και συν 2007) βρήκαν τροποποιημένη έκφραση της caspase-3 (199). Οι Karamitoroulou και συν 2010 βρήκαν συχνότερη έκφραση των COX-2, caspase-3 και bax πρωτεϊνής σε υψηλόβαθμα, υψηλότερου σταδίου καρκινώματα συγκριτικά με χαμηλόβαθμους, χαμηλότερου σταδίου όγκους (203), εύρημα που συμφωνεί εν μέρει με τα δικά μας

αποτελέσματα ως προς την αυξημένη έκφραση των COX-2, caspase-3 και bax πρωτεΐνης στα ουροθηλιακά καρκινώματα. Οι Zhang και συν 2009 παρατήρησαν έκφραση του συνδυασμού γονιδίων κασπασών με το ενδογενές γονίδιο COX-2 σε σειρές κυτταροκαλλιέργειών καρκινώματος ουροδόχου κύστης με σχετικά γραμμικό τρόπο (250).

Οι Smakman και συν 2005 μείωσαν το αποτέλεσμα του πειραματικού ορθοτοπικού καρκίνου μέσω ενεργοποίησης των κασπασών σε καλλιέργειες κυττάρων καρκίνου ουροδόχου κύστης (T24) κατόπιν χορήγησης του NS-398, ενός εκλεκτικού αναστολέα της COX-2 (251), εύρημα που υποστηρίζει μια κατευθυνόμενη απόπτωση ως πιθανή θεραπεία σε όγκους, που υπερεκφράζουν την COX-2.

Στις περιπτώσεις μας, η αρνητική έκφραση της COX-2 ήταν σημαντικά πιο συνήθης σε ουροθηλιακά καρκινώματα με πιθανώς ελαττωματικό MMR, το οποίο ορίζεται από την απουσία της έκφρασης της MLH1 πρωτεΐνης. Η απενεργοποίηση των γονιδίων, που κωδικοποιούν το σύστημα MMR (*MSH2* και *MLH1*) και οι επακόλουθες ελαττωματικές πρωτεΐνες MSH2 και MLH1 έχουν ως αποτέλεσμα αύξηση του αριθμού των μεταλλάξεων, που οδηγούν στην ανάπτυξη μικροδορυφορικής αστάθειας και κακοήθειας (352). Σε άλλη μελέτη μας (Lazaris και συν 2006), τα χαμηλά επίπεδα της πρωτεΐνης MLH1 σε ουροθηλιακά καρκινώματα συσχετίστηκαν με μειωμένη έκφραση της caspase-3, άρα με μειωμένο αποπτωτικό δυναμικό (322). Βεβαίως, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα, θα πρέπει να αποτιμηθεί η λειτουργική κατάσταση των υπόλοιπων γονιδίων MMR. Οι Kassem και συν, 2001 ανίχνευσαν ανοσοθετικότητα της MLH1 πρωτεΐνης σε ουροθηλιακά καρκινώματα, υποδεικνύοντας πιθανό ρόλο της MLH1 στην ογκογένεση ή/και εξέλιξη του όγκου (367), όμως ο αριθμός των περιπτώσεων ήταν μικρός (n=24). Παρόμοια με τα δικά μας ευρήματα, παρατηρήθηκαν και σε άλλους καρκίνους, όπως παραδείγματος χάρη σε κολοορθικούς και γαστρικούς καρκίνους, όπου η COX-2 φαίνεται να είναι σημαντικά μειωμένη με ελαττωματικό MMR (353, 354, 355, 458).

Η ανοσοθετικότητα της COX-2 βρέθηκε να συσχετίζεται ανάστροφα με την πυρηνική εντόπιση της καταλυτικής υπομονάδας του συμπλέγματος της τελομεράσης, hTERT (p=0.009). Ο αντι-αποπτωτικός ρόλος της hTERT σε ανοσοϊστοχημικό επίπεδο έχει παρατηρηθεί σε ουροθηλιακά καρκινώματα από λίγους προηγούμενους μελετητές (Manrommatis και συν 2005, Shaker και συν 2011), δεδομένου ότι οι περισσότεροι ερευνητές ανιχνεύουν τη δράση της hTERT στα ούρα (348, 325). Η ανάστροφη



συσχέτιση της έκφρασης της COX-2 με την hTERT ισχυροποιεί τη συμμετοχή της COX-2 στην προαγωγή της απόπτωσης.

Συνεπώς, με βάση τη θετική συσχέτιση της COX-2 με δείκτες αποπτωτικού δυναμικού (caspase-3, πρωτεΐνη bax και MLH1), η ανάστροφη συσχέτισή της με το αντιαποπτωτικό πυρηνικό δυναμικό της hTERT, υποστηρίζει περαιτέρω τη θετική σχέση της COX-2 με την απόπτωση.

Δεδομένου του αντιαποπτωτικού ρόλου, που αποδίδεται στην υπερέκφραση της COX-2 (331, 332) και της ενίσχυσης της απόπτωσης που φάνηκε να επάγεται από τα Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη (ΜΣΑΦ) (333), η αναφερθείσα συσχέτιση μεταξύ της ανοσοέκφρασης της COX-2 και δεικτών αποπτωτικού δυναμικού φαίνεται αμφιλεγόμενη. Παρ' όλα αυτά, μελέτες έχουν δείξει ότι παράγοντες όπως τα ΜΣΑΦ (336), TGFβ (337), βουτυρικό (338) και κεραμίδιο (339), σε δόσεις που προκαλούν απόπτωση, επάγουν την αύξηση της έκφρασης της COX-2 πρωτεΐνης. Το εύρημα αυτό υποστηρίζει ότι η επαγόμενη έκφραση της COX-2 αποτελεί απάντηση σε αποπτωτικό ερέθισμα. Έτσι, είναι δυνατόν με τη θετική ρύθμιση της COX-2, τα καρκινικά κύτταρα να αντιστέκονται στην απόπτωση. Υποστηρικτικό της άποψης αυτής είναι το γεγονός ότι η βλάβη του DNA σε κύτταρα του παχέος εντέρου, με την επακόλουθη επαγωγή του αποπτωτικού μονοπατιού των κασπασών, οδήγησε σε ενίσχυση της δραστηριότητας του υποκινητή της COX-2 (362).

Επιπλέον, ως προς το ρόλο της COX-2 στην απόπτωση, οι Elder και συν 2002 αφού έδειξαν ότι ο εκλεκτικός αναστολέας της COX-2, NS-398, επάγει απόπτωση στα κολοορθικά νεοπλασματικά κύτταρα και αυξάνει την έκφραση της πρωτεΐνης COX-2, υπέθεσαν ότι η υπερέκφραση της COX-2 μπορεί να προκαλέσει αντίσταση στην απόπτωση και άρα ενίσχυση του ογκογόνου δυναμικού σε εντερικά επιθήλια (240). Άλλοι ερευνητές (Brown και συν 2005) διαπιστώνουν ότι η συχνά παρατηρούμενη αντίσταση στη θεραπεία των όγκων θα μπορούσε να οφείλεται σε προβληματική απάντηση σε αποπτωτικά ερεθίσματα, υπόθεση που υπαινίσσεται ότι η απόπτωση δεν είναι ο κύριος μηχανισμός θανάτου των καρκινικών κυττάρων σε απάντηση στις συνήθεις θεραπευτικές αγωγές (225). Οι Gee και συν 2006, παρατήρησαν επαγωγή της απόπτωσης σε κυτταρικές σειρές καρκίνου ουροδόχου κύστης μέσω καθοδικής ρύθμισης της πρωτεΐνης bcl-2, ανεξάρτητα από τα επίπεδα έκφρασης της COX-2, υποδεικνύοντας την παρουσία COX-ανεξάρτητου μονοπατιού (258). Τέλος, σε πρόσφατη μελέτη των Baris και συν 2013, διαφαίνεται ένας αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου ουροδόχου κύστης με την παρατεταμένη χρονικά και

συσσωρευμένη ποσοτικά χρήση εκλεκτικών αναστολέων της COX-2, σχέση που δεν είχε αναγνωριστεί ιδιαίτερα μέχρι σήμερα (312). Τα ως άνω ευρήματα ενισχύουν τον πιθανό πολυλειτουργικό και ενδεχομένως σύνθετο ρόλο της COX-2 στη διαδικασία της απόπτωσης.

## **PPAR $\gamma$**

Ανοσοθετικότητα για τον **PPAR $\gamma$**  παρατηρήθηκε σε ποσοστό 78,6% των περιπτώσεων των ουροθηλιακών καρκινωμάτων στους πυρήνες των καρκινικών κυττάρων. Παρόμοια ευρήματα αναφέρονται και από τους Nakashiro και συν 2001, Matsuyama και συν 2009, Mansure και συν 2013, όντας σε συμφωνία με τα δικά μας αποτελέσματα ως προς την εντόπιση του PPAR $\gamma$  ως πυρηνικού υποδοχέα σε κύτταρα με ουροθηλιακό καρκίνο (308, 457, 266).

Η παράλληλη έκφραση του PPAR $\gamma$  με τα επιφανειακά (Ta-T1) καρκινώματα ( $p < 0.001$ ) υποδηλώνει ότι ο PPAR $\gamma$  συμμετέχει σε πρώιμο στάδιο της καρκινογένεσης. Το εύρημα αυτό συμφωνεί και με άλλους ερευνητές, που βρήκαν θετική έκφραση του PPAR $\gamma$  σε χαμηλόβαθμα ουροθηλιακά καρκινώματα (Nakashiro και συν 2001, Yoshimura και συν 2003) (308,271) ή/και χαμηλή έκφραση σε σχέση με το βαθμό και το στάδιο (Petta και συν 2010, Sandes και συν 2012) (267, 282).

Επίσης, παρατηρήθηκε ανάστροφη σχέση της έκφρασης του PPAR $\gamma$  με το βαθμό κακοηθείας ( $p = 0.002$ ) και με τον δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 ( $p = 0.042$ ). Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν υπέρ του ότι ο PPAR $\gamma$  έχει σχέση με ολιγότερο επιθετικό φαινότυπο της νόσου.

Τα ανωτέρω ευρήματα συσχετίστηκαν στη μελέτη μας και με την καλύτερη επιβίωση των ασθενών αυτών ( $p = 0.001$ ). Στη διεθνή βιβλιογραφία, ερευνητές συσχέτισαν τη χαμηλή έκφραση του PPAR $\gamma$  με πτωχή πρόγνωση (Sandes και συν 2012) (282), ενώ η παρουσία του PPAR $\gamma$  σχετίστηκε με χαμηλή επίπτωση υποτροπής όγκου ή εξέλιξης (Possati και συν 2000, Leibovici και συν 2005) (272, 288). Τα ως άνω ευρήματα ενισχύουν τα δικά μας αποτελέσματα. Σε προηγούμενη δική μας μελέτη (Nakoroulou και συν 1998), ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 σχετίστηκε με το στάδιο και το βαθμό κακοηθείας σε ουροθηλιακά καρκινώματα (290).

Στηριζόμενοι στα εν λόγω ευρήματα, υπάρχουν κλινικές μελέτες, όπου οι συνδέτες PPAR $\gamma$ , μόνοι ή και σε συνδυασμό με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες,

χρησιμοποιούνται ως στοχευμένη θεραπεία. Οι περισσότεροι ερευνητές (Guan και συν 1999, Kawakam και συν 2002) έχουν μελετήσει τις επιδράσεις ενδογενών και συνθετικών συνδετών PPAR $\gamma$  σε σχέση με μοριακούς δείκτες, όπως p21, p16, cyclin D1 για την εκτίμηση του ρόλου του PPAR $\gamma$  στη διαφοροποίηση και στην επιβίωση (274, 263). Επίσης, φαίνεται πως οι συνδέτες PPAR $\gamma$  μπορούν να είναι αντιογκογόνοι με επιδράσεις αντι-πολλαπλασιαστικές, προ-διαφοροποίησης και αντι-αγγειογενετικές (Rumi και συν 2004, Kassouf και συν 2006, Chaffer και συν 2006) (261, 269, 280). Από την άλλη μεριά, υπάρχει μια πρόσφατη μελέτη γονιδιακών αντιγράφων (Yang και συν 2013), όπου παρατηρήθηκε συσχέτιση της ενίσχυσης του PPAR $\gamma$  με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων σε περίπτωση χορήγησης συνδετών PPAR $\gamma$  σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, εύρημα που συνδέθηκε με προώθηση της καρκινικής μετανάστευσης και διήθησης (265). Παρόλα αυτά, η σύγχρονη τάση (Mansure και συν 2013) είναι η συγχορήγηση PPAR $\gamma$  αγωνιστή και ενδεχομένως αναστολέα του EGFR, με σκοπό την αναστολή ανάπτυξης του ουροθηλιακού καρκίνου (266).

### **Συμπεράσματα**

Η πρωτεΐνη COX-2 φαίνεται να συσχετίζεται με την προαγωγή της απόπτωσης στα ουροθηλιακά καρκινώματα μέσω της παράλληλης σχέσης της με τις πρωτεΐνες caspase-3, bax και MLH1 καθώς και μέσω της αντίστροφης σχέσης της με την καταλυτική υπομονάδα του συμπλέγματος της τελομεράσης, hTERT. Αυτό καταδεικνύεται εντονότερα για τους δείκτες hTERT και MLH1 στους ασθενείς με επιφανειακά καρκινώματα. Από την άλλη μεριά, αυτή η έκφραση των δεικτών αυτών στα επιφανειακά καρκινώματα δείχνει έμμεσα την πιθανή συμμετοχή της COX-2 σε αρχικά στάδια καρκινογένεσης. Αξιοσημείωτο είναι ότι η υποομάδα ασθενών T<sub>a</sub>-T<sub>1</sub>, grade II και III, που εκφράζουν την COX-2, εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση, γεγονός που καθιστά την COX-2 έναν ενδιαφέροντα δείκτη για στοχευμένη θεραπεία στην ομάδα αυτή.

Η έκφραση του PPAR $\gamma$  στα ουροθηλιακά καρκινώματα φαίνεται να εμπλέκεται στην αρχή της καρκινογένεσης και να αποτελεί καλό φαινότυπο μέσω της αντίστροφης σχέσης με το βαθμό κακοηθείας και του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67. Τα ως άνω ευρήματα ενισχύουν τη συσχέτιση του PPAR $\gamma$  με την καλή πρόγνωση των ασθενών με ουροθηλιακά καρκινώματα.

## **VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

### **Εισαγωγή**

Η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2), ένα κριτικής σημασίας ένζυμο κατά τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος προς προσταγλανδίνη E2, επηρεάζει τη βιολογική συμπεριφορά των ανθρώπινων όγκων, εμπλεκόμενη στην καρκινογένεση, εξέλιξη του όγκου, μειωμένη απόπτωση και διαφοροποίηση. Ο PPAR $\gamma$  αποτελεί μέλος της υπερικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων ενεργοποίησης της υπερπλασίας των υπεροξυσωμάτων (PPARs). Η σηματοδότηση του PPAR $\gamma$  επιφέρει ογκοκατασταλτική επίδραση μέσω αναστολής της αύξησης και επαγωγής απόπτωσης ή διαφοροποίησης, όπως επίσης και αναστολής της αγγειογένεσης. Αυτό καταδεικνύει τη σπουδαιότητά του και εκλαμβάνεται ισχυρά ως υποσχόμενος στόχος για αντικαρκινική θεραπεία.

### **Σκοπός Μέθοδοι**

Εφαρμόστηκε ανοσοϊστοχημική μέθοδος τριών βημάτων σε τομές παραφίνης από 134 ασθενείς με ουροθηλιακά καρκινώματα της ουροδόχου κύστης με στόχο την εντόπιση των COX-2 και PPAR $\gamma$  και τη συσχέτισή τους με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (ιστολογικό βαθμό κακοηθείας και παθολογοανατομικό στάδιο διήθησης), δείκτες αποπτωτικού δυναμικού και διαφοροποίησης (caspase-3, πρωτεΐνη bax, MLH1, hTERT και Ki-67), καθώς και την επιβίωση των ασθενών. Τα αποτελέσματα των δεικτών αποπτωτικού δυναμικού και διαφοροποίησης βρίσκονται σε βάση δεδομένων.

Χρησιμοποιήθηκε επίσης η ανάλυση εικόνας (image analysis) για τον PPAR $\gamma$ , λόγω της πυρηνικής του έκφρασης.

Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν με μονοπαραγοντική (Pearson's- chi – square test) και πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση (μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης ή Cox proportional hazard regression model). Οι καμπύλες επιβίωσης προέκυψαν με δοκιμασία Kaplan – Meier και long rank στατιστική ανάλυση.

### **Αποτελέσματα**

#### **1) Έκφραση COX-2**

Παρατηρήθηκε ενισχυμένη έκφραση της COX-2 σε ποσοστό 70.1% των ουροθηλιακών καρκινωμάτων, που μελετήθηκαν. Η έκφραση της COX-2 δεν συσχετίστηκε με κλασικούς προγνωστικούς δείκτες (ιστολογικός βαθμός κακοηθείας

και παθολογοανατομικό στάδιο διήθησης). Η COX-2 παρουσίασε θετική συσχέτιση με την έκφραση της κασπάσης-3, της πρωτεΐνης bax και του MLH1 ( $p=0.007$ ,  $p=0.026$  και  $p=0.019$  αντίστοιχα). Η πρωτεΐνη COX-2 συσχετίστηκε ανάστροφα σε σχέση με την πυρηνική έκφραση της hTERT ( $p=0,009$ ). Δεν βρέθηκε στατιστική συσχέτιση της ολικής επιβίωσης των ασθενών σε σχέση με την έκφραση της COX-2 ( $p=0.243$ ). Όσον αφορά τα επιφανειακά καρκινώματα (pTa-T1), η έκφραση της COX-2 συσχετίστηκε ανάστροφα με την επιβίωση των ασθενών και κυρίως σε ασθενείς με βαθμό κακοηθείας II και III ( $p=0,002$ ), άρα συσχετίστηκε με χειρότερη πρόγνωση ασθενών με επιφανειακά ουροθηλιακά καρκινώματα.

## **2) Έκφραση PPAR $\gamma$**

Ο PPAR $\gamma$  είχε πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση σε ποσοστό 78,6% και παρουσίασε ανάστροφη συσχέτιση με το στάδιο διήθησης ( $p<0.001$ ), καθώς ανιχνεύτηκε πιο συχνά σε επιφανειακούς (Ta-T1) παρά σε διηθητικούς (T2-T4) όγκους. Επιπλέον, συσχετίστηκε αντίστροφα με το βαθμό κακοηθείας του όγκου, καθώς βρέθηκε να εκφράζεται πιο συχνά σε χαμηλού (grade I) παρά σε υψηλότερου βαθμού όγκους (grade II και III) ( $p=0.002$ ). Τέλος, η έκφραση του PPAR $\gamma$  συσχετίστηκε ανάστροφα με το δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 ( $p=0.042$ ).

## **Συμπεράσματα**

Η πρωτεΐνη COX-2 φαίνεται να συσχετίζεται με την προαγωγή της απόπτωσης στα ουροθηλιακά καρκινώματα μέσω της παράλληλης σχέσης της με τις πρωτεΐνες caspase-3, bax και MLH1, καθώς και μέσω της ανάστροφης σχέσης της με την καταλυτική υπομονάδα του συμπλέγματος της τελομεράσης hTERT. Αυτό καταδεικνύεται εντονότερα για τους δείκτες hTERT και MLH1 στους ασθενείς με επιφανειακά καρκινώματα. Από την άλλη μεριά, η έκφραση των δεικτών αυτών στα επιφανειακά καρκινώματα δείχνει έμμεσα την πιθανή συμμετοχή της COX-2 σε αρχικά στάδια της καρκινογένεσης. Αξιοσημείωτο είναι ότι η υποομάδα ασθενών Ta-T1, βαθμού II και III, που εκφράζουν την COX-2, εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση, γεγονός που καθιστά την COX-2 έναν ενδιαφέροντα δείκτη για στοχευμένη θεραπεία στην ομάδα αυτή. Η έκφραση του PPAR $\gamma$  στα ουροθηλιακά καρκινώματα φαίνεται να εμπλέκεται στην αρχή της καρκινογένεσης, να αποτελεί έναν ευνοϊκό φαινότυπο μέσω του βαθμού κακοηθείας και του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67, και να συσχετίζεται με την καλή πρόγνωση των ασθενών.

## VII. SUMMARY

**Introduction:** Cyclooxygenase-2 (COX-2), a critical enzyme in the conversion of arachidonic acid to prostaglandin E2, influences the biological behavior of human tumors, being involved in carcinogenesis, tumor progression, reduced apoptosis and differentiation. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) is a ligand – activated transcriptional factor with anti-proliferative and anti-tumoral effects. Although COX-2 and PPAR $\gamma$  have been implicated in the progression of various human cancers, their expression in bladder cancer has not been addressed.

**Methods:** Immunohistochemistry (ABC-HRP method) and image analysis were performed to detect expression of COX-2 and PPAR $\gamma$  in 134 urothelial bladder carcinomas. To assess their role in bladder cancer, their expression was evaluated in relation to known clinicopathologic parameters (grade and stage), markers of apoptotic potential and differentiation (caspase-3, bax-protein, MLH1, hTERT and Ki-67) and patients' overall survival.

**Results:** Immunoreactivity for COX-2 and PPAR $\gamma$  was observed in the cytoplasm and in the nucleus of cancer cells in 70.1% and 78.6% of samples respectively. COX-2 expression was unrelated to tumor grade and local invasion but it was positively linked with caspase-3, bax-protein and MLH1 ( $p=0.007$ ,  $p=0.026$  and  $p=0.019$  respectively), and inversely correlated to hTERT ( $p=0.009$ ). COX-2 immunopositivity was independently associated with worse prognosis of patients with non-muscle invasive urothelial carcinomas ( $p=0.002$ ). PPAR $\gamma$  expression was inversely associated with stage ( $p<0.001$ ), tumor grade ( $p=0.002$ ) and the expression of Ki-67 ( $p=0.042$ ), while it was found to exert a favorable effect on patients' overall survival ( $p=0.001$ ).

**Conclusion:** COX-2 overexpression, being possibly a subsequence of apoptosis activation, due to its positive link with caspase-3, bax-protein and MLH1 and its inverse correlation to hTERT, is associated with an unfavorable overall survival in patients with pTa-T1 urothelial carcinomas. PPAR $\gamma$  expression can identify patients with a better prognosis who suffer from more differentiated, non-invasive urothelial carcinomas of low proliferative potential.

## VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Παπαδόπουλος Ν, Κατρίτσης Ε. Ανατομική του Ανθρώπου. Εκδ. Λίτσας.
2. Moore, Persaud, Shiota. Έγχρωμη Κλινική Εμβρυολογία. Εκδ. Πασχαλίδης, σελ. 165-179, 1997.
3. Urologic Surgical Pathology, edited by David Bostwick and John Eble, Mosby, 1997.
4. Eble JN, Souter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. Tumors of the urinary system and male genital organs. World Health Organization Classification of tumors Pathology and Genetics. Lyon: IARC Press; 2004.
5. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM (2001). GLOBOCAN 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide IARC Press: Lyon
6. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J (1999). Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 59: 494-504
7. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB (2003). Cancer Incidence In Five Continents. IARC Scientific Publications No 155. IARC Press: Lyon
8. Pisani P, Bray F, Parkin DM (2002). Estimates of the world-wide prevalence of cancer of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer* 97: 72-81
9. IARC (2004). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC Press: Lyon (in press)
10. Brennan P, Bogillot O, Cordier S, Greiser E, Schill W, Vineis P, Lopez-Abente G, Tzonou A, Chang-Claude J, Bolm-Audorff U, Jockel KH, Donato F, Serra C, Wahrendorf J, Hours M, T'Mannetje A, Kogevinas M, Boffetta P (2000). Cigarette smoking and bladder cancer in men: a pooled analysis of 11 case-control studies. *Int J Cancer* 86:289-294
11. Castela JE, Yuan JM, Skipper PL, Tannenbaum SR, Gago-Dominguez M, Crowder JS, Ross RK, Yu MC (2001). Gender -and smoking- related bladder cancer risk. *J Natl Cancer Inst*:93:538-545
12. Engel LS, Taioli E, Pfeiffer R, Garcia-Closas M, Marcus PM, Lan Q, Boffetta P, Vineis P, Autrup H, Bell DA, Branch RA, Brockmoller J, Daly AK, Heckbert SR, Kalina I, Kang D, Katoh T, Lafuente A, Lin HJ, Romkes M, Taylor JA, Rothman N (2002). Pooled analysis and meta-analysis of glutathione S-transferase M1 and bladder cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 156: 95-109
13. Dietrich H, Dietrich B (2001). Ludwig Rehn (1849-1930)—pioneering findings on the aetiology of bladder tumours. *World J Urol* 19: 151-153
14. IARC (1987). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42. IARC Press: Lyon.
15. Pashos CL, Botteman MF, Laskin BL, Redaelli A (2002). Bladder cancer: epidemiology, diagnosis, and management. *Cancer Pract* 10: 311-322.
16. Blohme I, Johansson S (1981). Renal pelvic neoplasms and atypical urothelium in patients with end-stage analgesic nephropathy. *Kidney Int* 20: 671-675.

17. Mihatsch MJ, Knusli C (1982). Phenacetin abuse and malignant tumors. An autopsy study covering 25 years (1953-1977). *Klin Wochenschr* 60: 1339-1349.
18. McCredie M, Ford JM, Taylor JS, Steward JH (1982). Analgesics and cancer of the renal pelvis in New South Wales. *Cancer* 49: 2617-2625
19. Tanguay C, Harvey I, Houde M, Srigley JR, Tetu B (2003). Leiomyosarcoma of urinary bladder following cyclophosphamide therapy: report of two cases. *Mod Pathol* 16: 512-214.
20. Thiede T, Christensen BC (1969). Bladder tumours induced by chrolnaphazine-treated patients with polycythaemia. *Acta Med Scand* 185: 133-137.
21. Cantor KP, Lynch CF, Hildesheim ME, Dosemeci M, Lubin J, Alavanja M, Craun G (1998). Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology* 9: 21-28.
22. IARC (2004). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic. IARC Press: Lyon (in press)
23. IARC (1991). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Coffee, tea, mate, methylxanthines and methylglyoxal. IARC Press: Lyon.
24. Hartge P, Hoover R, West DW, Lyon JL (1983). Coffee drinking and risk of bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 70: 1021-1026
25. Woolcott CG, King WD, Marrett LD (2002). Coffee and tea consumption and cancers of the bladder, colon and rectum. *Eur J Cancer Prev* 11: 137-145.
26. Negri E, La Vecchia C (2001). Epidemiology and prevention of bladder cancer. *Eur J Cancer Prev* 10: 7-14.
27. IARC (1999). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some chemical that cause tumours of the kidney or uniryary bladder in rodents, and some other substances. IARC Press: Lyon.
28. Messing EM, Vaillancourt A (1990). Hematuria screening for bladder cancer. *J Occup Med* 32: 838-845.
29. Haleblan GE, Skinner EC, Dickinson MG, Lieskovsky G, Boyd SD, Skinner DG (1998). Hydronephrosis as a prognostic indicator in bladder cancer patients. *J Urol* 160: 2011-2014.
30. Denkhaus H, Crone-Munzebrock W, Huland H (1985). Noninvasive ultrasound in detecting and staging bladder carcinoma. *Urol Radiol* 7: 121-131
31. Koraitim M, Kamal B, Metwalli N, Zaky Y (1995). Transurethral ultrasonographic assessment of bladder carcinoma: its value and limitation. *J Urol* 154: 375-378
32. Liu JB, Bagley DH, Conlin MJ, Merton DA, Alexander AA, Goldberg BB (1997). Endoluminal sonographic evaluation of ureteral and reval pelvic neoplasms. *J Ultrasound Med* 16: 515-521
33. Herr HW, Donat SM, Dalbagni G (2002). Correlation of cystoscopy with histology of recurrent papillary tumors of the bladder. *J Urol* 168: 978-980
34. Dalbagni G, Herr HW, Reuter VE (2002). Impact of a second transurethral resection of the staging T1 bladder cancer. *Urology* 60: 822-824



35. Buszello H, Muller-Mattheis V, Ackermann R (1994). [Value of computerized tomography in detection of lymph node metastases in bladder cancer]. *Urologe A* 33: 243-246.
36. Bhutani MS, Suryaprasad S, Moezzi J, Seabrook D (1999). Improved technique for performing endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration of lymph nodes. *Endoscopy* 31: 550-553
37. Elbahnasy B, Hoenig DM, Shalhav A, McDougall EM, Clayman RV (1998). Laparoscopic staging of bladder tumor: concerns about port site metastases. *J Endourol* 12: 55-59
38. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK (1998). The World Health Organization/ International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee. *Am J Surg Pathol* 22: 1435-1448
39. Bostwick DG, Lopez-Beltran A (1999). *Bladder Biopsy Interpretation*. United Pathologists Press: Washington, DC.
40. Lopez-Beltran A, Pacelli A, Rothenberg HJ, Wollan PC, Zincke H, Blute ML, Bostwick DG (1998). Carcinosarcoma and sarcomatoid carcinoma of the bladder: clinicopathological study of 41 cases. *J Urol* 159: 1497-1503
41. Lopez-Beltran A, Martin J, Garcia J, Toro M (1988). Squamous and glandular differentiation in urothelial bladder carcinomas. Histopathology, histochemistry and immunohistochemical expression of carcinoembryonic antigen. *Histol Histopathol* 3: 63-68.
42. Lopez-Beltran A, Cheng L, Andersson L, Brausi M, de Matteis A, Montironi R, Sesterhenn I, van de Kwast T, Mazerolles C (2002). Preneoplastic non-papillary lesions and conditions of the urinary bladder: an update based on the Ancona International Consultation. *Virchows Arch* 440: 3-11
43. Martin JE, Jenkins BJ, Baithun SI (1989). Clinical importance of squamous metaplasia in invasive transitional cell carcinoma of the bladder. *J Clin Pathol* 42: 250-253.
44. Sakamoto N, Tsuneyoshi M, Enjoji M (1992). Urinary bladder carcinoma with a neoplastic squamous component: a mapping study of 31 cases. *Histopathology* 21: 135-141
45. Reuter VE (1999). Bladder. Risk and prognostic factors—a pathologist's perspective. *Urol Clin North Am* 26: 481-492.
46. Logothetis CJ, Dexeus FH, Chong C, Sella A, Ayala AG, Ro JY, Pilat S (1989). Cisplatin, cyclophosphamide and doxorubicin chemotherapy for unresectable urothelial tumors: the M.D. Anderson experience. *J Urol* 141: 33-37.
47. Budia Alba A, Queipo Zaragoza JA, Perez Ebri ML, Fuster Escriva A, Vera Donoso DC, Vera Sempere FJ, Jimenez Cruz JF (1999). [Comparative study of pure epidermoid carcinoma of the bladder and transitional cell with squamous or mixed differentiated foci]. *Actas Urol Esp* 23: 111-118.
48. Holmang S, Johansson SL (2001). The nested variant of transitional cell carcinoma—a rare neoplasm with poor prognosis. *Scand J Urol Nephrol* 35: 102-105.

49. Young RH, Oliva E (1996). Transitional cell carcinomas of the urinary bladder that may be underdiagnosed. A report of four invasive cases exemplifying the homology between neoplastic and non-neoplastic transitional cell lesions. *Am J Surg Pathol* 20: 1448-1454.
50. Leroy X, Leteurtre E, de La Taille A, Augusto D, Biserte J, Gosselin B (2002). Microcystic transitional cell carcinoma: a report of 2 cases arising in renal pelvis. *Arch Pathol Lab Med* 126: 859-861.
51. Johansson SL, Borghede G, Holmang S (1999). Micropapillary bladder carcinoma: a clinicopathological study of 20 cases. *J Urol* 161: 1798-1802
52. Lopez-Beltran A, Luque RJ, Vicioso L, Anglada F, Requena MJ, Quintero A, Montironi R (2001). Lymphoepithelioma-like carcinoma of the urinary bladder: a clinicopathological study of 13 cases. *Virchows Arch* 438: 552-557.
53. Amin MB, Ro JY, Lee KM, Ordonez NG, Dinney CP, Gulley ML, Ayala AG (1994). Lymphoepithelioma-like carcinoma of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol* 18: 466-473.
54. Manousakas T, Kyroudi A, Dimopoulos MA, Moraitis E, Mitropoulos D (2000). Plasmacytoid transitional cell carcinoma of the bladder. *BJU Int* 86: 910.
55. Gronau S, Menz CK, Melzner I, Hautmann R, Moller P, Barth TF (2002). Immunohistomorphologic and molecular cytogenetic of carcinosarcoma of the urinary bladder. *Virchows Arch* 440: 436-440.
56. Iczkowski KA, Shanks JH, Gadaleanu V, Cheng L, Jones EC, Neumann R, Nascimento AG, Bostwick DG (2001). Inflammatory pseudotumor and sarcoma of urinary bladder: differential diagnosis and outcome in thirty-eight spindle cell neoplasms. *Mod Pathol* 14: 1043-1051.
57. Zukerberg LR, Armin AR, Pisharodi L, Young RH (1990). Transitional cell carcinoma of the urinary bladder with osteoclast-type giant cells: a report of two cases and review of the literature. *Histopathology* 17: 407-411.
58. Campo E, Algaba F, Palacin A, Germa R, Sole-Balcels FJ, Cardesa A (1989). Placental proteins in high-grade urothelial neoplasms. An immunohistochemical study of human chorionic gonadotrophin, human placental lactogen, and pregnancy-specific beta-1-glycoprotein. *Cancer* 63: 1497-2504.
59. Oliva E, Amin MB, Jimenez R, Young RH (2002). Clear cell carcinoma of the urinary bladder: a report and comparison of four tumors of mullerian origin and nine of probable urothelial origin with discussion of histogenesis and diagnostic problems. *Am J Surg Pathol* 26: 190-197.
60. Mostofi FK, Davis CJ, Sesterhenn IA (1999). World Health Organization Histological Classification of Tumours. Histological Typing of Urinary Bladder Tumours, 2<sup>nd</sup> Edition. Springer Verlag: Berlin Heidelberg.
61. Wick MR, Berg LC, Hertz MI (1992). Large cell carcinoma of the lung with neuroendocrine differentiation. A comparison with large cell 'undifferentiated' pulmonary tumors. *Am J Clin Pathol* 97: 796-805.
62. Simon R, Burger H, Semjonow A, Hertle L, Terpe HJ, Bocker W (2000). Patterns of chromosomal imbalances in muscle invasive bladder cancer. *Int J oncol* 17: 1025-1029.

63. Simon R, Struckmann K, Schraml P, Wagner U, Forster T, Moch H, Fijan A, Bruderer J, Wilber K, Mihatsch MJ, Gasser T, Sauter G (2002). Amplification pattern of 12q13-q15 genes (MDM2, CDK4, GLI) in urinary bladder cancer. *Oncogene* 21: 2476-2483.
64. Gorgoulis VG, Barbatis C, Poulias I, Karameris AM (1995). Molecular and immunohistochemical evaluation of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 gene product in transitional cell carcinomas of the urinary bladder: a study in Greek patients. *Mod Pathol* 8: 758-764.
65. Knowles MA, Williamson M (1993). Mutation of H-ras is infrequent in bladder cancer: confirmation by single-strand conformation polymorphism analysis, designed restriction fragment length polymorphisms, and direct sequencing. *Cancer Res* 53: 133-139.
66. Sauter G, Haley J, Chew K, Kerschmann R, Moore D, Carroll P, Moch H, Gudat F, Mihatsch MJ, Waldman F (1994). Epidermal-growth-factor-receptor expression is associated with rapid tumor proliferation in bladder cancer. *Int J Cancer* 57: 508-514.
67. Shin KY, Kong G, Kim WS, Lee TY, Woo YN, Lee JD (1997). Overexpression of cyclin D1 correlates with early recurrence in superficial bladder cancers. *Br J Cancer* 75: 1788-1792.
68. Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, de Aloysio G, Ferrari P, Ardito R, de Gaetani C, Capelli G, Cittadini A, Trentini GP (2002). Cyclin D1 expression in papillary superficial bladder cancer: its association with other cell cycle-associated proteins, cell proliferation and clinical outcome. *Int J Cancer* 97: 671-678.
69. Bartel F, Taubert H, Harris LC (2002). Alternative and aberrant splicing of MDM2 mRNA in human cancer. *Cancer Cell* 2: 9-15.
70. Lu ML, Wikman F, Orntoft TF, Charytonowicz E, Rabbani F, Zhang Z, Dalbagni G, Pohar KS, Yu G, Cordon-Cardo C (2002). Impact of alterations affecting the p53 pathway in bladder cancer on clinical outcome, assessed by conventional and array-based methods. *Clin Cancer Res* 8: 171-179.
71. Kagan J, Liu J, Stein JD, Wagner SS, Babkowski R, Grossman BH, Katz RL (1998). Cluster of allele losses within a 2.5 cM region of chromosome 10 in high-grade invasive bladder cancer. *Oncogene* 16: 909-913.
72. Wang DS, Rieger-Christ K, Latini JM, Moynzadeh A, Stoffel J, Pezza JA, Saini K, Libertino JA, Summerhayes IC (2000). Molecular analysis of PTEN and MXI1 in primary bladder carcinoma. *Int J Cancer* 88: 620-625.
73. Ioachim E, Charchanti A, Stavropoulos NE, Skopelitou A, Athanassiou ED, Agnantis NJ (2000). Immunohistochemical expression of retinoblastoma gene product (Rb), p53 protein, MDM2, c-erbB-2, HLA-DR and proliferation indices in human urinary bladder carcinoma. *Histol Histopathol* 15:721-727.
74. Cairns P, Proctor AJ, Knowles MA (1991). Loss of heterozygosity at the RB locus is frequent and correlates with muscle invasion in bladder carcinoma. *Oncogene* 6: 2305-2309.

75. Logothetis CJ, Xu HJ, Ro JY, Hu SX, Sahin A, Ordonez N, Benedict WF (1992). Altered expression of retinoblastoma protein and known prognostic variables in locally advanced bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 84: 1256-1261.
76. Rodriguez-Alonso A, Pita-Fernandez S, Gonzalez-Carrero J, Nogueira-March JL (2002). Multivariate analysis of survival, recurrence, progression and development of metastasis in T1 and T2a transitional cell bladder carcinoma. *Cancer* 94: 1677-1684.
77. Hasui Y, Osada Y, Kitada S, Nishi S (1994). Significance of invasion to the muscularis mucosae and the progression of superficial bladder cancer. *Urology* 43: 782-786.
78. Lapham RL, Grignon DJ, Ro JY (1997). Pathologic prognostic parameters in bladder urothelial biopsy, transurethral resection, and cystectomy specimens. *Semin Diagn Pathol* 14: 109-122.
79. Jimenez RE, Gheiler E, Oskanian P, Tiguert R, Sakr W, Wood DP Jr, Pontes JE, Grignon DJ (2000). Grading the invasive component of urothelial carcinoma of the bladder and its relationship with progression-free survival. *Am J Surg Pathol* 24: 980-987.
80. Kausch I, Bohle A (2002). Molecular aspects of bladder cancer III. Prognostic markers of bladder cancer. *Eur Urol* 41: 15-29.
81. Grossman HB, Liebert M, Antelo M, Dinney CP, Hu SX, Palmers JL, Benedict WF (1998). p53 and RB expression predict progression in T1 bladder cancer. *Clin Cancer Res* 4: 829-834.
82. Schmitz-Drager BJ, Goebell PJ, Ebert T, Fradet Y (2000). p53 immunohistochemistry as a prognostic marker in bladder cancer. *Eur Urol* 32: 691-699.
83. Sauter G, Mihatsch MJ (1998). Pussycats and baby tigers: non-invasive (pTa) and minimally invasive (pT1) bladder carcinomas are not the same! *J Pathol* 185: 339-341.
84. Stein JP, Ginsberg DA, Grossfeld GD, Chatterjee SJ, Esrig D, Dickinson MG, Groshen S, Taylor CR, Jones PA, Skinner DG, Cote RJ (1998). Effect of p21WAF1/CIP1 expression on tumor progression in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 90: 1072-1079.
85. Qureshi KN, Griffiths TR, Robinson MC, Marsh C, Roberts JT, Lunec J, Neal DE, Mellon JK (2001). Combined p21WAF1/CIP1 and p53 overexpression predict improved survival in muscle-invasive bladder cancer treated by radical radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 51: 1234-1240.
86. Tiguert R, Lessard A, So A, Fradet Y (2002). Prognostic markers in muscle invasive bladder cancer. *World J Urol* 20: 190-195.
87. Cordon-Cardo C, Reuter VE (1997). Alterations of tumor suppressor genes in bladder cancer. *Semin Diagn Pathol* 14: 123-132.
88. Korkolopoulou P, Christodoulou P, Kapralos P, Exarchakos M, Bisbiroula A, Hadjiyiannakis M, Georgountzos C, Thomas-Tsagli E (1997). The role of p53, MDM2 and c-erb B-2 oncoproteins, epidermal growth factor receptor and

- proliferation markers in the prognosis of urinary bladder cancer. *Pathol Res Pract* 193: 767-775.
89. Gandour-Edwards R, Lara PN Jr, Folkins AK, LaSalle JM, Beckett L, Li Y, Meyers FJ, de Vere White R (2002). Does HER2/neu expression provide prognostic information in patients with advanced urothelial carcinoma? *Cancer* 95: 1009-1015.
  90. Jarvinen TA, Tanner M, Barlund M, Borg A, Isola J (1999). Characterization of topoisomerase II alpha gene amplification and deletion in breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 26: 142-150.
  91. Berger MS, Greenfield C, Gullick WJ, Haley J, Downward J, Neal DE, Harris AL, Waterfield MD (1987). Evaluation of epidermal growth factor receptors in bladder tumours. *Br J Cancer* 56: 533-537.
  92. Neal DE, Sharples L, Smith K, Fennelly J, Hall RR, Harris AL (1990). The epidermal growth factor receptor and the prognosis of bladder cancer. *Cancer* 65: 1619-1625.
  93. Mellon K, Wright C, Kelly P, Horne CH, Neal DE (1995). Long-term outcome related to epidermal growth factor receptor status in bladder cancer. *J Urol* 153: 919-925.
  94. Bchner BH, Cote RJ, Weidner N, Groshen S, Chen SC, Skinner DG, Nichols PW (1995). Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *J Natl Cancer Inst* 87: 1603-1612.
  95. Lianes P, Charytonowicz E, Cordon-Cardo C, Fradet Y, Grossman HB, Hemstreet GP, Waldman FM, Chew K, Wheelless LL, Faraggi D (1998). Biomarker study of primary nonmetastatic versus metastatic invasive bladder cancer. National Cancer Institute Bladder Tumor marker Network. *Clin Cancer Res* 4: 1267-1271.
  96. Grossfeld GD, Shi SR, Ginsberg DA, Rich KA, Skinner DG, Taylor CR, Cote RJ (1996). Immunohistochemical detection of thrombospondin-1 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *J Histochem Cytochem* 44: 761-766.
  97. Kim SI, Kwon SM, Kin YS, Hong SJ (2002). Association of cyclooxygenase-2 expression with prognosis of stage T1 grade 3 bladder cancer. *Urology* 60: 816-821.
  98. Raghavan D, Shipley WU, Garnick MB, Russell PJ, Richie JP (1990). Biology and management of bladder cancer. *N Engl J Med* 322: 1129-1138.
  99. Richter J, Jiang F, Grog JP, Sartorius G, Egenter C, Gasser TC, Moch H, Mihatsu MJ, Sauter G (1997). Marked genetic differences between stage pTa and stage pT1 papillary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 57: 2860-2864.
  100. Miyamoto H, Kubota Y, Shuin T, Torigoe S, Hosaka M, Iwasaki Y, Danenberg K, Danenberg PV (1993). Analyses of p53 gene mutations in primary human bladder cancer. *Oncol Res* 5: 245-249.
  101. Sauter G, Gasser TC, Moch H, Richter J, Jiang F, Albrecht R, Novotny H, Wagner U, Bubendorf L, Mihatsch MJ (1997). DNA aberrations in urinary bladder cancer detected by flow cytometry and FISH. *Urol Res* 25 Suppl 1: 37-43.

102. Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GT, Oliva MR, Zhang ZF, Rosai J, Reuter VE, Pellicer A (1994). p53 mutations in human bladder cancer: genotypic versus phenotypic patterns. *Int J Cancer* 56: 347-353.
103. Bohm M, Kleine-Besten R, Wiesland I (2000). Loss of heterozygosity analysis on chromosome 5p defines 5p13-12 as the critical region involved in tumor progression of bladder carcinomas. *Int J Cancer* 89: 194-197.
104. Hartmann M, Schlake G, Zaak D, Hungerhuber E, Hofstetter A, Hofstaeder F, Knuechel R (2002). Occurrence of chromosome 9 and p53 alterations in multifocal dysplasia and carcinoma in situ of human urinary bladder. *Cancer Res* 62: 809-818.
105. Koss LG (1998). Natural history and patterns of invasive cancer of the bladder. *Eur Urol* 33 Suppl 4: 2-4.
106. Steidl C, Simon R, Burger H, Brinkschmidt C, Hertle L, Bocker W, Terpe HJ (2002). Patterns of chromosomal aberrations in urinary bladder tumours and adjacent urothelium. *J Pathol* 198: 115-120.
107. Igawa M, Urakami S, Shirakawa H, Shiina H, Ishibe T, Usui T, Moriyama H (1995). A mapping of histology and cell proliferation in human bladder cancer: an immunohistochemical study. *Hiroshima J Med Sci* 44: 93-97.
108. Louhelainen J, Wijkstrom H, Hemminki K (2000). Allelic losses demonstrate monoclonality of multifocal bladder tumors. *Int J Cancer* 87: 522-527.
109. Goto K, Konomoto T, Hayashi K, Kinukawa N, Naito S, Kumazawa J, Tsuneyoshi M (1997). p53 mutations in multiple urothelial carcinomas: a molecular analysis of the development of multiple carcinomas. *Mod Pathol* 10: 428-437.
110. Koss LG (1979). Mapping of the urinary bladder: its impacts on the concepts of bladder cancer. *Hum Pathol* 10: 533-548.
111. Hartmann A, Moser K, Kriegmair M, Hofstetter A, Hofstaeder F, Knuechel R (1999). Frequent genetic alterations in simple urothelial hyperplasias of the bladder in patients with papillary urothelial carcinoma. *Am J Pathol* 154: 721-727.
112. Sauter G, Moch H, Wagner U, Novotna H, Gasser TC, Mattarelli G, Mihatch MJ, Waldman FM (1995). Y chromosome loss detected by FISH in bladder cancer. *Cancer Genet Cyto genet* 82: 163-169.
113. Rosin MP, Cairns P, Epstein JI, Schoenberg MP, Sidransky D (1995). Partial allelotype of carcinoma in situ of the human bladder. *Cancer Res* 55: 5213-5216.
114. Zhao J, Richter J, Wagner U, Roth B, Schraml P, Zellweger T, Ackermann D, Schmid U, Moch H, Mihatsu MJ, Gasser TC, Sauter G (1999). Chromosomal imbalances in noninvasive papillary bladder neoplasms (pTa). *Cancer Res* 59: 4658-4661.
115. Hopman AH, Poddighe PJ, Smeets AW, Moesker O, Beck JL, Vooijs GP, Ramaekers FC (1989). Detection of numerical chromosome aberrations in bladder cancer by in situ hybridization. *Am J Pathol* 135: 1105-1117.
116. Bubendorf L, Grili B, Sauter G, Mihatch MJ, Gasser TC, Dalquen P (2001). Multiprobe FISH for enhanced detection of bladder cancer in voided urine specimens and bladder washings. *Am J Clin Pathol* 116: 79-86.

117. Cairns P, Shaw ME, Knowles MA (1993). Initiation of bladder cancer may involve deletion of a tumour-suppressor gene on chromosome 9. *Oncogene* 8: 1083-1085.
118. Keen AJ, Knowles MA (1994). Definition of two regions of deletion on chromosome 9 in carcinoma of the bladder. *Oncogene* 9: 2083-2088.
119. Habuchi Y, Luscombe M, Elder PA, Knowles MA (1998). Structure and methylation-based silencing of a gene (DBCCR1) within a candidate bladder cancer tumor suppressor region at 9q32-q33. *Genomics* 48: 277-278.
120. Stadler WM, Steinberg G, Yang X, Hagos F, Turner C, Olopade OI (2001). Alterations of the 9p21 and 9q33 chromosomal bands in clinical bladder cancer specimens by fluorescence in situ hybridization. *Clin Cancer Res* 7: 1676-4682.
121. Billerey C, Chopin D, Aubriot-Lorton MH, Ricol D, Gil Diez de Medina S, van Rhijn B, Bralet MP, Lefrere-Belda MA, Lahaye JB, Abbou CC, Bonaventure J, Zafrani ES, van de Kwast T, Thiery JP, Radvanyi F (2001). Frequent FGFR3 mutations in papillary noninvasive bladder (pTa) tumors. *Am J Pathol* 158: 1955-1959.
122. Capellen D, de Oliveira C, Ricol D, de Medina S, Bourdin J, Sastre-Garau X, Chopin D, Thiery JP, Radvanyi F (1999). Frequent activating mutations of FGFR3 in human bladder and cervix carcinomas. *Nat Genet* 23: 18-20.
123. Miyamoto H, Shuin T, Torigoe S, Iwasaki Y, Kubota Y (1995). Retinoblastoma gene mutations in primary human bladder cancer. *Br J Cancer* 71: 831-835.
124. Moch H, Sauter G, Mihatsch MJ, Gudat F, Epper R, Waldman FM (1994). p53 but not erbB-2 expression is associated with rapid tumor proliferation in urinary bladder cancer. *Hum Pathol* 25: 1346-1351.
125. Cohen RJ, McNeal JE, Baillie T (2000). Patterns of differentiation and proliferation in an intraductal carcinoma of the prostate: significance for cancer progression. *Prostate* 43: 11-19.
126. Viola MV, Fromowitz F, Oravez S, Deb S, Schlom J (1985). ras Oncogene p21 expression is increased in premalignant lesions and high grade bladder carcinoma. *J Exp Med* 161: 1213-1218.
127. Messing EM, Young TB, Hung VB, Newton MA, Bram LL, Vaillancourt A, Hisgen WJ, Greenberg EB, Kuglitsch ME, Wegenke JD (1995). Hematuria home screening: repeat testing results. *J Urol* 154: 57-61.
128. Dalesio O, Schulman CC, Sylvester R, de Pauw M, Robinson M, Denis L, Smith P, Viggiano G (1983). Prognostic factors in superficial bladder tumors. A study of the European Organization for Research on Treatment of Cancer: Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. *J Urol* 129: 730-733.
129. Fitzpatrick JM, West AB, Butler MR, Lane V, O'Flynn JD (1986). Superficial bladder tumors (stage pTa, grades 1 and 2): the importance of recurrence pattern following initial resection. *J Urol* 135: 920-922.
130. Althausen AF, Prout GR Jr, Daly JJ (1976). Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol* 116: 575-580.
131. Larsson P, Wijkstrom H, Thorstenson A, Adolfsson J, Norming U, Wiklund P, Onelov E, Steineck G (2003). A population-based study of 538 patients with

- newly detected urinary bladder neoplasms followed during 5 years. *Scand J Urol Nephrol* 37: 195-201.
132. Holmang S, Hedelin H, Anderstrom C, Holmberg E, Busch C, Johansson SL (1999). Recurrence and progression in low grade papillary urothelial tumors. *J Urol* 162: 702-707.
  133. Leblanc B, Duclos AJ, Benard F, Cote J, Valiquette L, Paquin JM, Mauffette F, Faucher R, Perreault JP (1999). Long-term followup of initial Ta grade 1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 162: 1946-1950.
  134. Leuret T, Bohin D, Kassardijan Z, Herve JM, Molinie V, Barre P, Lugagne PM, Botto H (2000). Recurrence, progression and success in Ta grade 3 bladder tumors treated with low dose bacillus Calmette-Guerin instillations. *J Urol* 163: 63-67.
  135. Cutler SJ, Henry NM, Friedell GH (1982). Longitudinal study of patients with bladder cancer: factors associated with disease recurrence and progression. In: *Bladder Cancer*, WW Bonney, GR Prout, eds. William and Wilkins: Baltimore, pp.35-46.
  136. Orozco RE, Martin AA, Murphy MM (1994). Carcinoma in situ of the urinary bladder. Clues to host involvement in human carcinogenesis. *Cancer* 74: 115-122.
  137. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, Frable W, Corder MP, Hafermann MD, Hawkins IR (1983). Superficial bladder cancer: progression and recurrence. *J Urol* 130: 1083-1086.
  138. Knowles MA (2001). What we could do now: molecular pathology of bladder cancer. *Mol Pathol* 54: 215-221.
  139. Tosoni I, Wagner U, Sauter G, Egloff M, Knonagel H, Alund G, Bannwart F, Mihatch MJ, Gasser TC, Maurer R (2000). Clinical significance of interobserver differences in the staging and grading of superficial bladder cancer. *BJU Int* 85: 48-53.
  140. Witjes JA, Kiemeny LA, Schaafsma HE, Debruyn FM (1994). The influence of review pathology on study outcome of a randomized multicenter superficial bladder cancer trial. Members of the Dutch South East Cooperative Urological Group. *Br Urol* 73: 172-176.
  141. Bostwick DG (1992). Natural history of early bladder cancer. *J Cell Biochem Suppl* 161: 31-38.
  142. Hafner C, Knuechel R, Stoehr R, Hartmann A (2002). Clonality of multifocal urothelial carcinomas: 10 years of molecular genetic studies. *Int J Cancer* 101: 1-6.
  143. Lavezzi AM, Biondo B, Cazzullo A, Giordano F, Pallotti F, Turconi P, Maturri L (2001). The role of different biomarkers (DNA, PCNA, apoptosis and karyotype) in prognostic evaluation of superficial transitional cell bladder carcinoma. *Anticancer Res* 21: 1279-1284.
  144. Harnden P, Mahmood N, Southgate J (1999). Expression of cytokeratin 20 redefines urothelial papillomas of the bladder. *Lancet* 353: 1032-1033.
  145. Hsueh SF, Lai MT, Yang CC, Chung YC, Hsu CP, Peng CC, Fu HH, Cheng YM, Chang KJ, Yang SD (2002). Association of overexpressed proline-directed protein



- kinase F(A) with chemoresistance , invasion, and recurrence in patients with bladder carcinoma. *Cancer* 95: 775-783.
146. Frates MC, Benson CB, di Salvo DN, Brown DL, Laing FC, Doubilet PM (1997). Solid extratesticular masses evaluated with sonography: pathologic correlation. *Radiology* 204: 43-46.
  147. Sarkis AS, Zhang ZF, Cordon CC, Melamed J, Dalbagni G, Sheinfeld J, Fair WR, Herr HW, Reuter VE (1993). p53 Nuclear overexpression and disease progression in Ta bladder carcinoma. *Int J Oncol* 3: 355-360.
  148. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon-Cardo C, Melamed J, Zhang ZF, Sheinfeld J, Fair WR, Herr HW, Reuter VE (1994). Association of p53 nuclear overexpression and tumor progression in carcinoma in situ of the bladder. *J Urol* 152: 388-392.
  149. Goddard JC, Sutton CD, Jones JL, O'Byrne KJ, Kockelbergh RC (2002). Reduced thrombospondin-1 at presentation predicts disease progression in superficial bladder cancer. *Eur Urol* 42: 464-468.
  150. Urist MJ, di Como CJ, Lu ML, Charytonowicz E, Verbel D, Crum Cp, Ince TA, McKeon FD, Cordon-Cardo C (2002). Loss of p63 is associated with tumor progression in bladder cancer. *Am J Pathol* 161: 1199-1206.
  151. Jarvinen TA, Tanner M, Rantanen V, Barlund M, Borg A, Grenman S, Isola J (2000). Amplification and deletion of topoisomerase IIalpha associate with ErbB-2 amplification and affect sensitivity topoisomerase II inhibitor doxorubicin in breast cancer. *Am J Pathol* 156: 839-847.
  152. Yoon DS, Li L, Zhang RD, Kram A, Ro JY, Johnston D, Grossman HB, Scherer S, Czerniak B (2001). Genetic mapping and DNA sequence-based analysis of deletes regions on chromosome 16 involved in progression of bladder cancer from occult preneoplastic conditions to invasive disease. *Oncogene* 20: 5005-5014.
  153. Richter J, Wagner U, Schraml P, Maurer R, Alund G, Knonagel H, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser TC, Sauter G (1999). Chromosomal imbalances are associated with high risk of progression in early invasive (pT1) urinary bladder cancer. *Cancer Res* 59: 5687-5691.
  154. Subbaramaiah K, Dannenberg A. Cyclooxygenase-2: a molecular target for cancer prevention and treatment. *Trends Pharmacol Scienc* 2003, 24:96-102.
  155. Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology. *Annu Rev Biochem* 2000, 69:145-182.
  156. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT et al. Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res* 1996, 56:4424-4429.
  157. Kosaka T, Miyata A, Ihara H et al. Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandin-endoperoxide synthase 2. *Eur J Biochem* 1994, 221:889-897.
  158. Mitchel JA, Warner TD. Cyclo-oxygenase-2: pharmacology, physiology, biochemistry and relevance to NSAID therapy. *Br J Pharm* 1999, 128:1121-1132 (Review).
  159. Makoto M. Taketo. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis. Part I. *J Nat Cancer Inst* 1998, 90:1529-1536 (Review).

160. Dixon DA, Kaplan CD, McIntyre TM et al. post-transcriptional control of cyclooxygenase-2 gene expression. *J Biol Chem* 2000, 275: 11750-117757.
161. Subbaramiah K, Norton L, Gerald W et al. Cyclooxygenase2 is overexpressed in HER-2/neu-positive breast cancer. *J Biol Chem* 2002, 277: 18649-18657.
162. Zhang F, Subbaramiah K, Altorki N et al. Dihydroxy bile acids activate the transcription of cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 1998, 273:2424-2428.
163. Sheng H, Shao J, Dixon DA et al. Transforming growth factor- $\beta$  1 enhances Ha-ras-included expression of cyclooxygenase-2 in intestinal epithelial cells via stabilization of mRNA. *J Biol Chem* 2000, 275:6628-6635.
164. Narumiya S, Fitzgerald G. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest* 2001, 108:25-30.
165. Hyunjung L, Sundhansu KD. Minireview: A novel pathway of prostacyclin signaling-hanging out with nuclear receptors. *Endocrinology* 143:3207-3210.
166. Thun MJ, Namboodiri MM, Health CW Jr. Aspirin use and reduces risk of fatal colon cancer. *N Engl Med* 1991, 53:1322-1327.
167. Tiano HF, Loftin CD, Akunda J et al. Deficiency of either COX-1 or COX-2 alters epidermal differentiation and reduces mouse skin tumorigenesis, *Cancer Res* 2002, 62:3395-3401.
168. Blanke CD, Schultz J, Cox J et al. A phase II trial of celecoxib, irinotecan, 5-fluorouracil and leucovorin in patients with unresectable or metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002, 21:505-512.
169. Kimura M, Osumi S, Ogihara M et al. Stimulation of DNA synthesis and proliferation by prostaglandins in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Eur J Pharmacol* 2000, 404: 259-271.
170. Bandyopadhyay GK, Imagawa W, Wallace D et al. Linoleate metabolites enhance the in vitro proliferate response of mouse mammary epithelial cells to epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1987, 262:2750-2756.
171. Dermott JM, Reddy MR, Onesime D et al. Oncogenic mutant of Galpha 12 stimulates cell proliferation through cyclooxygenase-2 signaling pathway. *Oncogene* 1999, 18:7185-7189.
172. Brueggmeier RW, Quinn AL, Parett ML et al. Correlation of aromatase and cyclooxygenase gene expression in human breast specimens. *Cancer Lett* 1999, 140:27-35.
173. Kelley DJ, Mestre JR, Subbaramiah K et al. Benzopyrene upregulates cyclooxygenase-2 gene expression in oral epithelial cells. *Carcinogenesis* 1997, 18:795-799.
174. Tsujii M, Kawano S, Tsujii S et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998, 93: 705-716.
175. Sonosita M, Takaki K, Saaki N et al. Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP<sub>2</sub> in ApcDelta 716 knock out mice. *Nat Med* 2001, 7:1048-1051.
176. Howe LR, Dannenberg AJ. A role for cyclo-oxygenase-2 inhibitors in the prevention and treatment of cancer. *Sem Onc* 2002, 29 (Suppl 11): 111-119.

177. Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B et al. Mechanisms underlying nonsteroidal anti-inflammatory drug-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci Usa* 1998, 95:681-686.
178. Dbaido G, Obeid LM, Hannun YA. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) signal transduction through ceramide. Dissociation of growth inhibitory effects of TNF-a from activation of nuclear factor-kappa B. *J Biol Chem* 1993 , 268: 17762-17766.
179. Sheng H, Shao J, Morrow JD et al. Modulation of apoptosis and bcl-2 expression by prostaglandin E<sub>2</sub> in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998, 58:362-366.
180. Ratnasinghe D, Daschner PJ, Anver MR et al. Cyclooxygenase-2, P-glycoprotein-170 and drug resistance, is chemoprevention against multidrug resistance possible? *Anticancer Res* 2001, 21:2141-2147.
181. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* 1971, 231:232-235.
182. Makoto M. Taketo. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis. Part II. *J Nat Cancer Inst* 1998, 90: 1609-1617 (Review).
183. Janne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000, 342:1960-1968.
184. Church R, Fleshman JW, McLeod H. Cyclooxygenase 2 inhibition in colorectal cancer therapy. *B J Surg* 2003, 90:1055-1067
185. Husein S, Szabo I, Tarnawski A, NSAID inhibition of GI cancer growth: clinical implications and molecular mechanisms of action. *Am J Gastrent* 2002, 97:542-552.
186. Milas L, Kishi K , Hunter N et al. Enhancement of tumor response to gamma-radiation by an inhibitor of cyclooxygenase-2 enzyme. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91:1501-1504.
187. Itami A, Watanabe G, Shimada Y, Hashimoto Y, Kawamura J, Kato M, Hosotani R, Imamura M. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibit growth of pancreatic cancers both in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 2001 Nov 1; 94(3): 370-6
188. Motomura W, Okumura T, Takahashi N, Obara T, Kohgo T. Activation of peroxisome proliferator-activates receptor gamma by troglitazone inhibits cell growth through the increase of p27KiP1 in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res.* 2000 Oct 1; 60(19): 5558-64.
189. Koga H, Sakisaka S, Harada M, Takagi T, Sasatomi K, kimura R, Hashimoto O, Ueno T, Tano H, Kojiro M, Sata M. Involvement of p21(WAF1/Cip1) , p27(KiP1) and p18(INK4c) in troglitazone-induced cell-cycle arrest in human hepatoma cell lines. *Hepatology*, 2001 May; 33(5): 1087-97.
190. Shao J, Sheng H, DuBois RN Peroxisome proliferator-activated receptors modulate K-Ras-mediated transformation of intestinal epithelial cells. *Cancer Res.* 2002 Jun 1; 62(11): 3282-8.
191. Patel KM, Wright KL, Whittaker P, Chakravarty P, Watson ML, Ward SG. Cell Signal. Differential modulation of COX-2 expression in A549 airway epithelial cells by structurally distinct PPAR(gamma) agonists: evidence for disparate

- functional effects which are independent of NF-(kappa)B and PPAR(gamma). *Cell Signal* 2005 Sep; 17(9): 1098-110.
192. Elstner E, Williamson EA, Zang C, Fritz I, Heber D, Fenner M, Possinger K, Koeffler HP. Novel therapeutic approach: ligands for PPAR gamma and retinoid receptors induce apoptosis in bcl-2 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Jul; 74(2): 155-65.
  193. Zander T, Kraus JA, Grommes C, Schlegel U, Feinstein D, Klockgether T, Landreth G, Koenigsnecht J, Heneka MT. Induction of apoptosis in human and rat glioma by agonists of the nuclear receptor PPARgamma. *J Neurochem.* 2002 Jun; 81(5): 1052-60.
  194. Friedrich MG, Toma MI, Petri S, Huland H. Cyclooxygenase-2 promotes angiogenesis in pTa/T1 urothelial bladder carcinoma but does not predict recurrence. *BJU Int.* 2003 Sep;92(4):389-92.
  195. Giannopoulou I, Nakopoulou L, Zervas A, Lazaris AC, Stravodimos C, Giannopoulos A, Davaris PS. Immunohistochemical study of pro-apoptotic factors Bax, Fas and CPP32 in urinary bladder cancer: prognostic implications. *Urol Res.* 2002 Oct;30(5):342-5.
  196. Mohseni H, Zaslau S, McFadden D, Riggs DR, Jackson BJ, Kandzari S. COX-2 inhibition demonstrates potent anti-proliferative effects on bladder cancer in vitro. *J Surg Res.* 2004 Jun 15;119(2):138-42.
  197. Ke HL, Tu HP, Lin HH, Chai CY, Chang LL, Li WM, Li CC, Lee YC, Yeh HC, Wu WJ, Bau DT. Cyclooxygenase-2 (COX-2) up-regulation is a prognostic marker for poor clinical outcome of upper tract urothelial cancer. *Anticancer Res.* 2012 Sep;32(9):4111-6.
  198. Olfat Ali Hammam, MD, Assistant Professor of Pathology, Ahmed A. Aziz, MD, Professor of Urology, Mamdouh S. Roshdy, MD, Assistant Professor of Urology, and Ahmed M. Abdel Hadi, MD, Professor of Pathology. Possible Role of Cyclooxygenase-2 in Schistosomal and Non-Schistosomal-Associated Bladder Cancer. *Medscape J Med.* 2008; 10(3): 60.
  199. Margulis V, Shariat SF, Ashfaq R, Thompson M, Sagalowsky AI, Hsieh JT, Lotan Y. Expression of cyclooxygenase-2 in normal urothelium, and superficial and advanced transitional cell carcinoma of bladder. *J Urol.* 2007 Mar;177(3):1163-8.
  200. Sabichi AL, Lee JJ, Grossman HB, Liu S, Richmond E, Czerniak BA, De la Cerda J, Eagle C, Viner JL, Palmer JL, Lerner SP. A randomized controlled trial of celecoxib to prevent recurrence of nonmuscle-invasive bladder cancer. *Cancer Prev Res (Phila).* 2011 Oct;4(10):1580-9.
  201. Kelly JD, Hall E. Boxing bladder cancer with COX-2-specific inhibition. *Cancer Prev Res (Phila).* 2011 Oct;4(10):1534-5.
  202. Aziz A, Lessard A, Moore K, Hovington H, Latulippe E, Larue H, Fradet Y, Lacombe L. Improved cancer specific-survival in patients with carcinoma invading bladder muscle expressing cyclo-oxygenase-2. *BJU Int.* 2011 Aug;108(4):531-7.
  203. Karamitopoulou E, Rentsch CA, Markwalder R, Vallan C, Thalmann GN, Brunner T. Prognostic significance of apoptotic cell death in bladder cancer: a

- tissue microarray study on 179 urothelial carcinomas from cystectomy specimens. *Pathology*. 2010 Jan;42(1):37-42.
204. Kazanov D, Dvory-Sobol H, Pick M, Liberman E, Strier L, Choen-Noyman E, Deutsch V, Kunik T, Arber N. Celecoxib but not rofecoxib inhibits the growth of transformed cells in vitro. *Clin Cancer Res*. 2004 Jan 1;10(1 Pt 1):267-71.
  205. Jendrossek V. Targeting apoptosis pathways by Celecoxib in cancer. *Cancer Lett*. 2013 May 28;332(2):313-24.
  206. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J Intern Med*. 2005 Dec;258(6):479-517.
  207. Michael MS, Badr MZ, Badawi AF. Inhibition of cyclooxygenase-2 and activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma synergistically induces apoptosis and inhibits growth of human breast cancer cells. *Int J Mol Med*. 2003 Jun;11(6):733-6.
  208. Sun WH, Chen GS, Ou XL, Yang Y, Luo C, Zhang Y, Shao Y, Xu HC, Xiao B, Xue YP, Zhou SM, Zhao QS, Ding GX. Inhibition of COX-2 and activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma synergistically inhibits proliferation and induces apoptosis of human pancreatic carcinoma cells. 15. *Cancer Lett*. 2009 Mar 18;275(2):247-55.
  209. Hattori K, Iida K, Joraku A, Tsukamoto S, Akaza H, Oyasu R. Chemopreventive effects of cyclooxygenase-2 inhibitor and epidermal growth factor-receptor kinase inhibitor on rat urinary bladder carcinogenesis. *BJU Int*. 2006 Mar;97(3):640-3.
  210. Chang TH, Szabo E. Induction of differentiation and apoptosis by ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in non-small cell lung cancer. 17. *Cancer Res*. 2000 Feb 15;60(4):1129-38.
  211. Takahashi N, Okumura T, Motomura W, Fujimoto Y, Kawabata I, Kohgo Y. Activation of PPARgamma inhibits cell growth and induces apoptosis in human gastric cancer cells. *FEBS Lett*. 1999 Jul 16;455(1-2):135-9.
  212. Castela JE, Yuan JM, Gago-Dominguez M, Yu MC, Ross RK. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention. *Br J Cancer*. 2000 Apr;82(7):1364-9.
  213. Foutadakis S, Avgeris M, Tokas T, Stravodimos K, Scorilas A. Increased BCL2L12 expression predicts the short-term relapse of patients with TaT1 bladder cancer following transurethral resection of bladder tumors. 20. *Urol Oncol*. 2013 Jun 18. pii: S1078-1439(13)00191-9.
  214. Perciavalle RM, Opferman JT. Delving deeper: MCL-1's contributions to normal and cancer biology. 21. *Trends Cell Biol*. 2013 Jan;23(1):22-9.
  215. Neoh CA, Wang RY, Din ZH, Su JH, Chen YK, Tsai FJ, Weng SH, Wu YJ. Induction of apoptosis by sinulariolide from soft coral through mitochondrial-related and p38MAPK pathways on human bladder carcinoma cells. 22. *Mar Drugs*. 2012 Dec 18;10(12):2893-911.
  216. Tadin T, Krpina K, Stifter S, Babarović E, Fučkar Z, Jonjić N. Lower cyclooxygenase-2 expression is associated with recurrence of solitary non-muscle invasive bladder carcinoma. *Diagn Pathol*. 2012 Nov 5;7:152.

217. Eltze E, Wülfing C, Von Struensee D, Piechota H, Buerger H, Hertle L. Cox-2 and Her2/neu co-expression in invasive bladder cancer. *Int J Oncol.* 2005 Jun;26(6):1525-31.
218. Mohseni H, Zaslau S, McFadden D, Riggs DR, Jackson BJ, Kandzari S. COX-2 inhibition demonstrates potent anti-proliferative effects on bladder cancer in vitro. *J Surg Res.* 2004 Jun 15;119(2):138-42.
219. Eschwège P, Ferlicot S, Droupy S, Ba N, Conti M, Loric S, Coindard G, Denis I, Ferretti L, Cornelius A, Legrand A, Bedossa P, Benoît G, Jardin A, Scardino P. A histopathologic investigation of PGE(2) pathways as predictors of proliferation and invasion in urothelial carcinomas of the bladder. *Eur Urol.* 2003 Oct;44(4):435-41.
220. Kömhoff M, Guan Y, Shappell HW, Davis L, Jack G, Shyr Y, Koch MO, Shappell SB, Breyer MD. Enhanced expression of cyclooxygenase-2 in high grade human transitional cell bladder carcinomas. *Am J Pathol.* 2000 Jul;157(1):29-35.
221. Shirahama T, Sakakura C. Overexpression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the urinary bladder. *Clin Cancer Res.* 2001 Mar;7(3):558-61.
222. Shirahama T, Arima J, Akiba S, Sakakura C. Relation between cyclooxygenase-2 expression and tumor invasiveness and patient survival in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer.* 2001 Jul 1;92(1):188-93.
223. Borzacchiello G, Ambrosio V, Galati P, Perillo A, Roperto F. Cyclooxygenase-1 and -2 expression in urothelial carcinomas of the urinary bladder in cows. *Vet Pathol.* 2003 Jul;40(4):455-9.
224. Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase 2: a molecular target for cancer prevention and treatment. *Trends Pharmacol Sci.* 2003 Feb;24(2):96-102.
225. Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer.* 2005 Mar;5(3):231-7.
226. Kim SI, Kwon SM, Kim YS, Hong SJ. Association of cyclooxygenase-2 expression with prognosis of stage T1 grade 3 bladder cancer. *Urology.* 2002 Nov;60(5):816-21.
227. Ristimäki A, Nieminen O, Saukkonen K, Hotakainen K, Nordling S, Haglund C. Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Am J Pathol.* 2001 Mar;158(3):849-53.
228. Mohammed SI, Knapp DW, Bostwick DG, Foster RS, Khan KN, Masferrer JL, Woerner BM, Snyder PW, Koki AT. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human invasive transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. *Cancer Res.* 1999 Nov 15;59(22):5647-50.
229. Wild PJ, Kunz-Schughart LA, Stoehr R, Burger M, Blaszyk H, Simon R, Gasser T, Mihatsch M, Sauter G, Hartmann A. High-throughput tissue microarray analysis of COX2 expression in urinary bladder cancer. *Int J Oncol.* 2005 Aug;27(2):385-91.
230. Gurocak S, Sozen S, Erdem O, Ozkan S, Kordan Y, Alkibay T, Akyol G, Bozkirli I. Relation between cyclooxygenase-2 expression and clinicopathologic parameters with patient prognosis in transitional cell carcinoma of the bladder. *Urol Int.* 2006;76(1):51-6.

231. Wadhwa P, Goswami AK, Joshi K, Sharma SK. Cyclooxygenase-2 expression increases with the stage and grade in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Int Urol Nephrol*. 2005;37(1):47-53.
232. Shariat SF, Matsumoto K, Kim J, Ayala GE, Zhou JH, Jian W, Benedict WF, Lerner S. Correlation of cyclooxygenase-2 expression with molecular markers, pathological features and clinical outcome of transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*. 2003 Sep;170(3):985-9.
233. Shariat SF, Youssef RF, Gupta A, Chade DC, Karakiewicz PI, Isbarn H, Jeldres C, Sagalowsky AI, Ashfaq R, Lotan Y. Association of angiogenesis related markers with bladder cancer outcomes and other molecular markers. *J Urol*. 2010 May;183(5):1744-50.
234. Shariat SF, Kim JH, Ayala GE, Kho K, Wheeler TM, Lerner SP. Cyclooxygenase-2 is highly expressed in carcinoma in situ and T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*. 2003 Mar;169(3):938-42.
235. Kim SI, Kwon SM, Kim YS, Hong SJ. Association of cyclooxygenase-2 expression with prognosis of stage T1 grade 3 bladder cancer. *Urology*. 2002 Nov;60(5):816-21.
236. Park BW, Park S, Park HS, Koo JS, Yang WI, Lee JS, Hwang H, Kim SI, Lee KS. Cyclooxygenase-2 expression in proliferative Ki-67-positive breast cancers is associated with poor outcomes. *Breast Cancer Res Treat*. 2012 Jun;133(2):741-51.
237. Okajima E, Uemura H, Ohnishi S, Tanaka M, Ohta M, Tani M, Fujimoto K, Ozono S, Okajima E, Hirao Y. Expression of cyclooxygenase-2 in primary superficial bladder cancer tissue may predict risk of its recurrence after complete transurethral resection. *Aktuelle Urol*. 2003 Jul;34(4):256-8.
238. Wülfing C, Eltze E, von Struensee D, Wülfing P, Hertle L, Piechota H. Cyclooxygenase-2 expression in bladder cancer: correlation with poor outcome after chemotherapy. *Eur Urol*. 2004 Jan;45(1):46-52.
239. Moussa M, Omran Z, Nousseir M, Lotfy A, Swellam T. Cyclooxygenase-2 expression on urothelial and inflammatory cells of cystoscopic biopsies and urine cytology as a possible predictive marker for bladder carcinoma. *APMIS*. 2009 Jan;117(1):45-52.
240. Elder DJ, Halton DE, Playle LC, Paraskeva C. The MEK/ERK pathway mediates COX-2-selective NSAID-induced apoptosis and induced COX-2 protein expression in colorectal carcinoma cells. *Int J Cancer*. 2002 May 20;99(3):323-7.
241. Sheng H, Shao J, O'Mahony CA, Lamps L, Albo D, Isakson PC, Berger DH, DuBois RN, Beauchamp RD. Transformation of intestinal epithelial cells by chronic TGF-beta1 treatment results in downregulation of the type II TGF-beta receptor and induction of cyclooxygenase-2. *Oncogene*. 1999 Jan 28;18(4):855-67.
242. Crew TE, Elder DJ, Paraskeva C. A cyclooxygenase-2 (COX-2) selective non-steroidal anti-inflammatory drug enhances the growth inhibitory effect of butyrate in colorectal carcinoma cells expressing COX-2 protein: regulation of COX-2 by butyrate. *Carcinogenesis*. 2000 Jan;21(1):69-77.

243. Subbaramaiah K, Chung WJ, Dannenberg AJ. Ceramide regulates the transcription of cyclooxygenase-2. Evidence for involvement of extracellular signal-regulated kinase/c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *J Biol Chem*. 1998 Dec 4;273(49):32943-9.
244. Glinghammar B, Inoue H, Rafter JJ. Deoxycholic acid causes DNA damage in colonic cells with subsequent induction of caspases, COX-2 promoter activity and the transcription factors NF-kB and AP-1. *Carcinogenesis*. 2002 May;23(5):839-45.
245. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*. 1995 Nov 3;83(3):493-501.
246. Yang W, Chung YG, Kim Y, Kim TK, Keay SK, Zhang CO, Ji M, Hwang D, Kim KP, Steen H, Freeman MR, Kim J. Quantitative proteomics identifies a beta-catenin network as an element of the signaling response to Frizzled-8 protein-related antiproliferative factor. *Mol Cell Proteomics*. 2011 Jun;10(6):M110.007492.
247. Messing E, Gee JR, Saltzstein DR, Kim K, diSant'Agnese A, Kolesar J, Harris L, Faerber A, Havighurst T, Young JM, Efros M, Getzenberg RH, Wheeler MA, Tangrea J, Parnes H, House M, Busby JE, Hohl R, Bailey H. A phase 2 cancer chemoprevention biomarker trial of isoflavone G-2535 (genistein) in presurgical bladder cancer patients. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012 Apr;5(4):621-30.
248. Zhang X, Godbey WT. Preclinical evaluation of a gene therapy treatment for transitional cell carcinoma. *Cancer Gene Ther*. 2011 Jan;18(1):34-41.
249. Lou GG, Yao HP, Xie LP. Brucea javanica oil induces apoptosis in T24 bladder cancer cells via upregulation of caspase-3, caspase-9, and inhibition of NF-kappaB and COX-2 expressions. *Am J Chin Med*. 2010;38(3):613-24.
250. Zhang X, Turner C, Godbey WT. Comparison of caspase genes for the induction of apoptosis following gene delivery. *Mol Biotechnol*. 2009 Mar;41(3):236-46.
251. Smakman N, Schaap N, Snijckers CM, Borel Rinkes IH, Kranenburg O. NS-398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, reduces experimental bladder carcinoma outgrowth by inhibiting tumor cell proliferation. *Urology*. 2005 Aug;66(2):434-40.
252. Godbey WT, Atala A. Directed apoptosis in Cox-2-overexpressing cancer cells through expression-targeted gene delivery. *Gene Ther*. 2003 Aug;10(17):1519-27.
253. Friedrich MG, Chandrasoma S, Siegmund KD, Weisenberger DJ, Cheng JC, Toma MI, Huland H, Jones PA, Liang G. Prognostic relevance of methylation markers in patients with non-muscle invasive bladder carcinoma. *Eur J Cancer*. 2005 Nov;41(17):2769-78.
254. Mizutani Y, Kamoi K, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T. Synergistic cytotoxicity and apoptosis of JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, and 5-fluorouracil against bladder cancer. *J Urol*. 2002 Dec;168(6):2650-4.



255. Youssef R, Kapur P, Shariat SF, Arendt T, Kabbani W, Mosbah A, Abol-Enein H, Ghoneim M, Lotan Y. Prognostic value of apoptotic markers in squamous cell carcinoma of the urinary bladder. *BJU Int.* 2012 Oct;110(7):961-6.
256. Sweeney CJ, Marshall MS, Barnard DS, Heilman DK, Billings SD, Cheng L, Marshall SJ, Yip-Schneider MT. Cyclo-oxygenase-2 expression in primary cancers of the lung and bladder compared to normal adjacent tissue. *Cancer Detect Prev.* 2002;26(3):238-44.
257. Yamada Y, Nakamura K, Inoue Y, Naruse K, Aoki S, Taki T, Tobiume M, Zennami K, Katsuda R, Hara K, Kyoku I, Mitsutake N, Arakawa M, Saito H, Hasegawa T, Noguchi H, Honda N. Cyclooxygenase-2 expression in invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Mol Med Rep.* 2008 Nov-Dec;1(6):791-5.
258. Gee J, Lee IL, Jendiroba D, Fischer SM, Grossman HB, Sabichi AL. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors inhibit growth and induce apoptosis of bladder cancer. *Oncol Rep.* 2006 Feb;15(2):471-7.
259. Wang D, Dubois RN. Prostaglandins and cancer. *Gut.* 2006 Jan;55(1):115-22.
260. Shishodia S, Aggarwal BB. Cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor celecoxib abrogates activation of cigarette smoke-induced nuclear factor (NF)-kappaB by suppressing activation of IkappaBalpha kinase in human non-small cell lung carcinoma: correlation with suppression of cyclin D1, COX-2, and matrix metalloproteinase-9. *Cancer Res.* 2004 Jul 15;64(14):5004-12.
261. Rumi MA, Ishihara S, Kazumori H, Kadowaki Y, Kinoshita Y. Can PPAR gamma ligands be used in cancer therapy? *Curr Med Chem Anticancer Agents.* 2004 Nov;4(6):465-77.
262. Guan Y, Zhang Y, Davis L, Breyer MD. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors in urinary tract of rabbits and humans. *Am J Physiol.* 1997 Dec;273(6 Pt 2):F1013-22.
263. Kawakami S, Arai G, Hayashi T, Fujii Y, Xia G, Kageyama Y, Kihara K. PPARgamma ligands suppress proliferation of human urothelial basal cells in vitro. *J Cell Physiol.* 2002 Jun;191(3):310-9.
264. Nakashiro KI, Hayashi Y, Kita A, Tamatani T, Chlenski A, Usuda N, Hattori K, Reddy JK, Oyasu R. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its ligands in non-neoplastic and neoplastic human urothelial cells. *Am J Pathol.* 2001 Aug;159(2):591-7.
265. Yang DR, Lin SJ, Ding XF, Miyamoto H, Messing E, Li LQ, Wang N, Chang C. Higher expression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  or its activation by agonist thiazolidinedione-rosiglitazone promotes bladder cancer cell migration and invasion. *Urology.* 2013 May;81(5):1109.e1-6.
266. Mansure JJ, Nassim R, Chevalier S, Szymanski K, Rocha J, Aldousari S, Kassouf W. A novel mechanism of PPAR gamma induction via EGFR signalling constitutes rationale for combination therapy in bladder cancer. *PLoS One.* 2013;8(2):e55997.
267. Petta E, Sotiropoulou-Bonikou G, Kourelis K, Melachrinou M, Bonikos DS. Differential expression and cross-talk of peroxisome proliferator-activated

- receptor  $\gamma$  and retinoid-X receptor  $\alpha$  in urothelial carcinomas of the bladder. *J BUON*. 2010 Oct-Dec;15(4):740-5
268. Plissonnier ML, Fauconnet S, Bittard H, Lascombe I. Insights on distinct pathways of thiazolidinediones (PPAR $\gamma$  ligand)-promoted apoptosis in TRAIL-sensitive or -resistant malignant urothelial cells. *Int J Cancer*. 2010 Oct 15;127(8):1769-84.
  269. Kassouf W, Chintharlapalli S, Abdelrahim M, Nelkin G, Safe S, Kamat AM. Inhibition of bladder tumor growth by 1,1-bis(3'-indolyl)-1-(p-substitutedphenyl)methanes: a new class of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *Cancer Res*. 2006 Jan 1;66(1):412-8.
  270. Ohlsson G, Moreira JM, Gromov P, Sauter G, Celis JE. Loss of expression of the adipocyte-type fatty acid-binding protein (A-FABP) is associated with progression of human urothelial carcinomas. *Mol Cell Proteomics*. 2005 Apr;4(4):570-81.
  271. Yoshimura R, Matsuyama M, Segawa Y, Hase T, Mitsuhashi M, Tsuchida K, Wada S, Kawahito Y, Sano H, Nakatani T. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in human urinary bladder carcinoma and growth inhibition by its agonists. *Int J Cancer*. 2003 May 1;104(5):597-602.
  272. Possati L, Rocchetti R, Talevi S, Beatrice V, Margiotta C, Ferrante L, Calza R, Sagrini D, Ferri A. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bladder cancer in relation to angiogenesis and progression. *Gen Pharmacol*. 2000 Nov;35(5):269-75.
  273. Begum NM, Nakashiro K, Kawamata H, Uchida D, Shintani S, Ikawa Y, Sato M, Hamakawa H. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the growth inhibitory effect of its synthetic ligands in human salivary gland cancer cell lines. *Int J Oncol*. 2002 Mar;20(3):599-605.
  274. Guan YF, Zhang YH, Breyer RM, Davis L, Breyer MD. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) in human transitional bladder cancer and its role in inducing cell death. *Neoplasia*. 1999 Oct;1(4):330-9.
  275. Matsuyama M, Yoshimura R. A novel approach to anticancer therapies: peroxisome proliferator activator-receptor-gamma as a new target therapy in the treatment of human urological cancer. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2009 Mar;9(1):76-83.
  276. Lodillinsky C, Umerz MS, Jasnis MA, Casabé A, Sandes E, Eiján AM. Bacillus Calmette-Guérin induces the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bladder cancer cells. *Int J Mol Med*. 2006 Feb;17(2):269-73.
  277. Yoshimura R, Matsuyama M, Hase T, Tsuchida K, Kuratsukuri K, Kawahito Y, Sano H, Segawa Y, Nakatani T. *Int J Mol Med*. 2003 Dec;12(6):861-5.
  278. Langle Y, Lodillinsky C, Belgorosky D, Sandes EO, Eiján AM. Role of peroxisome proliferator activated receptor-gamma in bacillus Calmette-Guérin bladder cancer therapy. *J Urol*. 2012 Dec;188(6):2384-90.
  279. Matsuyama M, Funao K, Kuratsukuri K, Tanaka T, Kawahito Y, Sano H, Chargui J, Touraine JL, Yoshimura N, Yoshimura R. Telmisartan inhibits human

- urological cancer cell growth through early apoptosis. *Exp Ther Med*. 2010 Mar;1(2):301-306.
280. Chaffer CL, Thomas DM, Thompson EW, Williams ED. PPAR $\gamma$ -independent induction of growth arrest and apoptosis in prostate and bladder carcinoma. *BMC Cancer*. 2006 Mar 6;6:53.
281. Guan Y. Targeting peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in kidney and urologic disease. *Minerva Urol Nefrol*. 2002 Jun;54(2):65-79.
282. Sandes EO, Lodillinsky C, Langle Y, Belgorosky D, Marino L, Gimenez L, Casabé AR, Eiján AM. Inducible nitric oxide synthase and PPAR $\gamma$  are involved in bladder cancer progression. *J Urol*. 2012 Sep;188(3):967-73.
283. Plissonnier ML, Fauconnet S, Bittard H, Lascombe I. The antidiabetic drug ciglitazone induces high grade bladder cancer cells apoptosis through the up-regulation of TRAIL. *PLoS One*. 2011;6(12):e28354.
284. Boiteux G, Lascombe I, Roche E, Plissonnier ML, Clairotte A, Bittard H, Fauconnet S. A-FABP, a candidate progression marker of human transitional cell carcinoma of the bladder, is differentially regulated by PPAR in urothelial cancer cells. *Int J Cancer*. 2009 Apr 15;124(8):1820-8.
285. Sato K, Awasaki Y, Kandori H, Tanakamaru ZY, Nagai H, Baron D, Yamamoto M. Suppressive effects of acid-forming diet against the tumorigenic potential of pioglitazone hydrochloride in the urinary bladder of male rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011 Mar 15;251(3):234-44.
286. Ohlsson G, Moreira JM, Gromov P, Sauter G, Celis JE. Loss of expression of the adipocyte-type fatty acid-binding protein (A-FABP) is associated with progression of human urothelial carcinomas. *Mol Cell Proteomics*. 2005 Apr;4(4):570-81.
287. Tannehill-Gregg SH, Sanderson TP, Minnema D, Voelker R, Ulland B, Cohen SM, Arnold LL, Schilling BE, Waites CR, Dominick MA. Rodent carcinogenicity profile of the antidiabetic dual PPAR alpha and gamma agonist muraglitazar. *Toxicol Sci*. 2007 Jul;98(1):258-70.
288. Leibovici D, Grossman HB, Dinney CP, Millikan RE, Lerner S, Wang Y, Gu J, Dong Q, Wu X. Polymorphisms in inflammation genes and bladder cancer: from initiation to recurrence, progression, and survival. *J Clin Oncol*. 2005 Aug 20;23(24):5746-56.
289. Bortolini M, Wright MB, Bopst M, Balas B. Examining the safety of PPAR agonists - current trends and future prospects. *Expert Opin Drug Saf*. 2013 Jan;12(1):65-79.
290. Nakopoulou L, Vourlakou C, Zervas A, Tzonou A, Gakiopoulou H, Dimopoulos MA. The prevalence of bcl-2, p53, and Ki-67 immunoreactivity in transitional cell bladder carcinomas and their clinicopathologic correlates. *Hum Pathol*. 1998 Feb;29(2):146-54.
291. Varley CL, Stahlschmidt J, Lee WC, Holder J, Diggle C, Selby PJ, Trejdosiewicz LK, Southgate J. Role of PPAR $\gamma$  and EGFR signalling in the urothelial terminal differentiation programme. *J Cell Sci*. 2004 Apr 15;117(Pt 10):2029-36.

292. Varley CL, Garthwaite MA, Cross W, Hinley J, Trejdosiewicz LK, Southgate J. PPAR $\gamma$ -regulated tight junction development during human urothelial cytodifferentiation. *J Cell Physiol.* 2006 Aug;208(2):407-17.
293. Zhang GY, Ahmed N, Riley C, Oliva K, Barker G, Quinn MA, Rice GE. Enhanced expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in epithelial ovarian carcinoma. *Br J Cancer.* 2005 Jan 17;92(1):113-9.
294. Strand DW, DeGraff DJ, Jiang M, Sameni M, Franco OE, Love HD, Hayward WJ, Lin-Tsai O, Wang AY, Cates JM, Sloane BF, Matusik RJ, Hayward SW. Deficiency in metabolic regulators PPAR $\gamma$  and PTEN cooperates to drive keratinizing squamous metaplasia in novel models of human tissue regeneration. *Am J Pathol.* 2013 Feb;182(2):449-59.
295. Targosz A, Brzozowski T, Pierzchalski P, Szczyrk U, Ptak-Belowska A, Konturek SJ, Pawlik W. Helicobacter pylori promotes apoptosis, activates cyclooxygenase (COX)-2 and inhibits heat shock protein HSP70 in gastric cancer epithelial cells. *Inflamm Res.* 2012 Sep;61(9):955-66.
296. Blanquart C, Barbier O, Fruchart JC, Staels B, Glineur C. Peroxisome proliferators-activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 85:267-73.
297. Jain S, Pulikuri S, Zhu Y, et al. Differential expression of the peroxisome proliferators-activated receptors  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and the coactivators steroid receptor coactivator-1 and PPAR $\gamma$ -binding protein PBP in the brown fat, urinary bladder, colon and breast of the mouse. *Am J Pathol* 1998; 153: 349-54.
298. Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, et al. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell* 1999; 4:611-7.
299. Vamecq J, Latruffe N. Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. *Lancet* 1999; 354:141-8.
300. Saltiel AR, Olefsky JM. Thiazolidinendiones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes* 1996;45:1661-9.
301. Nwanko JO, Robbins ME. Peroxisome proliferators-activated receptor-gamma expression in human malignant and normal brain, breast and prostate-derived cell. *Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids* 2001;64(4-5):241-5.
302. Chang TH, Szabo E. Induction of differentiation and apoptosis by ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in non-small lung cancer. *Cancer Res* 2000;60:1129-38.
303. Elnemr A, Ohta T, Iwata K, et al. PPAR $\gamma$  ligand (thiazolidione) induces growth arrest and differentiation markers of human pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2000;17:1157-64.
304. Kawa S, Nikaido T, Unno H, Usuda N, Nakayama K, Kiyosawa K. Growth inhibition and differentiation of pancreatic cell lines by PPAR gamma ligand toglizone. *Pancreas* 2002;24:1-7.
305. Mueller E, Sarraf P, Tortoz P, et al. Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR gamma. *Mol Cell* 1998;1:465-70.
306. Fournier, Handschuh K, Tsatsaris Y, Evain-Brion D. Involvement of PPAR $\gamma$  in human trophoblast invasion. *Placenta* 2007; 28:576-81.

307. Sawai H, Liu J, Reber HA, Hines OJ, Eibl G. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma decreases pancreatic cancer cell invasion through modulation of the plasminogen activator system. *Mol Cancer Res* 2006;4:159-67.
308. Nakashiro KI, Hayashi Y, Kita A, et al. Role of peroxisome proliferators-activated receptor gamma and its ligands in non-neoplastic and neoplastic human urothelial cells. *Am J Pathol* 2001;159:591-7.
309. Possati L, Rocchetti R, Talevi S, et al. The role of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in bladder cancer in relation to angiogenesis and progression. *Gen Pharmacol* 2002;35:269-75.
310. Pavlopoulos PM, Davaris P. Software development for the evaluation of histochemical and immunohistochemical color images. Presented at the 24<sup>th</sup> Annual Panhellenic Medical Congress. Athens, Greece, May 5-9; 1993.
311. Pavlopoulos PM, Konstantinidou A, Agapitos E, Kavantzias N, Nikolopoulou P, Davaris P. A morphometric study of neovascularization in colorectal carcinoma. *Cancer* 1998;83:2067-75.
312. Baris D, Karagas MR, Koutros S, Colt JS, Johnson A, Schwenn M, Fischer AH, Figueroa JD, Berndt SI, Han S, Beane Freeman LE, Lubin JH, Cherala S, Cantor KP, Jacobs K, Chanock S, Chatterjee N, Rothman N, Silverman DT. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and other analgesic use and bladder cancer in northern New England. *Int J Cancer*. 2013 Jan 1;132(1):162-73
313. Νομικός Α, Μυλωνά Ε, Νακοπούλου Α. Απόπτωση, καρκίνος και νέες στοχευμένες θεραπείες. *Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής*, 2006, 20(1-3): 4-13,
314. Ε. Μυλωνά, Α. Νακοπούλου, Η κυκλοοξυγενάση 2 (COX-2) ως μοριακός στόχος στην πρόληψη και θεραπεία του καρκίνου. *Ιατρική* 2005, 87(5):107-114.
315. Jonathan I. Epstein. Diagnosis and Classification of Flat, Papillary, and Invasive Urothelial Carcinoma: The WHO/ ISUP Consensus. *Int J Surg Pathol* 2010 18: 106S.
316. Gregory T. Robbins, Daotai Nie. PPAR gamma, bioactive lipids, and cancer progression. *Frontiers in Bioscience* 17, 1816-1834, January 1, 2012.
317. Georg Bartsch Jr, Anirban P Mitra, Richard J Cote. Expression profiling for bladder cancer: strategies to uncover prognostic factors. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2010 December; 10(12): 1945-1954.
318. Wun-Jae Kim, Suk-Chul Bae. Molecular biomarkers in urothelial bladder cancer. *Cancer Sci*, April 2008, vol.99 no.4: 646-652.
319. Michael Rink, Eugene K. Cha, David Green, Jens Hansen, Brian D. Robinson, Yair Lotan, Arthur I. Sagalowsky, Felix K. Chun, Pierre I. Karakiewicz, Margit Fisch, Douglas S. Scherr, Shahrokh F. Shariat. Biomolecular Predictors of Urothelial Cancer Behavior and Treatment Outcomes. *Curr Urol Rep* (2012) 13:122-135.
320. Jose J. Mansure, Roland Nassim, Wassim Kassouf. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in bladder cancer: a promising therapeutic target. *Cancer Biology & Therapy* 8:7, 1-9; 1 April 2009.

321. Lucia Knopfova, Jan Marda. The use of Cox-2 and PPAR $\gamma$  signaling in anti-cancer therapies (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine* 1: 257-264, 2010.
322. Andreas C. Lazaris, Aristeidis Zarogiannos, Nikolaos Kavantzias, Anastasios Zervas, Aris Giannopoulos, Lydia Nakopoulou. MLH1 Mismatch Repair Gene Product is Associates with Apoptotic Potential og Urothelial Bladder Carcinomas. *Anticancer Research* 26: 1535-1542 (2006).
323. Tomislav Tadin, Kristian Krpina, Sanja Stifter, Emina Babarovic, Zeljko Fuckar, Nives Jonjic. Lower cyclooxygenase-2 expression is associated with recurrence of solitary non-muscle invasive bladder carcinoma. Tadin et al. *Diagnostic Pathology* 2012, 7:152.
324. Nilanjan Ghosh, Rituparna Chaki, Vivekananda Mandal, Subhash C. Mandal. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacological Reports*, 2010, 62, 233-244.
325. Shaker OG, Hammam O, Salehd A, el-Leithy T, Wishahi M. Possible role of telomerase and sFas in pathogenesis of various bladder lesions associated with schistosomiasis. *Clin Biochem.* 2009 Jun;42(9):864-72.
326. Kömhoff M, Guan Y, Shappell HW, Davis L, Jack G, Shyr Y, Koch MO, Shappell SB and Breyer MD: Enhanced expression of cyclooxygenase-2 in high grade human transitional cellbladder carcinomas. *Am J Pathol* 157: 29-35.
327. Shirahama T and Sakakura C: Overexpression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the urinary bladder. *Clin Cancer Res* 7: 558-561, 2001.
328. Borzacchiello G, Ambrosio V, Galati P, Perillo A and Roperto F: Cyclooxygenase-1 and -2 expression in urothelial carcinomas of the urinary bladder in cows. *Vet Pathol* 40: 455-459, 2003.
329. Subbaramaiah K and Dannenberg AJ: Cyclooxygenase 2: a molecular target for cancer prevention and treatment. *TrendsPharmacol Sci* 24: 96-102, 2003.
330. Brown JM and Attardi LD: The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer* 5(3): 231-237, 2005.
331. Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD and DuBois RN: Modulation of apoptosis and bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 58: 362-366, 1998a.
332. Cao Y, Pearman AT, Zimmerman GA, McIntyre TM and Prescott SM: Intracellular unesterified arachidonic acid signals apoptosis. *PNAS* 97: 11280-11285, 2000.
333. Husain SS, Szabo IL and Tarnawski AS: NSAID inhibition of GI cancer growth: clinical implications and molecular mechanisms of action. *Am J Gastroenterol* 97: 542-553, 2002.
334. Zhang X, Morham SG, Langenbach R and Young DA: Malignant transformation and antineoplastic actions of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) on cyclooxygenasehull embryo fibroblasts. *J Exp Med* 190(3): 451-459, 1999.
335. Lim JT, Piazza GA, Han EK, Delohery TM et al: Sulindac derivatives inhibit growth and induce apoptosis in human prostate cancer cell lines. *Biochem Pharmacol* 58: 1097-1107, 1999b.

336. Elder D, Halton DE, Playle L and Paraskeva Ch: The MEK/ERK pathway mediates COX-2 selective NSAID-induced apoptosis and induced COX-2 protein expression in colorectal carcinoma cells. *Int J Cancer* 99: 323-327, 2002.
337. Sheng H, Shao J, O'Mahony CA, Lamps L et al: Transformation of intestinal epithelial cells by chronic TGF- $\beta$ 1 treatment results in downregulation of the type II TGF- $\beta$  receptor and induction of cyclooxygenase-2. *Oncogene* 18: 855-867, 1999.
338. Crew TE, Elder DJE and Paraskeva Ch: A cyclooxygenase-2 (COX-2) selective non-steroidal anti-inflammatory drug enhances the growth inhibitory effect of butyrate in colorectal carcinoma cells expressing COX-2 protein: regulation of COX-2 by butyrate. *Carcinogenesis* 21: 69-77, 2000.
339. Subbaramaiah K, Chung WJ and Dannenberg AJ: Ceramide regulates the transcription of cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 273: 32943-32949, 1998.
340. Shirahama T, Arima J-I, Akiba S and Sakakura C: Relation between cyclooxygenase-2 expression and tumor invasiveness and patient survival in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 92: 188-193, 2001.
341. Sun Il Kim, Soo Mee Kwon, Young Sig Kim and Sung Joon Hong: Association of cyclooxygenase-2 expression with prognosis of stage T1 grade 3 bladder cancer. *Urology* 60: 816-821, 2002.
342. Garavito RM, Malkowski MG and DeWitt DL: The structures of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 68-69: 129-152, 2002.
343. Frieddrich MG, Toma MI, Petri S and Huland H: Cyclooxygenase-2 promotes angiogenesis in pTa/T1 urothelial bladder carcinoma but does not predict recurrence. *BJU Int* 92: 389-392, 2003.
344. Eble JN, Sauter G, Epstein JI and Sesterhenn IA (eds.): *World Health Organization. Classification of Tumors. Pathology and Genetics. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs.* IARC Press, Lyon, 2004.
345. Ristimäki A, Nieminen O, Saukkonen K, Hotakainen K, Nordling S and Haglund C: Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Am J Pathol* 158: 849-853, 2001.
346. Giannopoulou I, Nakopoulou L, Zervas A, Lazaris AC, Stravodimos K, Giannopoulos A and Davaris P: Immunohistochemical study of pro-apoptotic factors Bax, Fas and CPP32 in urinary bladder cancer: prognostic implications. *Urol Res* 30: 342-345, 2002.
347. Nakopoulou L, Vourlakou C, Zervas A, Tzonou A, Gakiopoulou H and Dimopoulos M-A: The prevalence of bcl-2, p53 and Ki67 immunoreactivity in transitional cell bladder carcinomas and their clinicopathologic correlates. *Hum Pathol* 29: 146-154, 1998.
348. Mavrommatis J, Mylona E, Gakiopoulou H, Stravodimos C, Zervas A, Giannopoulos A and Nakopoulou L: Nuclear hTERT immunohistochemical expression is associated with survival of patients with urothelial bladder cancer. *Anticancer Res* 25: 3109-3111, 2005.

349. Mohseni H, Zaslau S, McFadden D, Riggs DR, Jackson BJ and Kandzari S: COX-2 inhibition demonstrates potent antiproliferative effects on bladder cancer in vitro. *J Surg Res* 119: 138-142, 2004.
350. Czachorowski MJ1, Amaral AF, Montes-Moreno S, Lloreta J, Carrato A, Tardón A, Morente MM, Kogevinas M, Real FX, Malats N; SBC/EPICURO investigators. Cyclooxygenase-2 expression in bladder cancer and patient prognosis: results from a large clinical cohort and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(9):e45025.
351. Stone JG, Robertson D and Huolston RS: Immunohistochemistry for MSH2 and MLH1: a method for identifying mismatch repair deficient colorectal cancer. *J Clin Pathol* 54: 484-48, 2001.
352. Bonnal Ch, Ravery V, Toubanc M, Bertrand G, Baccon-Gibon L, Henin D and Grandchamp B: Absence of microsatellite instability in transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 55(2): 287-290, 2000.
353. Karnes WE Jr: Implications of low COX-2 expression in colorectal neoplasm with defective DNA mismatch repair. *J Cell Biochem Suppl* 34: 23-27, 2000.
354. Yamamoto H, Itoh F, Fukushima H, Hinoda Y and Imai K: Overexpression of cyclooxygenase-2 protein is less frequent in gastric cancers with microsatellite instability. *Int J Cancer* 84(4): 400-403, 1999.
355. Karnes WE Jr, Shattuck-Brandt R, Burgart LJ, DuBois RN, Tester I, Cunningham JM, Kim CY, McDonnell SK, Schaid DJ and Thibodeau SM: Reduced COX-2 protein in colorectal cancer with defective mismatch repair. *Cancer Res* 58(23): 5473-5477, 1998.
356. Cao Y, Li H, Deb S and Liu J-P: TERT regulates cell survival independent of telomerase enzymatic activity. *Oncogene* 21: 3130-3138, 2002.
357. Harrington L, McPahil T, Marc V, Zhou W et al: A mammalian telomerase-associated protein. *Science (Washington DC)* 275: 973-977, 1997.
358. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KP, Harley CB et al: Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 266: 2011-2019, 1994.
359. Oh H, Taffet GE, Vouker KA, Weytman HL, Overbeck PA et al: Telomerase reverse transcriptase promotes cardiac muscle cell proliferation, hypertrophy and survival. *Proc Natl Acad Sci* 98: 10308-10313, 2001.
360. Haendeler J, Hoffmann J, Rahman S, Zeiher A and Dimmeler S: Regulation of telomerase activity and anti-apoptotic function by protein-protein interaction and phosphorylation. *FEBS Lett* 536(1-3): 180-186, 2003.
361. Cao Y, Li H, Mu F-T, Ebisui O, Funder JW and Liu JP: Telomerase activation causes vascular smooth muscle cell proliferation in genetic hypertension. *FASEB J* 16: 96-98, 2002.
362. Glinghammar B, Inoue H and Rafter JJ: Deoxycholic acid causes DNA damage in colonic cells with subsequent induction of caspases, COX-2 promoter activity and the transcription factors NF-kB and AP-1. *Carcinogenesis* 23(5): 839-845, 2002.
363. Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP et al: The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 282: 1254-1257.



364. Eijiro O Kajima, Ajumi Denda, Seiichiro Ozono et al. Chemopreventive Effects of Nimesulide, a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor, on the Development of Rat Urinary Bladder Carcinomas Initiated by N-Butyl-N (4-hydroxybutyl) nitrosamine. *Cancer Research* 58, 3028-3031. July 15, 1998.
365. Chun-Aun Neoh, Robert Y. -L. Wang, Zhong-Hao D et al. Induction of Apoptosis by Sinulariolide from Soft Coral through Mitochondrial-Related and p38MAPK Pathways on Human Bladder Carcinoma Cells. *Mar. Drugs* 2012,10,2893-2911.
366. Samar Hassen, Nawab Ali, Parimal Chowdhury. Molecular signaling mechanisms of apoptosis in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2012 June 15; 3(3): 71-79.
367. HSh Kassem, JM Varley, SM Hamam , GP Margison. Immunohistochemical analysis of expression and allelotype of mismatch repair genes (hMLH1 and hMSH2) in bladder cancer. *British Journal of Cancer* (2001), 84(3), 321-328.
368. Xiaoling Zhang, VernonMar ,Wen Zhou et al. Telomere shortening and apoptosis in telomerase-inhibited human tumor cells. *GENES & DEVELOPMENT* 13: 2388-2399.
369. John Mavrommatis, Eleni Mylona, Hariklia Gakiopoulou et al. Nuclear hTERT Immunohistochemical Expression is Associated with Survival of Patients with Urothelial Bladder Cancer. *Anticancer Research* 25: 3109-3116 (2005).
370. Yi Zhu, Yeging Mao, Hong Chen et al. Apigenin promotes apoptosis, inhibits invasion and induces cell cycle arrest of T24 human bladder cancer cells. *Zhu et al. Cancer Cell International*. 2013, 13:54.
371. Hunt MC1, Yang YZ, Eggertsen G, Carneheim CM, Gåfvæls M, Einarsson C, Alexson SE. The peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) regulates bile acid biosynthesis. 1. *J Biol Chem*. 2000 Sep 15;275(37):28947-53.
372. Speirs CK, Jernigan KK et al. Prostaglandin Gβγ signaling stimulates gastrulation movements by limiting cell adhesion through Snai 1a stabilization. *Development* 137, 1327-1337 (2010)
373. Bennett JK, Wheatley JK, Walton KN. 10-year experience with adenocarcinoma of the bladder *J Urol*. 1984 Feb;131(2):262-3.
374. Bernstein SA1, Reuter VE, Carroll PR, Whitmore WF Jr. Primary signet-ring cell carcinoma of urinary bladder. *Urology*. 1988 May;31(5):432-6
375. Gouda II, Mokhtar N, Bilal D, El-Bolkainy T, El-Bolkainy NM. Bilharziasis and bladder cancer: a time trend analysis of 9843 patients. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2007 Jun;19(2):158-62.
376. Mills SE, Wolfe JT 3rd, Weiss MA, Swanson PE, Wick MR, Fowler JE Jr, Young RH. Small cell undifferentiated carcinoma of the urinary bladder. A light-microscopic, immunocytochemical, and ultrastructural study of 12 cases. *Am J Surg Pathol*. 1987 Aug;11(8):606-17.
377. Cohen DD1, Lamarre C, Lamarre L. Primary low-grade B-cell lymphoma of the urinary bladder: case report and literature review. *Can J Urol*. 2002 Dec;9(6):1694-7.
378. Pacella M, Gallo F, Gastaldi C, Ambruosi C, Carmignani G. Primary malignant melanoma of the bladder. *International Journal of Urology*. 2006;13(5):635–637

379. Cormio L1, Sanguedolce F2, Di Fino G1, Massenio P1, Liuzzi G1, Ruocco N1, Bufo P2, Carrieri G1. Case Rep Urol. 2014;2014:672591. Asymptomatic bladder metastasis from breast cancer.
380. Armitage P. and Doll R., 2004, The age distribution of cancer and a multi-stage theory of carcinogenesis, *Int J Epidemiol* 33, 1174-1179
381. Aben K, Kiemeneij L, et al., 2002, Familial aggregation of urothelial cell carcinoma. *Int J Cancer* 98, 274-278
382. Marcus P, Rothman N, et al, 2000, NAT2 slow acetylation and bladder cancer risk: a meta-analysis of 22 case-control studies conducted in the general population. *Pharmacogenetics*, 10, 115-122
383. Christina Barbara Ching and Donna Elizabeth Hansel. Expanding therapeutic targets in bladder cancer: the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Laboratory Investigation* (2010) 90, 1406-1414
384. van Rhijn BW1, Montironi R, Zwarthoff EC, Jöbsis AC, van der Kwast TH. Frequent FGFR3 mutations in urothelial papilloma. *J Pathol.* 2002 Oct;198(2):245-51.
385. Guan KP1, Ye HY, Yan Z, Wang Y, Hou SK. Serum levels of endostatin and matrix metalloproteinase-9 associated with high stage and grade primary transitional cell carcinoma of the bladder *Urology.* 2003 Apr;61(4):719-23.
386. Hartmann A1, Zanardo L, Bocker-Edmonston T, Blaszyk H, Dietmaier W, Stoehr R, Chevillet JC, Junker K, Wieland W, Knuechel R, Rueschoff J, Hofstaedter F, Fishel R. Frequent microsatellite instability in sporadic tumors of the upper urinary tract. *Cancer Res.* 2002 Dec 1;62(23):6796-802.
387. WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics Tumours of the urinary system and male genital organs. Edited by Eble J, Sauter G, Epstein J & Sesterhenn I. Lyon, 2004, pp 90-149
388. Shariat SF1, Youssef RF, Gupta A, Chade DC, Karakiewicz PI, Isbarn H, Jeldres C, Sagalowsky AI, Ashfaq R, Lotan Y. Association of angiogenesis related markers with bladder cancer outcomes and other molecular markers. *J Urol.* 2010 May;183(5):1744-50.
389. DeGraff DJ1, Cates JM, Mauney JR, Clark PE, Matusik RJ, Adam RM. When urothelial differentiation pathways go wrong: implications for bladder cancer development and progression. *Urol Oncol.* 2013 Aug;31(6):802-11
390. Karam JA, Lotan Y, Karakiewicz PI, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Roehrborn CG, Shariat SF. Use of combined apoptosis biomarkers for prediction of bladder cancer recurrence and mortality after radical cystectomy. *Lancet Oncol.* 2007 Feb;8(2):128-36.
391. Shariat SF, Karakiewicz PI, Godoy G, Karam JA, Ashfaq R, Fradet Y, Isbarn H, Montorsi F, Jeldres C, Bastian PJ, Nielsen ME, Müller SC, Sagalowsky AI, Lotan Y. Survivin as a prognostic marker for urothelial carcinoma of the bladder: a multicenter external validation study. *Clin Cancer Res.* 2009 Nov 15;15(22):7012-9.
392. Mitra AP, Pagliarulo V, Yang D, Waldman FM, Datar RH, Skinner DG, Groshen S, Cote RJ. Generation of a concise gene panel for outcome prediction in urinary bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Aug 20;27(24):3929-37.
393. Kim WJ, Kim EJ, Jeong P, Quan C, Kim J, Li QL, Yang JO, Ito Y, Bae SC. RUNX3 inactivation by point mutations and aberrant DNA methylation in bladder tumors. *Cancer Res.* 2005 Oct 15;65(20):9347-54.
394. Sanchez-Carbayo M1, Socci ND, Lozano JJ, Li W, Charytonowicz E, Belbin TJ, Prystowsky MB, Ortiz AR, Childs G, Cordon-Cardo C Gene discovery in bladder

- cancer progression using cDNA microarrays. *Am J Pathol.* 2003 Aug;163(2):505-16.
395. K. Behzatoglu Malignant glandular lesions and glandular differentiation in invasive/noninvasive urothelial carcinoma of the urinary bladder, *Annals of Diagnostic Pathology*, vol. 15, no. 6, pp. 422–426, 2011.
396. Δημόπουλος ΚΑ. Ουρολογία, 5η έκδοση, 1998, Εκδ. Πασχαλίδης
397. Susan M. Fischer, Ernest Hawk, and Ronald A. Lubet. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and Coxibs In Chemoprevention: A Commentary Based Primarily on Animal Studies. *Cancer Prev Res (Phila)*. Nov 2011; 4(11): 1728–1735
398. Cyclooxygenase-2 expression is related to prostaglandin biosynthesis and angiogenesis in human gastric cancer. Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H. *Clin Cancer Res.* 2000 Jan;6(1):135-8.
399. Attiga FA1, Fernandez PM, Weeraratna AT, Manyak MJ, Patierno SR. Inhibitors of prostaglandin synthesis inhibit human prostate tumor cell invasiveness and reduce the release of matrix metalloproteinases. *Cancer Res.* 2000 Aug 15;60(16):4629-37.
400. Fajas L1, Fruchart JC, Auwerx J. PPARgamma3 mRNA: a distinct PPARgamma mRNA subtype transcribed from an independent promoter. *FEBS Lett.* 1998 Oct 30;438(1-2):55-60.
401. Shureiqi I, Chen D, Lee JJ, Yang P, Newman RA, Brenner DE, Lotan R, Fischer SM, Lippman SM 15-LOX-1: a novel molecular target of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis in colorectal cancer cells.. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Jul 19;92(14):1136-42.
402. Chou WL, Chuang LM, Chou CC, Wang AH, Lawson JA, FitzGerald GA, Chang ZF. Identification of a novel prostaglandin reductase reveals the involvement of prostaglandin E2 catabolism in regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation. *J Biol Chem.* 2007 Jun 22;282(25):18162-72.
403. Puigserver P1, Adelmant G, Wu Z, Fan M, Xu J, O'Malley B, Spiegelman BM. Activation of PPARgamma coactivator-1 through transcription factor docking *Science.* 1999 Nov 12;286(5443):1368-71.
404. Majdalawieh A1, Ro HS. PPARgamma1 and LXRalpha face a new regulator of macrophage cholesterol homeostasis and inflammatory responsiveness, AEBP1. *Nucl Recept Signal.* 2010 Apr 16;8:e004.
405. Daniels DL1, Weis WI. Beta-catenin directly displaces Groucho/TLE repressors from Tcf/Lef in Wnt-mediated transcription activation. *Nat Struct Mol Biol.* 2005 Apr;12(4):364-71
406. Hisatake J11, Ikezoe T, Carey M, Holden S, Tomoyasu S, Koeffler HP. Down-Regulation of prostate-specific antigen expression by ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human prostate cancer. *Cancer Res.* 2000 Oct 1;60(19):5494-8.
407. Wang Z, Sun Y. Targeting p53 for Novel Anticancer Therapy. *Transl Oncol.* 2010 Feb;3(1):1-12.
408. Bai MH1, Ma HB, Wang XJ, Liu XX, Xue XH, Xue FJ.. Effects of activated PPARgamma on the expression of PTEN gene in pancreatic cancer cells Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2008 Jul;24(7):717-20
409. Adams M, Reginato MJ, Shao D, Lazar MA, Chatterjee VK. Transcriptional activation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated protein kinase site. *J Biol Chem.* 1997 Feb 21;272(8):5128-32.

410. Guan YF, Zhang YH, Breyer RM, Davis L, Breyer MD. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in human transitional bladder cancer and its role in inducing cell death. *Neoplasia*. 1999 Oct;1(4):330-9.
411. Shimada K, Nakamura M, Ishida E, Kishi M, Yonehara S, Konishi N. c-Jun NH2-terminal kinase-dependent Fas activation contributes to etoposide-induced apoptosis in p53-mutated prostate cancer cells. *Prostate*. 2003 Jun 1;55(4):265-80.
412. Shimada T, Kojima K, Yoshiura K, Hiraishi H, Terano A. Characteristics of the peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARgamma) ligand induced apoptosis in colon cancer cells. *Gut*. 2002 May;50(5):658-64.
413. Eibl G, Wente MN, Reber HA, Hines OJ. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma induces pancreatic cancer cell apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001 Sep 21;287(2):522-9.
414. Ohta K1, Endo T, Haraguchi K, Hershman JM, Onaya T. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibit growth and induce apoptosis of human papillary thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 May;86(5):2170-7.
415. Han H, Shin SW, Seo CY, Kwon HC, Han JY, Kim IH, Kwak JY, Park JI. 15-Deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 (15d-PGJ 2) sensitizes human leukemic HL-60 cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis through Akt downregulation. *Apoptosis*. 2007 Nov;12(11):2101-14.
416. Bonfiglio D, Qi H, Gabriele S, Catalano S, Aquila S, Belmonte M, Andò S. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits follicular and anaplastic thyroid carcinoma cells growth by upregulating p21Cip1/WAF1 gene in a Sp1-dependent manner. *Endocr Relat Cancer*. 2008 Jun;15(2):545-57.
417. Gauthier A, Vassiliou G, Benoist F, McPherson R. Adipocyte low density lipoprotein receptor-related protein gene expression and function is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Biol Chem*. 2003 Apr 4;278(14):11945-53.
418. Hashimoto K, Ethridge RT, Evers BM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand inhibits cell growth and invasion of human pancreatic cancer cells. *Int J Gastrointest Cancer*. 2002;32(1):7-22.
419. Zander T1, Kraus JA, Grommes C, Schlegel U, Feinstein D, Klockgether T, Landreth G, Koenigsknecht J, Heneka MT. Induction of apoptosis in human and rat glioma by agonists of the nuclear receptor PPARgamma. *J Neurochem*. 2002 Jun;81(5):1052-60.
420. Han S, Wada RK, Sidell N. Differentiation of human neuroblastoma by phenylacetate is mediated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Cancer Res*. 2001 May 15;61(10):3998-4002.
421. Chang TH, Szabo E. Induction of differentiation and apoptosis by ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2000 Feb 15;60(4):1129-38.
422. Panigrahy D1, Singer S, Shen LQ, Butterfield CE, Freedman DA, Chen EJ, Moses MA, Kilroy S, Duensing S, Fletcher C, Fletcher JA, Hlatky L, Hahnfeldt P, Folkman J, Kaipainen A. PPARgamma ligands inhibit primary tumor growth and metastasis by inhibiting angiogenesis. *J Clin Invest*. 2002 Oct;110(7):923-32.
423. Xin X1, Yang S, Kowalski J, Gerritsen ME. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands are potent inhibitors of angiogenesis in vitro and in vivo. *J Biol Chem*. 1999 Mar 26;274(13):9116-21.

424. Rieusset J, Auwerx J, Vidal H. Regulation of gene expression by activation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma with rosiglitazone (BRL 49653) in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Nov;265(1):265-71.
425. Goetze S1, Bungenstock A, Czupalla C, Eilers F, Stawowy P, Kintscher U, Spencer-Hänsch C, Graf K, Nürnberg B, Law RE, Fleck E, Gräfe M. Leptin induces endothelial cell migration through Akt, which is inhibited by PPARgamma-ligands. *Hypertension.* 2002 Nov;40(5):748-54.
426. Colin C1, Salamone S, Grillier-Vuissoz I, Boisbrun M, Kuntz S, Lecomte J, Chapleur Y, Flament S. New troglitazone derivatives devoid of PPAR $\gamma$  agonist activity display an increased antiproliferative effect in both hormone-dependent and hormone-independent breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat.* 2010 Nov;124(1):101-10.
427. Yin F, Wakino S, Liu Z, Kim S, Hsueh WA, Collins AR, Van Herle AJ, Law RE. Troglitazone inhibits growth of MCF-7 breast carcinoma cells by targeting G1 cell cycle regulators. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Sep 7;286(5):916-22.
428. Patel L1, Pass I, Coxon P, Downes CP, Smith SA, Macphee CH. Tumor suppressor and anti-inflammatory actions of PPARgamma agonists are mediated via upregulation of PTEN. *Curr Biol.* 2001 May 15;11(10):764-8.
429. Lee SY, Hur GY, Jung KH, Jung HC, Lee SY, Kim JH, Shin C, Shim JJ, In KH, Kang KH, Yoo SH. PPAR-gamma agonist increase gefitinib's antitumor activity through PTEN expression. *Lung Cancer.* 2006 Mar;51(3):297-301.
430. Han S1, Sidell N, Fisher PB, Roman J. Up-regulation of p21 gene expression by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human lung carcinoma cells. *Clin Cancer Res.* 2004 Mar 15;10(6):1911-9.
431. Han S1, Roman J. Rosiglitazone suppresses human lung carcinoma cell growth through PPARgamma-dependent and PPARgamma-independent signal pathways. *Mol Cancer Ther.* 2006 Feb;5(2):430-7.
432. Martelli ML1, Iuliano R, Le Pera I, Sama' I, Monaco C, Cammarota S, Kroll T, Chiariotti L, Santoro M, Fusco A. J Clin Endocrinol Inhibitory effects of peroxisome poliferator-activated receptor gamma on thyroid carcinoma cell growth. *Metab.* 2002 Oct;87(10):4728-35.
433. Mueller E, Sarraf P, Tontonoz P, Evans RM, Martin KJ, Zhang M, Fletcher C, Singer S, Spiegelman BM. Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR gamma. *Mol Cell.* 1998 Feb;1(3):465-70.
434. Chaffer CL1, Thomas DM, Thompson EW, Williams ED. PPARgamma-independent induction of growth arrest and apoptosis in prostate and bladder carcinoma. *BMC Cancer.* 2006 Mar 6;6:53
435. Elstner E1, Müller C, Koshizuka K, Williamson EA, Park D, Asou H, Shintaku P, Said JW, Heber D, Koeffler HP. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptorgamma and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BNX mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jul 21;95(15):8806-11.
436. Heaney AP, Fernando M, Melmed S. PPAR-gamma receptor ligands: novel therapy for pituitary adenomas. *J Clin Invest.* 2003 May;111(9):1381-8.
437. Shimada T1, Kojima K, Yoshiura K, Hiraiishi H, Terano A. Characteristics of the peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARgamma) ligand induced apoptosis in colon cancer cells. *Gut.* 2002 May;50(5):658-64.
438. Piva R, Gianferretti P, Ciucci A, Taulli R, Belardo G, Santoro MG. 15-Deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 induces apoptosis in human malignant B cells: an

- effect associated with inhibition of NF-kappa B activity and down-regulation of antiapoptotic proteins. *Blood*. 2005 Feb 15;105(4):1750-8.
439. Elrod HA1, Sun SY. PPARgamma and Apoptosis in Cancer. *PPAR Res*. 2008;2008:704165.
440. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin*. 2005 May-Jun;55(3):178-94.
441. Leibovici D, Grossman HB, Dinney CP, Millikan RE, Lerner S, Wang Y, Gu J, Dong Q, Wu X.J Polymorphisms in inflammation genes and bladder cancer: from initiation to recurrence, progression, and survival. *Clin Oncol*. 2005 Aug 20;23(24):5746-56.
442. Lodillinsky C1, Umerez MS, Jasnis MA, Casabé A, Sandes E, Eiján AM. Bacillus Calmette-Guérin induces the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bladder cancer cells. *Int J Mol Med*. 2006 Feb;17(2):269-73.
443. Saban MR, O'Donnell MA, Hurst RE, Wu XR, Simpson C, Dozmorov I, Davis C, Saban R. Molecular networks discriminating mouse bladder responses to intravesical bacillus Calmette-Guerin (BCG), LPS, and TNF-alpha. *BMC Immunol*. 2008 Feb 11;9:4.
444. Chodak GW, Scheiner CJ, Zetter BR. Urine from patients with transitional-cell carcinoma stimulates migration of capillary endothelial cells. *N Engl J Med*. 1981 Oct 8;305(15):869-74.
445. Possati L1, Rocchetti R, Talevi S, Beatrici V, Margiotta C, Ferrante L, Calza R, Sagrini D, Ferri A. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bladder cancer in relation to angiogenesis and progression. *Gen Pharmacol*. 2000 Nov;35(5):269-75.
446. Hau P1, Kunz-Schughart L, Bogdahn U, Baumgart U, Hirschmann B, Weimann E, Muhleisen H, Ruemmele P, Steinbrecher A, Reichle A. Low-dose chemotherapy in combination with COX-2 inhibitors and PPAR-gamma agonists in recurrent high-grade gliomas - a phase II study. *Oncology*. 2007;73(1-2):21-5.
447. Zhou Y, Zheng S, Lin J, Zhang QJ, Chen A. The interruption of the PDGF and EGF signaling pathways by curcumin stimulates gene expression of PPARgamma in rat activated hepatic stellate cell in vitro. *Lab Invest*. 2007 May;87(5):488-98.
448. Cekanova M, Yuan JS, Li X, Kim K, Baek SJ. Gene alterations by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in human colorectal cancer cells. *Int J Oncol*. 2008 Apr;32(4):809-19.
449. Lu M1, Kwan T, Yu C, Chen F, Freedman B, Schafer JM, Lee EJ, Jameson JL, Jordan VC, Cryns VL. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists promote TRAIL-induced apoptosis by reducing survivin levels via cyclin D3 repression and cell cycle arrest. *J Biol Chem*. 2005 Feb 25;280(8):6742-51.
450. Tang C, Lu YH, Xie JH, Wang F, Zou JN, Yang JS, Xing YY, Xi T. Downregulation of survivin and activation of caspase-3 through the PI3K/Akt pathway in ursolic acid-induced HepG2 cell apoptosis. *Anticancer Drugs*. 2009 Apr;20(4):249-58.
451. Kim Sh SH1, Kaminker P, Campisi J. Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending. *Oncogene*. 2002 Jan 21;21(4):503-11.
452. Προγνωστική σημασία του ριβονουκλεοπρωτεϊνικού συμπλέγματος της τελομεράσης και διερεύνηση της έκφρασής του σε σχέση με δείκτες απόπτωσης και κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε ουροθηλιακά καρκινώματα ουροδόχου κύστεως. Μαυρομάτης Ι. Διδακτορική Διατριβή. Αθήνα, 2005
453. Cao Y, Li H, Deb S, Liu JP. TERT regulates cell survival independent of telomerase enzymatic activity. *Oncogene*. 2002 May 9;21(20):3130-8.

454. Bryan TM, Englezou A, Dalla-Pozza L, Dunham MA, Reddel RR. Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat Med.* 1997 Nov;3(11):1271-4.
455. Kolquist KA1, Ellisen LW, Counter CM, Meyerson M, Tan LK, Weinberg RA, Haber DA, Gerald WL. Expression of TERT in early premalignant lesions and a subset of cells in normal tissues. *Nat Genet.* 1998 Jun;19(2):182-6.
456. Nakano K, Watney E, McDougall JK. Telomerase activity and expression of telomerase RNA component and telomerase catalytic subunit gene in cervical cancer. *Am J Pathol.* 1998 Sep;153(3):857-64.
457. Matsuyama M1, Yoshimura R. A novel approach to anticancer therapies: peroxisome proliferator activator-receptor-gamma as a new target therapy in the treatment of human urological cancer. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2009 Mar;9(1):76-83.
458. Kane MF1, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, Jessup JM, Kolodner R. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1997 Mar 1;57(5):808-11.