



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Β΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ ΚΟΥΡΑΚΛΗΣ**

**Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΙΣΣΠΕΠΤΙΝΗΣ (KISSPEPTIN) ΣΤΟΥΣ  
ΚΑΡΚΙΝΟΥΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**

**Διδακτορική Διατριβή**

**ΙΩΑΝΝΗΣ Δ. ΚΩΣΤΑΚΗΣ**

**Ιατρός**

**Αθήνα, Σεπτέμβριος 2015**

ΕΘΝΙΚΟΝ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΕΚ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΥ ΟΡΚΟΥ  
ΚΕΙΜΕΝΟ**



« ΟΜΝΥΜΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΣΩΜΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ. ΔΙΑΤΗΡΗΣΑΣ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΣΕΙΣ ΘΑΝΑΤΙΜΟΝ. ΟΥΔΕ ΥΨΗΘΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΑΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΣΥΝΑΙΚΤΙ ΠΕΣΣΩΝ ΦΘΟΡΙΩΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΩΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΙΑΣ ΑΝ ΕΣΩ. ΕΙΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΔΩ ΓΑΣΤΡΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΩΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ, Η ΪΔΗ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΣΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ. ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΓΛΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΣΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΝΑΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ, ΤΑΥΤΗΝ ΤΗΝ ΕΓΛΑΓΕΛΙΑΝ ΕΠΙΤΕΛΟΥΝΤΙ ΕΙΗ ΜΟΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΑΡΩΓΟΝ ΚΤΗΣΑΣΘΑΙ ΕΝ ΤΩ ΒΙΩ.»

## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

### **ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

Επώνυμο: Κωστάκης

Όνομα: Ιωάννης

Όνομα πατρός: Δημήτριος

Όνομα μητρός: Ελισάβετ

Ημερομηνία γέννησης: 23/11/1985

Τόπος γέννησης: Αμαρούσιο Αττικής

Υπηκοότητα: Ελληνική

Διεύθυνση: Αχρίδος 27, Τ.Κ.:11144, Κάτω Πατήσια, Αθήνα

Τηλέφωνα επικοινωνίας: 6974906246, 2102230855

E-mail: ioannis.kostakis@gmail.com, i.d.kostakis@gmail.com

### **ΣΠΟΥΔΕΣ**

- Υποψήφιος Διδάκτωρ του Πανεπιστημίου Αθηνών (από 24/3/2010) (Τίτλος διδακτορικής διατριβής: «Η έκφραση της κισσπεπτίνης (kisspeptin) στους καρκίνους του γαστρεντερικού συστήματος». Επιβλέπων Καθηγητής: Γρηγόριος Κουράκλης, Καθηγητής Χειρουργικής Πανεπιστημίου Αθηνών)
- Απόφοιτος του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Ελάχιστα Επεμβατική Χειρουργική, Ρομποτική Χειρουργική και Τηλεχειρουργική» με βαθμό πτυχίου Λίαν Καλώς (8,29) (29 Απριλίου 2015)
- Ιατρός, απόφοιτος της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με βαθμό πτυχίου Άριστα (9,45) (28 Ιουλίου 2009)
- Απόφοιτος Εκπαιδευτηρίων «Η Ελληνική Παιδεία» (2003)

### **ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ**

- Αγγλικά: Άριστα (πιστοποιητικό Proficiency Πανεπιστημίου Michigan)
- Γερμανικά: Καλά (πιστοποιητικό Goethe-Zertifikat B1 Ινστιτούτου Goethe)

### **ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΕΣ ΥΠΟΧΡΕΩΣΕΙΣ**

- Εκπλήρωση στρατιωτικών υποχρεώσεων στο Στρατό Ξηράς (9/11/2009-9/7/2010, ειδικότητα: Ιατρός άνευ ειδικότητας)

## **ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ**

- Ιατρός κατά τη διάρκεια της στρατιωτικής θητείας (Οπλίτης-Ιατρός: 7/12/2009-9/7/2010)
- Υπηρεσία ως αγροτικός ιατρός στο Γενικό Νοσοκομείο Καλαμάτας (3/2/2012-13/2/2012)
- Βοηθός Ε.Σ.Υ. – Ειδικευόμενος Ιατρός στη Γενική Χειρουργική στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό» (από 17/2/2012)

## **ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ-ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ**

- Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών από το 2009
- Μέλος της Επιστημονικής Εταιρείας Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας (ΕΕΦΙΕ) (2004-2009)
- Μέλος της Οργανωτικής Επιτροπής του 13<sup>ου</sup> Επιστημονικού Συνεδρίου Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας (20-22 Απριλίου 2007, Αθήνα, Athens Hilton)
- Μέλος της Οργανωτικής Επιτροπής του 14<sup>ου</sup> Επιστημονικού Συνεδρίου Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας (9-11 Μαΐου 2008, Αθήνα, Μέγαρο Διεθνές Συνεδριακό Κέντρο Αθηνών)
- Μέλος της Οργανωτικής Επιτροπής του 15<sup>ου</sup> Επιστημονικού Συνεδρίου Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας (8-10 Μαΐου 2009, Θεσσαλονίκη, Ξενοδοχείο Makedonia Palace)
- Πιστοποίηση αντιμετώπισης τραυματία (Advanced Trauma Life Support Course for Doctors (ATLS), 15-16 Ιουνίου 2012, Αθήνα)
- Κριτής άρθρων στα εξής περιοδικά: International Urology and Nephrology, The International Journal of Biological Markers, World Journal of Surgical Oncology, American Journal of Nephrology, General Physiology and Biophysics.

## **ΕΡΓΑΣΙΕΣ-ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ**

### **ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

- Ομιλία με τίτλο «Αγκυλοποιητική Σπονδυλίτιδα» σε στρογγυλή τράπεζα Ρευματολογίας με θέμα «Οροαρνητικές Σπονδυλαρθροπάθειες» (13<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, 20-22 Απριλίου 2007, Αθήνα, Ξενοδοχείο Athens Hilton)

- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Κλινική σημασία του οξειδίου του αζώτου ως πρώιμος δείκτης ανίχνευσης οξείας νεφρικής απόρριψης (παρουσίαση ενδιαφέρουσας περίπτωσης) (Ι. Μπέλλος, Δ. Περρέα, Ι. Βλάχος, Ι. Κωστάκης, Δ. Βλαχάκος, Α. Παπαχριστοδούλου, Α. Κωστάκης) (15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, 6-8 Δεκεμβρίου 2007, Θεσσαλονίκη, Ξενοδοχείο Hyatt Regency)
- Ομιλία με τίτλο «Αιτιοπαθογένεια αγγειτιδών» σε στρογγυλή τράπεζα Ρευματολογίας με θέμα «Επισκόπηση αγγειτιδικών συνδρόμων» (14<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, 9-11 Μαΐου 2008, Αθήνα, Μέγαρο Διεθνές Συνεδριακό Κέντρο Αθηνών)
- Προφορική ανακοίνωση με θέμα «Ο ρόλος της καλπροτεκτίνης στη Μαιευτική-Γυναικολογία» (Ι. Κωστάκης, Κ. Χολίδου) (15<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, 8-10 Μαΐου 2009, Θεσσαλονίκη, Ξενοδοχείο Makedonia Palace)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Σημαντικά γεγονότα στην ιστορία των μεταμοσχεύσεων» (Ι. Κωστάκης, Κ. Χολίδου, Σ. Μπατάλα) (15<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, 8-10 Μαΐου 2009, Θεσσαλονίκη, Ξενοδοχείο Makedonia Palace)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Περίπτωση συνδρόμου Gordon σε νεαρό άνδρα με ελεύθερο οικογενειακό ιστορικό» (Ι. Κωστάκης, Δ. Αραβαντινός, Η. Γκίζης, Σ. Πιπής, Κ. Χολίδου, Δ. Ντάσκαρη, Κ. Μπαλλάσης, Ι. Σκιάς, Ν. Τσουκαλάς) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Αθροιστική κεφαλαλγία σε νεαρό ασθενή» (Η. Γκίζης, Δ. Αραβαντινός, Ι. Κωστάκης, Α. Παπαδόπουλος, Δ. Ντάσκαρη, Κ. Χολίδου, Κ. Μπαλλάσης, Ι. Σκιάς, Ν. Τσουκαλάς) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Βάση δεδομένων για τους νεοπλασματικούς δείκτες – tumor markers» (Ν. Τσουκαλάς, Ε. Πολίτου, Α. Παπακωστίδη, Μ. Τόλια, Δ. Αραβαντινός, Ι. Κωστάκης, Π. Συγγούνης) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)

- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Περίπτωση νεαρού άνδρα με σύνδρομο Poland» (Ι. Κωστάκης, Δ. Αραβαντινός, Η. Γκίζης, Κ. Μπαλλάσης, Ι. Σκιάς, Ν. Τσουκαλάς) (23<sup>ο</sup> Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων, 4-7 Νοεμβρίου 2010, Θεσσαλονίκη, Ξενοδοχείο Makedonia Palace)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Σύνδρομο Gordon σε νεαρό άνδρα χωρίς οικογενειακό ιστορικό: νέα μετάλλαξη;» (Ι. Κωστάκης, Δ. Αραβαντινός, Η. Γκίζης, Κ. Μπαλλάσης, Ι. Σκιάς, Ν. Τσουκαλάς) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Φαινόμενο Raynaud σε νεαρό άνδρα. Νόσος ή σύνδρομο;» (Δ. Αραβαντινός, Ι. Κωστάκης, Η. Γκίζης, Δ. Ντάσκαρη, Κ. Μπαλλάσης, Ν. Τσουκαλάς) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Τυπική περίπτωση αθροιστικής κεφαλαλγίας σε νεαρό άνδρα» (Η. Γκίζης, Δ. Αραβαντινός, Ι. Κωστάκης, Κ. Χολίδου, Κ. Μπαλλάσης, Ν. Τσουκαλάς) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Σχεδιασμός βάσης δεδομένων για τους καρκινικούς δείκτες» (Ν. Τσουκαλάς, Ε. Πολίτου, Δ. Αραβαντινός, Ι. Κωστάκης, Α. Παπακωστίδη, Π. Συγγούνης) (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Caravel)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Νευρίνωμα στομάχου που εκδηλώθηκε με αναιμία» (Ι. Κωστάκης, Α. Βαϊόπουλος, Γ. Κουράκλης) (37<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 17-21 Μαΐου 2011, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Η εμπειρία της κλινικής μας στην αντιμετώπιση των όγκων στομάχου» (Ι. Κωστάκης, Κ. Κόντζογλου, Α. Βαϊόπουλος, Π. Παρασκευά, Κ. Αθανασούλα, Γ. Κουράκλης) (37<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 17-21 Μαΐου 2011, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Συνύπαρξη αδενοκαρκινώματος στομάχου και κυσταδενώματος παγκρέατος σε ασθενή με ιστορικό αδενοκαρκινώματος ορθού» (Α. Βαϊόπουλος, Ι. Κωστάκης, Γ. Κουράκλης) (37<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 17-21 Μαΐου 2011, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)

- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Gastric schwannoma presented with anemia» (G. Agrogiannis, I. Kostakis, A. Vaiopoulos, N. Kavantzias, G. Kouraklis, E. Patsouris) (23rd European Congress of Pathology, 27 August - 1 September 2011, Helsinki, Finland, Helsinki Exhibition and Convention Centre)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «IGF-1 expression after platelet-rich plasma administration in ruptured tendon» (G. Agrogiannis, N. Kavantzias, D. Lyras, I. Kostakis, A. Vaiopoulos, I. Doulamis, E. Patsouris) (23rd European Congress of Pathology, 27 August - 1 September 2011, Helsinki, Finland, Helsinki Exhibition and Convention Centre)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Effect of disease severity on heart rate recovery following laboratory and field exercise testing in patients with obstructive sleep apnea (OSA): A comparative study» ως αναρτημένη ανακοίνωση (K. Cholidou, I. Vogiatzis, V. Andrianopoulos, I. Kostakis, E. Markozannes, K. Kyrkou, M. Alchanatis) (European Respiratory Society 21<sup>st</sup> Annual Congress, 24-28 September 2011, Amsterdam, Netherlands)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Σύνδρομο απνοιών στον ύπνο και καλπροτεκτίνη: ένας νέος δείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου» (Κ. Χολίδου, Ι. Κωστάκης, Φ. Καψιμάλης, Ι. Βογιατζής, Ε. Μαρκοζάννης, Ε. Μάναλη, Μ. Αλχανάτης) (20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, 24-27 Νοεμβρίου 2011, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Η έκφραση της κισσπεπτίνης στον καρκίνο του παχέος εντέρου» (Ι. Κωστάκης, Γ. Αγρογιάννης, Α. Βαϊόπουλος, Ε. Μυλωνά, Κ. Χολίδου, Μ. Κουτσιλιέρης, Ε. Πατσούρης, Μ. Λυμπέρη, Γ. Κουράκλης) (38<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 16-19 Μαΐου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Αξιολόγηση της CRP και της αλβουμίνης ορού σε πνευμονικά καρκινώματα» (Ν. Τσουκαλάς, Ι. Κωστάκης, Α. Παπακωστίδη, Μ. Τούσερτ, Ν. Ζίας, Β. Γκούμας, Ε. Γάκη, Κ. Λιασκώνης, Σ. Θεοχάρης, Χ. Κίττας) (38<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 16-19 Μαΐου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Η σημασία της προεγχειρητικής μέτρησης της γαλακτικής αφυδρογονάσης στον ορό των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου ή στομάχου» (Ι. Κωστάκης, Α. Βαϊόπουλος, Α. Φιλίππου, Α. Παπαβασιλείου, Μ.



Κουτσιλιέρης, Γ. Κουράκλης) (38<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 16-19 Μαΐου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)

- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «The significance of Ephrin receptor A4 (EphA4) expression in primary pulmonary neoplasms» (N. Tsoukalas, I. Kostakis, M. Tolia, A. Tzouvaras, C. Giaginis, I. Sfiniadakis, K. Tsolakis, A. Karameris, E. Patsouris, S. Theocharis) (37<sup>th</sup> European Society for Medical Oncology Congress, 28 September - 2 October 2012, Vienna, Austria)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Η 6-λεπτη δοκιμασία βάδισης (6-MWT) στην εκτίμηση της ανάκαμψης του καρδιακού ρυθμού σε ασθενείς με σύνδρομο απνοιών στον ύπνο» (Κ. Χολίδου, Ε. Μάναλη, Ι. Κωστάκης, Ε. Μαρκοζάννης, Ι. Βογιατζής, Π. Μπακάκος, Μ. Αλχανάτης) (21<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, 18-21 Οκτωβρίου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Transplantation of kidneys from anti-HCV positive donors. Single center experience» (S. Vernadakis, K. Nowak, I. Kostakis, Ch. Doula, G. Karaolani, D. Moris, J. Treckmann, A. Paul, G. Sotiropoulos) (28<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ 2012, 21-24 Νοεμβρίου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Represents severe aortoiliac atherosclerosis a contraindication for renal transplantation? Single center experience» (S. Vernadakis, A. Özcelik, G. Karaolani, D. Moris, I. Kostakis, Ch. Doula, A. Paul, G. Sotiropoulos) (28<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ 2012, 21-24 Νοεμβρίου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Dual kidney transplantation in adults using expanded criteria donors. Single center experience» (S. Vernadakis, E. Malamutmann, Ch. Doula, G. Karaolani, D. Moris, I. Kostakis, A. Paul, G. Sotiropoulos) (28<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Φόρουμ 2012, 21-24 Νοεμβρίου 2012, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Ανίχνευση κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου» (Α. Βαϊόπουλος, Ι. Κωστάκης, Ε. Γκικόκα, Α. Παπαλάμπρος, Κ. Αθανασούλα, Γ. Κουράκλης, Μ. Κουτσιλιέρης) (39<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 22-25 Μαΐου 2013, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)

- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Η επίδραση της διαφοράς ηλικίας μεταξύ δότη και λήπτη στην επιβίωση των νεφρικών μοσχευμάτων από ζώντα δότη» (Ι. Κωστάκης, Δ. Μώρης, Α. Μπάρλας, Ι. Μπόκος, Κ. Δηλές, Μ. Δαρεμά, Μ. Περδικούλη, Γ. Καραολάνης, Γ. Μαμαρέλης, Α. Κωστάκης, Ι. Μπολέτης, Γ. Ζαββός) (17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, 1-3 Νοεμβρίου 2013, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Λοιμώξεις από *Pneumocystis jirovecii* σε ασθενείς με μεταμόσχευση ήπατος» (Γ. Σωτηρόπουλος, Ι. Κωστάκης, Γ. Κουράκλης) (17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταμοσχεύσεων, 1-3 Νοεμβρίου 2013, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Σύγκριση της προστατευτικής δράσης της ερυθροποιητίνης και της σιλδεναφίλης κατά τη συστροφή όρχεως σε ενήλικες αρουραίους» (Ν. Ζάβρας, Ι. Κωστάκης, Σ. Σακελλαρίου, Χ. Δαμάσκος, Ε. Ρουπακάς, Ε. Τσαγκάρη, Ε. Σπάρταλης, Κ. Βελαώρας, Ι. Δοντά, Θ. Καρατζάς, 40<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 14-17 Μαΐου 2014, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Απουσία διαγνωστικής αξίας του μέσου όγκου των αιμοπεταλίων στην οξεία σκωληκοειδίτιδα των παιδιών» (Ι. Κωστάκης, Α. Καμπούρη, Μ. Αγγελίδου, Σ. Γαρδίκης, Γ. Βάος, 40<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 14-17 Μαΐου 2014, Αθήνα, Ξενοδοχείο Hilton)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Η επίδραση της οξείας σκωληκοειδίτιδας στις παραμέτρους των αιμοπεταλίων των ενηλίκων» (Ι. Κωστάκης, Ν. Μαχαίρας, Χ. Δαμάσκος, Χ. Δούλα, Π. Τσαπάρας, Π. Χαραλαμπούδης, Ε. Σπάρταλης, Γ. Σωτηρόπουλος, Γ. Κουράκλης, 40<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 14-17 Μαΐου 2014, Ξενοδοχείο Hilton)
- Προφορική ανακοίνωση με τίτλο «Nuclear receptors in pancreatic tumor cells» (C. Damaskos, T. Karatzas, I.D. Kostakis, L. Nikolidakis, A. Kostakis, G. Kouraklis, 9<sup>th</sup> International Conference of Anticancer Research, 6-10 October 2014, Sithonia, Greece)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «De novo visceral malignancies in renal transplant recipients: single center experience of 2119 renal transplantations» (G. Zavos, D. Moris, S. Vernadakis, I. Kostakis, J. Bokos, J. Boletis, World

Transplant Congress, 26-31 July 2014, San Francisco, USA, Moscone West Convention Center)

- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «KISS1 and KISS1R expression in colorectal and gastric cancer» (G. Agrogiannis, I. Kostakis, A. Vaiopoulos, E. Mylona, G. Kouraklis, M. Koutsilieris, N. Kavantzias, E. Patsouris, 26<sup>th</sup> European Congress of Pathology, 30 August - 3 September 2014, London, United Kingdom)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Assessing the presence of circulating tumor cells in breast cancer patients using multiplex reverse transcription polymerase chain reaction and specific primers for Mammaglobin, PTHrP and CK19» (M. Skondra, E. Gkioka, I.D. Kostakis, A. Tzovaras, S. Karageorgopoulou, D.G. Pectasides, M. Koutsilieris, 39<sup>th</sup> European Society for Medical Oncology Congress, 26-30 September 2014, Madrid, Spain)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Liver resections in elderly patients» (G. Sotiropoulos, I. Kostakis, N. Machairas, P. Tsaparas, P. Stamopoulos, D. Dimitroulis, G. Kouraklis, Advances and Perspectives in Geriatric Oncology, 2<sup>nd</sup> Athens Symposium, 5-7 March 2015, Athens, Greece, Royal Olympic Hotel)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Neo-adjuvant treatment for metastatic colon cancer in geriatric patients followed by simultaneous hepatic resection, a case report» (G. Sotiropoulos, N. Machairas, P. Stamopoulos, I. Kostakis, P. Tsaparas, G. Kouraklis, Advances and Perspectives in Geriatric Oncology, 2<sup>nd</sup> Athens Symposium, 5-7 March 2015, Athens, Greece, Royal Olympic Hotel)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Is laparoscopic hepatectomy tailored to elderly patients?» (G. Sotiropoulos, P. Tsaparas, N. Machairas, P. Stamopoulos, I. Kostakis, D. Mantas, D. Dimitroulis, G. Kouraklis, Advances and Perspectives in Geriatric Oncology, 2<sup>nd</sup> Athens Symposium, 5-7 March 2015, Athens, Greece, Royal Olympic Hotel)
- Αναρτημένη ανακοίνωση με τίτλο «Education and career development in oncology: results from a European survey conducted by the Hellenic Group of Young Oncologists (HEGYO)» (A. Korogiannos, E. Aravantinou-Fatorou, V. Papadopoulos, K. Kamposioras, I. Kostakis, G. Lazaridis, M. Nikolaou, E. Voulgaris, E. Bournakis, N. Chatzifoti, P. Zaxaropoulou, N. Tsoukalas, 40<sup>th</sup> European Society for Medical Oncology Congress, 25-29 September 2015, Vienna, Austria)

## ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

- The role of calprotectin in obstetrics and gynecology. Kostakis ID, Cholidou KG, Kallianidis K, Perrea D, Antsaklis A. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010;151(1):3-9. Epub 2010 Apr 7.
- Βάση δεδομένων για τους καρκινικούς δείκτες. Τσουκαλάς Ν, Τόλια Μ, Κωστάκης Ι, Παπακωστίδη Α, Τζοβάρας Α, Πολίτου Ε, Συγγούνης Π. *Γαληνός.* 2011;τόμος 2011(3):140-149.
- Αποτελεσματικότητα του cetuximab και μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS* στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Τσουκαλάς Ν, Τζοβάρας Α, Τόλια Μ, Παπακωστίδη Α, Κωστάκης Ι, Αρδαβάνης Α, Μπαρμπούνης Β. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής.* 2011;28(5):674-679.
- Zenker's diverticulum presented with chronic dry cough and recurrent pulmonary infections. Kostakis ID, Vaiopoulos AG, Lachanas E, Spartalis E, Karagkiouzis G, Tomos P. *Archives of Hellenic Medicine.* 2011;28(5):698-701.
- Colorectal cancer stem cells. Vaiopoulos AG, Kostakis ID, Koutsilieris M, Papavassiliou AG. *Stem Cells.* 2012;30(3):363-371.
- Syndromes of impaired ion handling in the distal nephron: pseudohypoaldosteronism and familial hyperkalemic hypertension. Kostakis ID, Cholidou KG, Perrea D. *Hormones (Athens).* 2012;11(1):31-53.
- Meta-analysis of the predictive value of *KRAS* mutations in treatment response using cetuximab in colorectal cancer. Tsoukalas N, Tzovaras AA, Tolia M, Kostakis ID, Papakostidi A, Pistamaltzian N, Ardavanis A. *J BUON.* 2012;17(1):73-78.
- Targeting transcription factor corepressors in tumor cells. Vaiopoulos AG, Kostakis ID, Athanasoula KCh, Papavassiliou AG. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(11):1745-1753. Epub 2012 Apr 19.
- Pulmonary aspergilloma: a potential cause of false positive fluorodeoxyglucose positron emission tomography scan. Kostakis ID, Tomos P, Cholidou KG, Vaiopoulos AG, Spartalis E, Konofaos P, Michail PO. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;60(8):528-530. Epub 2012 May 25.

- Fecal calprotectin in pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review. Kostakis ID, Cholidou KG, Vaiopoulos AG, Vlachos IS, Perrea D, Vaos G. *Dig Dis Sci.* 2013;58(2):309-319. Epub 2012 Aug 17.
- A case report of Gordon's syndrome in a 20-year-old male with free medical family history. Kostakis ID, Tsoukalas NG, Aravantinos DCh, Gkizis IG, Cholidou KG, Papadopoulos DP. *Hellenic J Cardiol.* 2013;54(1):64-68.  
(Περίπτωση συνδρόμου Gordon σε εικοσάχρονο άνδρα με ελεύθερο ιατρικό οικογενειακό ιστορικό. Κωστάκης ΙΔ, Τσουκαλάς ΝΓ, Αραβαντινός ΔΧ, Γκίζης ΗΓ, Χολίδου ΚΓ, Παπαδόπουλος ΔΠ. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση.* 2012;53(5):294-298).
- Calprotectin: A protein related to cardiovascular risk in adult patients with obstructive sleep apnea. Cholidou KG, Kostakis ID, Manali ED, Perrea D, Margeli A, Vougas K, Markozannes E, Koulouris N, Alchanatis M. *Cytokine.* 2013;61(3):917-923. Epub 2013 Jan 29.
- Preoperative serum lactate dehydrogenase levels in colorectal and gastric cancer: a hospital-based case-control study. Kostakis ID, Vaiopoulos AG, Philippou A, Papavassiliou AG, Koutsilieris M, Kouraklis G. *Biomark Med.* 2013;7(1):139-146.
- Dermatomyositis as an early manifestation and a significant clinical precursor of lung cancer: report of a rare case and review of the current literature. Tsoukalas N, Tolia M, Kostakis ID, Lypas G, Pistamaltzian N, Demiri S, Panopoulos C, Koumakis G, Barbounis V, Efremidis A. *Int J Clin Exp Med.* 2013;6(2):105-109. Epub 2013 Jan 26.
- Coexistence of intracranial germ cell tumor and craniopharyngioma in an adolescent: case report and review of the literature. Tsoukalas N, Tolia M, Kostakis ID, Pistamaltzian N, Tryfonopoulos D, Lypas G, Koumakis G, Barbounis V, Goutas N, Efremidis A. *Int J Clin Exp Med.* 2013;6(3):211-218. Epub 2013 Mar 21.
- Neoplastic pericarditis as the initial manifestation of a papillary thyroid carcinoma. Tsoukalas N, Kostakis ID, Demiri S, Koumakis G, Barbounis V, Barbati K, Efremidis A. *Ups J Med Sci.* 2013;118(3):196-198. Epub 2013 May 23.

- Impact of donor and recipient age difference on long-term allograft survival after living donor renal transplantation: analysis of 478 cases. Kostakis ID, Moris DN, Barlas A, Bokos I, Darema M, Theodoropoulou E, Karaolani G, Kostakis A, Boletis I, Zavos G. *Clin Transplant*. 2013;27(6):838-843. Epub 2013 Aug 31.
- KISS1 expression in colorectal cancer. Kostakis ID, Agrogiannis G, Vaiopoulos AG, Mylona E, Patsouris E, Kouraklis G, Koutsilieris M. *APMIS*. 2013;121(10):1004-1010. Epub 2013 Sep 6.
- Comparison of erythropoietin and sildenafil protective role against ischemia/reperfusion injury of the testis in adult rats. Zavras N, Kostakis ID, Sakellariou S, Damaskos C, Roupakas E, Tsagkari E, Spartalis E, Velaoras K, Dontas IA, Karatzas T. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(4):731-736. Epub 2013 Oct 5.
- The role of calprotectin in pediatric disease. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. *Biomed Res Int*. 2013;2013:542363. Epub 2013 Sep 23.
- A collecting duct carcinoma producing carcinoembryonic antigen and Ca-125 in a 29-year-old woman. Tsoukalas N, Kostakis ID, Tolia M, Tryfonopoulos D, Lypas G, Panopoulos C, Barbounis V, Koumakis G, Efremidis A. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(7):1313-1316. Epub 2014 Feb 15.
- eComment. Lymph node dissection in pulmonary metastasectomy for colorectal cancer. Markakis C, Spartalis E, Kostakis ID, Tomos P. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014;18(4):487.
- The clinical and pathological significance of RCAS1 expression as a prognostic biomarker in non-small cell lung cancer. Tsoukalas N, Kostakis ID, Siakavellas S, Giaginis C, Bournakis E, Sfiniadakis I, Karameris A, Patsouris E, Theocharis S. *In Vivo*. 2014;28(3):375-381.
- Heart rate recovery post 6-minute walking test in obstructive sleep apnea: cycle ergometry versus 6-minute walking test in OSA patients. Cholidou KG, Manali ED, Kapsimalis F, Kostakis ID, Vougas K, Simoes D, Markozannes E, Vogiatzis I, Bakakos P, Koulouris N, Alchanatis M. *Clin Res Cardiol*. 2014;103(10):805-815. Epub 2014 May 13.
- Detection of circulating tumor cells in colorectal and gastric cancer using a multiplex PCR assay. Vaiopoulos AG, Kostakis ID, Gkioka E, Athanasoula

- KCh, Pikoulis E, Papalambros A, Christopoulos P, Gogas H, Kouraklis G, Koutsilieris M. *Anticancer Res.* 2014;34(6):3083-3092.
- Quality of life after liver transplantation or surgery for cancers of the digestive system. Mantas D, Karounis C, Kostakis ID, Antoniou E, Kouraklis G. *Hell J Surg.* 2014;86(5):257-264.
  - Detection of circulating tumor cells in breast cancer patients using multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction and specific primers for MGB, PTHRP and KRT19 correlation with clinicopathological features. Skondra M, Gkioka E, Kostakis ID, Pissimissis N, Lembessis P, Pectasides D, Koutsilieris M. *Anticancer Res.* 2014;34(11):6691-6699.
  - *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in liver transplant recipients: a systematic review. Kostakis ID, Sotiropoulos GC, Kouraklis G. *Transplant Proc.* 2014;46(9):3206-3208.
  - A case of retroperitoneal Castleman's disease and an update on the latest evidence. Spartalis E, Charalampoudis P, Kandilis A, Athanasiou A, Tsaparas P, Voutsarakis A, Kostakis ID, Dimitroulis D, Svolou E, Korkolopoulou P, Nikiteas N, Kouraklis G. *Case Rep Surg.* 2014;2014:643746. Epub 2014 Nov 5.
  - Nuclear receptors in pancreatic tumor cells. Damaskos C, Karatzas T, Kostakis ID, Nikolidakis L, Kostakis A, Kouraklis G. *Anticancer Res.* 2014;34(12):6897-6911.
  - A tricky late occurrence of Bochdalek's hernia. Charalampoudis P, Kostakis ID, Doula C, Mantas D. *BMJ Case Rep.* 2015;2015.
  - GIST: An unusual presentation, and review of the literature. Mantas D, Kostakis ID. *Hell J Surg.* 2015;87(2):195-199.
  - A clinicopathological analysis of KISS1 and KISS1R expression in colorectal cancer. Kostakis ID, Agrogiannis G, Vaiopoulos AG, Mylona E, Patsouris E, Kouraklis G, Koutsilieris M. *APMIS.* 2015;123(7):629-637.
  - Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitors: Current Evidence for Therapeutic Activities in Pancreatic Cancer. Damaskos C, Karatzas T, Nikolidakis L, Kostakis ID, Karamaroudis S, Boutsikos G, Damaskou Z, Kostakis A, Kouraklis G. *Anticancer Res.* 2015;35(6):3129-3135.

- Challenges in the surgical treatment of retroperitoneal sarcomas. Konofaos P, Spartalis E, Moris D, Athanasiou A, Dimitroulis D, Markakis C, Kostakis ID, Nikiteas N, Kouraklis G. Indian J Surg. Epub 2015 Jul 1.
- De novo visceral malignancies in renal transplant recipients: a single center experience of 2054 recipients for more than 30 years. Zavos G, Moris D, Kostakis ID, Vernadakis S, Bokos J, Zavvos V, Lionaki S, Boletis J. Exp Clin Transplant. 2015;13(4):313-318.
- Platelet indices and neutrophil to lymphocyte ratio in adults with acute appendicitis. Kostakis ID, Machairas N, Damaskos C, Doula C, Tsaparas P, Charalampoudis P, Spartalis E, Sotiropoulos GC, Kouraklis G. S Afr J Surg. Υπό δημοσίευση.
- Comparison between minimally invasive and open pancreaticoduodenectomy: a systematic review. Doula C, Kostakis ID, Damaskos C, Machairas N, Vardakostas DV, Feretis T, Felekouras E. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. Υπό δημοσίευση.
- Comparison between minimally invasive and open gastrectomy for gastric cancer in Europe: a systematic review and meta-analysis. Kostakis ID, Alexandrou A, Armeni E, Damaskos C, Kouraklis G, Diamantis T, Tsigris C. Scand J Surg. Υπό δημοσίευση.

#### **ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ-ΒΡΑΒΕΙΑ**

- Υποτροφία Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Κληροδότημα Αντωνίου Παπαδάκη) κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών σπουδών (διάρκεια υποτροφίας: 2004-2009)
- Υποτροφίες ΙΚΥ για τα ακαδημαϊκά έτη 2003-2004 (1<sup>ο</sup> έτος), 2006-2007 (4<sup>ο</sup> έτος) ως πρώτος αριστούχος για τα αντίστοιχα έτη
- Βραβεία ΙΚΥ για τα ακαδημαϊκά έτη 2003-2004 (1<sup>ο</sup> έτος), 2006-2007 (4<sup>ο</sup> έτος), 2007-2008 (5<sup>ο</sup> έτος) ως πρώτος αριστούχος για τα αντίστοιχα έτη
- Βραβείο ΙΚΥ για το ακαδημαϊκό έτος 2008-2009 (6<sup>ο</sup> έτος) ως πρώτος αριστούχος πτυχιούχος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών
- Βραβείο Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για το ακαδημαϊκό έτος 2008-2009 (6<sup>ο</sup> έτος) ως πρώτος αριστούχος πτυχιούχος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Νοέμβριος 2009)



- Βραβείο Αικατερίνης Κέπετζη, εις μνήμην του συζύγου της ιατρού Νικολάου Κέπετζη, της Ακαδημίας Αθηνών για το ακαδημαϊκό έτος 2008-2009 ως πρώτος αριστούχος πτυχιούχος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Δεκέμβριος 2010)
- Βραβείο κληρονομίας Παντιά-Ράλλη για το ακαδημαϊκό έτος 2008-2009 ως πρώτος αριστούχος πτυχιούχος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (2011)
- Έπαινος του επάθλου «Σωτήρης Παπασταμάτης» της Ιατρικής Εταιρείας Αθηνών για την εργασία «Η σημασία της έκφρασης του RCAS1 σε πρωτοπαθή μη μικροκυτταρικά καρκινώματα πνεύμονα» στα πλαίσια του 38<sup>ου</sup> Ετήσιου Πανελληνίου Ιατρικού Συνεδρίου

**Διδακτορική διατριβή υποψήφιου διδάκτορα Ιωάννη Κωστάκη**

**Θέμα:** Η έκφραση της κισσπεπτίνης (kisspeptin) στους καρκίνους του γαστρεντερικού συστήματος

**Ημερομηνία αιτήσεως για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής:** 21/10/2009

**Ημερομηνία ορισμού της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:** 24/03/2010

**Ημερομηνία έγκρισης του ερευνητικού πρωτοκόλλου:** 11/06/2010

**Ημερομηνία ορισμού του θέματος:** 17/06/2010

**Ημερομηνία ορισμού της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής:** 30/09/2015

**Ημερομηνία υποστήριξης διδακτορικής διατριβής:** 26/01/2016

**Βαθμός διδακτορικής διατριβής:** Άριστα

**Πρύτανης Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών**

Καθηγητής Μελέτιος-Αθανάσιος Δημόπουλος

**Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου  
Αθηνών**

Καθηγητής Πέτρος Σφηκάκης

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

Καθηγητής Γρηγόριος Κουράκλης (επιβλέπων)

Καθηγητής Μιχαήλ Κουτσιλιέρης

Καθηγήτρια Μαρία Λυμπέρη

**Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Καθηγητής Γρηγόριος Κουράκλης (επιβλέπων)

Καθηγητής Μιχαήλ Κουτσιλιέρης

Καθηγήτρια Μαρία Λυμπέρη

Καθηγητής Ευστράτιος Πατσούρης

Καθηγητής Στυλιανός Κατσαραγάκης

Καθηγητής Ανδρέας Πολυδώρου

Αναπληρωτής Καθηγητής Σταμάτιος Θεοχάρης

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και συγκεκριμένα στη Β΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική με διευθυντή τον Καθηγητή κ. Γρηγόριο Κουράκλη, στο Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας με διευθυντή τον Καθηγητή κ. Μιχαήλ Κουτσιλιέρη και στο Α΄ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής με διευθυντή τον Καθηγητή κ. Ευστράτιο Πατσούρη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, Καθηγητή κ. Γρηγόριο Κουράκλη, Καθηγητή κ. Μιχαήλ Κουτσιλιέρη και Καθηγήτρια κ. Μαρία Λυμπέρη, για την καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές και τη στήριξη σε όλα τα στάδια της εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον Καθηγητή κ. Ευστράτιο Πατσούρη για τη συνεργασία και την πολύτιμη βοήθεια στη διεξαγωγή της εν λόγω έρευνας, καθώς τα δείγματα των ιστών ελήφθησαν από τα αρχεία του Α΄ Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, του οποίου είναι διευθυντής, και σε αυτό έγιναν οι χρώσεις των ιστών και οι αντίστοιχες μετρήσεις, και επιπλέον για τη συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή της εν λόγω διδακτορικής διατριβής.

Ακόμη, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον ιατρό - παθολογοανατόμο κ. Γεώργιο Αγρογιάννη για την καθοδήγηση, τις συμβουλές και τη βοήθεια στις διαδικασίες της επιλογής των δειγμάτων, της χρώσης αυτών και των μετρήσεων, στον ιατρό κ. Αριστείδη Βαϊόπουλο για την αμέριστη συμπαράσταση και συνεισφορά σε όλα τα στάδια του εν λόγω πονήματος, στην ιατρό - παθολόγο κ. Ελένη Μυλωνά για τις συμβουλές στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων της παρούσας έρευνας και στην τεχνολόγο κ. Μαρία Κεμερλή για τη βοήθεια και τις

τεχνικές συμβουλές στη διαδικασία των χρώσεων των ιστών. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Στυλιανό Κατσαραγάκη, τον Καθηγητή κ. Ανδρέα Πολυδώρου και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σταμάτιο Θεοχάρη για τη συμμετοχή τους στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή της εν λόγω διδακτορικής διατριβής. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη φιλόλογο κ. Θεοφίλη Καμπιανάκη για τη φιλολογική επιμέλεια του τόμου της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Ιωάννης Κωστάκης

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2015

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	24
<b>ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ</b> .....	25
Εισαγωγή.....	25
Οι λειτουργίες των οργάνων του γαστρεντερικού συστήματος.....	25
Η δομή των οργάνων του γαστρεντερικού συστήματος.....	28
<b>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ</b> .....	32
Επιδημιολογικά δεδομένα.....	32
Γονιδιακές μεταβολές και κληρονομικά σύνδρομα.....	33
Πολύποδες παχέος εντέρου και καρκινογένεση.....	35
Κλινική εικόνα και εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις.....	36
Σταδιοποίηση.....	39
Θεραπεία και παρακολούθηση.....	43
<b>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ</b> .....	47
Επιδημιολογικά δεδομένα.....	47
Γονιδιακές μεταβολές και κληρονομικά σύνδρομα.....	48
Παθολογοανατομική ταξινόμηση.....	49
Κλινική εικόνα και εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις.....	51
Σταδιοποίηση.....	53
Θεραπεία και παρακολούθηση.....	57
<b>ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ</b> .....	61
Εισαγωγή.....	61
Μέθοδοι ανοσοϊστοχημείας.....	61
Εφαρμογές της ανοσοϊστοχημείας στην ογκολογία.....	64
<b>ΟΙ ΚΙΣΣΠΕΠΤΙΝΕΣ (KISSPEPTINS) ΚΑΙ Ο ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΤΟΥΣ</b> .....	67

Εισαγωγή.....	67
Γονίδια, πρωτεΐνες και μοριακοί μηχανισμοί.....	67
Ο ρόλος των κισσπεπτινών στο αναπαραγωγικό σύστημα και την έναρξη της εφηβείας.....	69
Ο ρόλος των κισσπεπτινών στον καρκίνο.....	71
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>75</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>76</b>
<b>ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>78</b>
Ασθενείς και δείγματα ιστών.....	78
Ανοσοϊστοχημεία.....	84
Ανάλυση εικόνας.....	85
Στατιστική ανάλυση.....	86
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>88</b>
<b>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.....</b>	<b>88</b>
Σύγκριση μεταξύ του φυσιολογικού εντερικού βλεννογόνου και του καρκινικού ιστού όσον αφορά την έκφραση της KISS1.....	88
Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο με το τμήμα ανάπτυξης του όγκου, το φύλο και την ηλικία.....	91
Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στον καρκινικό ιστό του παχέος εντέρου με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους.....	92
Συσχετίσεις της διαφοράς της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού εντερικού βλεννογόνου και καρκινικού ιστού με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους.....	93
Σύγκριση μεταξύ των πρωτοπαθών όγκων και των ηπατικών μεταστάσεων όσον αφορά την έκφραση της KISS1.....	94

Ανάλυση επιβίωσης σύμφωνα με την έκφραση της KISS1.....	94
Η έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, τον καρκινικό ιστό του πρωτοπαθούς όγκου, το φυσιολογικό ήπαρ και τις ηπατικές μεταστάσεις.....	97
<b>ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ.....</b>	<b>99</b>
Σύγκριση μεταξύ του φυσιολογικού γαστρικού βλεννογόνου και του καρκινικού ιστού όσον αφορά την έκφραση της KISS1.....	99
Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο με το φύλο και την ηλικία.....	100
Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στον καρκινικό ιστό του στομάχου με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους.....	101
Συσχετίσεις της διαφοράς της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού γαστρικού βλεννογόνου και καρκινικού ιστού με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους.....	102
Η έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο και τον καρκινικό ιστό.....	103
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>104</b>
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>115</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>118</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>121</b>
<b>BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>123</b>



## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

### **Εισαγωγή**

Το γαστρεντερικό ή πεπτικό σύστημα αποτελείται από το γαστρεντερικό σωλήνα και τα επικουρικά όργανα και προέρχεται από το έσω βλαστικό δέρμα ή ενδόδερμα. Ο γαστρεντερικός σωλήνας, ο οποίος έχει συνολικό μήκος περίπου 5 μέτρων, αρχίζει από το στόμα και τελειώνει στον πρωκτό. Τα επιμέρους τμήματά του είναι κατά σειρά τα εξής: 1. στοματική κοιλότητα, 2. φάρυγγας, 3. οισοφάγος, 4. στομάχος, 5. λεπτό έντερο (δωδεκαδάκτυλο, νήστιδα, ειλεός), 6. παχύ έντερο (τυφλό, ανιόν κόλον, εγκάρσιο κόλον, κατιόν κόλον, σιγμοειδές κόλον, ορθό), 7. πρωκτός. Τα επικουρικά όργανα του γαστρεντερικού συστήματος είναι το ήπαρ, η χοληδόχος κύστη, το πάγκρεας και οι σιελογόνοι αδένες (παρωτίδες, υπογνάθιοι, υπογλώσσιοι), τα οποία εκκρίνουν ουσίες μέσω εκφορητικών πόρων εντός του αυλού του γαστρεντερικού σωλήνα [1-4].

### **Οι λειτουργίες των οργάνων του γαστρεντερικού συστήματος**

Η αποστολή του γαστρεντερικού συστήματος είναι η διαδικασία της πέψης, η οποία έγκειται στην επεξεργασία των τροφών και τη μετατροπή τους σε μόρια ικανά να απορροφηθούν, μαζί με άλατα και νερό, από τον του αυλό γαστρεντερικού σωλήνα στο εσωτερικό του σώματος, τα οποία στη συνέχεια θα διανεμηθούν μέσω του κυκλοφορικού συστήματος στα κύτταρα του σώματος [2-4].

Η πέψη ξεκινά από το στόμα, όπου οι τροφές τεμαχίζονται με τη διαδικασία της μάσησης για να καταποθούν. Επίσης, οι τροφές υγραίνονται και λιπαίνονται από τη βλέννη που περιέχεται στο σίελο, ο οποίος εκκρίνεται από τα τρία ζεύγη των κύριων σιελογόνων αδένων (παρωτίδες, υπογνάθιοι, υπογλώσσιοι) και από τους πολυάριθμους μικρούς επικουρικούς σιελογόνους αδένες και καταλήγει εντός της

στοματικής κοιλότητας μέσω των εκφορητικών πόρων τους. Ο σιέλος περιέχει και αμυλάση, η οποία αποτελεί ένζυμο που προκαλεί τη μερική διάσπαση των υδατανθράκων των τροφών. Ακολούθως, οι τροφές μεταφέρονται με τη διαδικασία της κατάποσης στο φάρυγγα και στη συνέχεια στον οισοφάγο. Με τις κινήσεις των μυϊκών ινών του τοιχώματος του οισοφάγου οι τροφές μεταφέρονται από το φάρυγγα, που βρίσκεται στον τράχηλο, διαμέσου του θώρακα στο στομάχο, που βρίσκεται στην κοιλία [2-4].

Στο στομάχο οι τροφές εισέρχονται από τον οισοφάγο διαμέσου του κατώτερου οισοφαγικού σφιγκτήρα στη γαστροοισοφαγική συμβολή, αποθηκεύονται προσωρινά, διαλύονται, απορροφώνται ελάχιστα και προωθούνται ρυθμικά στο πρώτο τμήμα του λεπτού εντέρου, το δωδεκαδάκτυλο, διαμέσου του πυλωρικού στομίου. Οι αδένες του γαστρικού τοιχώματος παράγουν και εκκρίνουν υδροχλωρικό οξύ και πεψίνη, ένα πρωτεολυτικό ένζυμο, το οποίο αρχικά εκκρίνεται με την πρόιμη μορφή του ως πεψινογόνο και ακολούθως μετατρέπεται στη δραστική μορφή του. Το υδροχλωρικό οξύ δημιουργεί όξινο περιβάλλον εντός του στομάχου, το οποίο διευκολύνει τη διάσπαση των τροφών σε μικρότερα τμήματα και την απελευθέρωση των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων, ώστε να διασπαστούν μερικώς από την πεψίνη του στομάχου και την αμυλάση του σιέλου, αντιστοίχως, καθώς και την εξουδετέρωση των περισσότερων μικροβίων των τροφών. Ακολούθως, ο χυμός στον οποίο έχουν μετατραπεί οι τροφές, που περιλαμβάνει νερό, άλατα, διασπασμένους υδατάνθρακες και πρωτεΐνες και σταγονίδια λιπών, εισέρχεται στο δωδεκαδάκτυλο [2-4].

Στο λεπτό έντερο, το οποίο αποτελεί ένα σωλήνα μήκους περίπου 3 μέτρων, ολοκληρώνεται η πέψη και διενεργείται το μεγαλύτερο μέρος της απορρόφησης των τροφών. Το λεπτό έντερο αποτελείται από τρία επιμέρους τμήματα, τα οποία κατά σειρά είναι τα εξής: το δωδεκαδάκτυλο, η νήστιδα και ο ειλεός. Στο λεπτό έντερο οι

πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λίπη διασπώνται περαιτέρω σε αμινοξέα, μονοσακχαρίτες και λιπαρά οξέα, αντιστοίχως, υπό τη δράση υδρολυτικών ενζύμων που είτε εντοπίζονται στα επιθηλιακά κύτταρα της βλεννογονικής επιφάνειάς του είτε εκκρίνονται από το πάγκρεας και εισέρχονται στον αυλό του. Τα προϊόντα της πέψης, δηλαδή τα αμινοξέα, οι μονοσακχαρίτες, τα λιπαρά οξέα, μαζί με το νερό, τα μέταλλα και τις βιταμίνες, διαπερνούν τα επιθηλιακά κύτταρα του τοιχώματος του λεπτού εντέρου και εισέρχονται στο αίμα και τη λέμφο, ώστε να διανεμηθούν σε όλους τους ιστούς και τα κύτταρα του σώματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι το μεγαλύτερο μέρος της απορρόφησης λαμβάνει χώρα στο πρώτο τεταρτημόριο του λεπτού εντέρου [2-4].

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθούν δύο σημαντικοί αδένες του γαστρεντερικού συστήματος, το πάγκρεας και το ήπαρ. Το πάγκρεας εντοπίζεται όπισθεν του στομάχου και περιλαμβάνει ενδοκρινή και εξωκρινή μοίρα. Η εξωκρινής μοίρα του παράγει και εκκρίνει πεπτικά ένζυμα χρήσιμα για τη διάσπαση των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και των λιπών, καθώς και υγρό πλούσιο σε διττανθρακικά, το οποίο μαζί με τη χολή εξουδετερώνει το υδροχλωρικό οξύ που προέρχεται από το στόμαχο. Οι εκκρίσεις του παγκρέατος διοχετεύονται μέσω του μείζονος και του ελάσσονος παγκρεατικού πόρου στο δωδεκαδάκτυλο [2, 5, 6].

Το ήπαρ εντοπίζεται στο δεξιό άνω τμήμα της κοιλίας και έχει πολλές λειτουργίες, μεταξύ των οποίων είναι ενδοκρινείς λειτουργίες, η παραγωγή χολής, παραγόντων πήξεως και πρωτεϊνών του πλάσματος, ο μεταβολισμός της γλυκόζης, των αμινοξέων και των λιπιδίων και ο μεταβολισμός και η αποβολή βλαβερών ουσιών. Η χολή περιέχει χολικά άλατα, χοληστερόλη, φωσφολιπίδια, διττανθρακικά, χρωστικές ουσίες (π.χ. χολερυθρίνη) και οργανικά απόβλητα. Τα χολικά άλατα χρησιμεύουν στη διάλυση των λιπών, ώστε να διευκολυνθεί η πέψη και η απορρόφησή τους, ενώ τα διττανθρακικά, μαζί με τα διττανθρακικά των παγκρεατικών εκκρίσεων,

εξουδετερώνουν το υδροχλωρικό οξύ που προέρχεται από το στόμαχο. Η χολή εκκρίνεται από το ήπαρ στα εξωηπατικά χοληφόρα, τα οποία αρχίζουν από τον αριστερό και το δεξιό ηπατικό πόρο στην πύλη του ήπατος, οι οποίοι συνενώνονται σχηματίζοντας τον κοινό ηπατικό πόρο. Ακολούθως, ο κοινός ηπατικός πόρος συνενώνεται με τον κυστικό πόρο, ο οποίος είναι ο εκφορητικός πόρος της χοληδόχου κύστεως, ενός σακοειδούς οργάνου που εντοπίζεται κάτωθεν του ήπατος και αποθηκεύει χολή μεταξύ των γευμάτων, ώστε να την εκκρίνει κατά τη διάρκειά τους, για να σχηματίσουν τον κοινό χοληδόχο πόρο. Ο κοινός χοληδόχος πόρος ενώνεται με το μείζονα παγκρεατικό πόρο στο τελικό τμήμα τους και εκβάλλουν μαζί στο φύμα του Vater στη δεύτερη μοίρα του δωδεκαδακτύλου. Επίσης, το ήπαρ δέχεται τη φλεβική απορροή του γαστρεντερικού σωλήνα από το στόμαχο έως το άνω τριτημόριο του ορθού, του παγκρέατος, του σπλήνα και των εξωηπατικών χοληφόρων μέσω της πυλαίας φλέβας [2, 5, 7].

Μετά το λεπτό έντερο το περιεχόμενο του γαστρεντερικού σωλήνα, το οποίο πλέον αποτελείται από σχετικά μικρό όγκο άπεπτων υλικών, νερού και αλάτων, διέρχεται διαμέσου της ειλεοτυφλικής βαλβίδας στο παχύ έντερο. Το παχύ έντερο χωρίζεται στα εξής επιμέρους τμήματα: το τυφλό, το ανιόν κόλον, το εγκάρσιο κόλον, το κατιόν κόλον, το σιγμοειδές κόλον και το ορθό. Στο παχύ έντερο απορροφώνται τα εναπομείναντα άλατα και νερό, αφήνοντας έτσι τις συμπυκνωμένες πλέον άπεπτες ουσίες, που αποθηκεύονται προσωρινά μέχρι την αφόδευση. Κατά την αφόδευση οι συντονισμένες συστολές των μυϊκών ινών του ορθού και των μυών του πρωκτικού σωλήνα οδηγούν στην αποβολή των κοπράνων από τον πρωκτό, το τελικό τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα [2-4].

### **Η δομή των οργάνων του γαστρεντερικού συστήματος**

Ο γαστρεντερικός σωλήνας αποτελεί έναν μυώδη σωλήνα με εσωτερική επένδυση από βλεννογόνο και παρουσιάζει την ίδια βασική δομή σε όλο το μήκος του από τον οισοφάγο μέχρι το ορθό. Το τοίχωμά του περιλαμβάνει τέσσερα στρώματα με διαφορετική δομή και λειτουργία το καθένα. Τα στρώματα αυτά είναι από τα έσω προς τα έξω τα εξής: ο βλεννογόνος, ο υποβλεννογόνιος χιτώνας, ο μυϊκός χιτώνας και ο εξωτερικός χιτώνας ή ορογόνος [1-4].

Ο βλεννογόνος αποτελείται από τρεις επιμέρους στιβάδες, οι οποίες είναι από τα έσω προς τα έξω οι εξής: το επιθήλιο, το χόριο ή ίδιος χιτώνας και η βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα. Η μορφολογία του βλεννογόνου μεταβάλλεται απότομα σε τέσσερα σημεία: στη γαστροοισοφαγική συμβολή, η οποία αντιστοιχεί στον κατώτερο οισοφαγικό σφιγκτήρα, στη γαστροδωδεκαδακτυλική συμβολή, η οποία αντιστοιχεί στο πυλωρικό στόμιο, στην ειλεοτυφλική βαλβίδα, η οποία αντιστοιχεί στο σημείο μετάπτωσης του λεπτού εντέρου στο παχύ έντερο, και στην ορθοπρωκτική συμβολή, η οποία αντιστοιχεί στην οδοντωτή γραμμή. Ο οισοφάγος έχει πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, ενώ ο στόμαχος, το λεπτό έντερο και το παχύ έντερο έχουν μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο. Σε όλο το μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα από τον οισοφάγο μέχρι το ορθό το μεγαλύτερο τμήμα του επιθηλίου έχει ελικοειδή διαμόρφωση και σχηματίζει αδένια, τα οποία περιλαμβάνουν εξωκρινή κύτταρα που εκκρίνουν βλέννα και άλλες ουσίες εντός του αυλού και ενδοκρινή κύτταρα που εκκρίνουν ορμόνες εντός των αιμοφόρων αγγείων. Το χόριο περιέχει μικρά αιμοφόρα αγγεία, λεμφαγγεία και νευρικές ίνες, καθώς και λεμφικό ιστό είτε με τη μορφή διάσπαρτων κυττάρων είτε με τη μορφή πυκνών αθροίσεων, των λεφοζιδίων. Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι ο βλεννογόνος του λεπτού εντέρου σχηματίζει προσεκβολές που ονομάζονται λάχνες, ώστε να αυξηθεί η συνολική επιφάνεια του βλεννογόνου. Στο

κέντρο της κάθε λάχνης βρίσκονται αρτηρίδια, φλεβίδια, τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία, νευρικές ίνες, καθώς και ένα λεμφαγγείο, που ονομάζεται χυλοφόρο [1-4].

Ο υποβλεννογόσιος χιτώνας αποτελείται από χαλαρό ινοκολλαγονώδη συνδετικό ιστό και περιέχει μεγάλα αιμοφόρα αγγεία και λεμφαγγεία. Αυτά διαπερνούν τον υπερκείμενο βλεννογόνο και τον υποκείμενο μυϊκό χιτώνα. Επίσης, περιέχει και το υποβλεννογόσιο νευρικό πλέγμα του Meissner, το οποίο περιλαμβάνει παρασυμπαθητικά γάγγλια, παρασυμπαθητικές και συμπαθητικές μεταγαγγλιακές ίνες, που νευρώνουν τους αδένες του βλεννογόνου και τις λείες μυϊκές ίνες της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας [1-4].

Ο μυϊκός χιτώνας αποτελείται από λείες μυϊκές ίνες, των οποίων η δραστηριότητα παρουσιάζει ενδογενή ρυθμικότητα και οι οποίες συνήθως διατάσσονται με τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίζουν δύο στιβάδες, την έσω κυκλοτερή και την έξω επιμήκη μυϊκή στιβάδα. Η έσω κυκλοτερής μυϊκή στιβάδα είναι σχετικά παχιά και οι λείες μυϊκές ίνες της διατάσσονται κυκλικά, με αποτέλεσμα κατά τη συστολή τους να προκαλείται μείωση του εύρους του αντίστοιχου τμήματος του αυλού του γαστρεντερικού σωλήνα. Η έξω επιμήκης μυϊκή στιβάδα είναι λεπτότερη και οι λείες μυϊκές ίνες της διατάσσονται κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, με αποτέλεσμα κατά τη συστολή τους να βραχύνεται το αντίστοιχο τμήμα του. Μεταξύ των δύο μυϊκών στιβάδων εντοπίζεται το μυεντερικό πλέγμα του Auerbach, το οποίο αποτελείται από παρασυμπαθητικά γάγγλια, παρασυμπαθητικές και συμπαθητικές μεταγαγγλιακές ίνες, που νευρώνουν τις λείες μυϊκές ίνες του μυϊκού χιτώνα [1-4].

Ο εξωτερικός χιτώνας αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό και περιέχει μεγάλους αγγειακούς και νευρικούς κλάδους και λιπώδη ιστό. Στα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα που βρίσκονται εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας

ονομάζεται ορογόνος, αποτελούμενος στην ουσία από το σπλαγγνικό πέταλο του περιτοναίου, και καλύπτεται από μονόστιβο πλακώδες επιθήλιο, το μεσοθήλιο [1-4].

Όσον αφορά τη δομή του ήπατος, η βασική δομική μονάδα του είναι το ηπατικό λόβιο, το οποίο έχει σχήμα εξαγώνου και αποτελείται από ηπατοκύτταρα διατεταγμένα σε δοκίδες. Σε κάθε κορυφή του ηπατικού λοβίου βρίσκεται ένα πυλαίο διάστημα, το οποίο περιλαμβάνει ένα τελικό ηπατικό αρτηρίδιο, ένα τελικό πυλαίο φλεβίδιο και ένα χολαγγείο, ενώ στο κέντρο του βρίσκεται ένα τελικό ηπατικό φλεβίδιο. Μία εναλλακτική θεώρηση της δομής του ήπατος υποστηρίζει ότι το ήπαρ έχει ως δομική μονάδα την ηπατική αδενοκυψέλη, η οποία έχει πολυγωνικό σχήμα και έχει στο κέντρο της ένα πυλαίο διάστημα και στην κάθε γωνία της ένα τελικό ηπατικό φλεβίδιο [1, 5, 7].

Το πάγκρεας είναι ένας πολυλοβωτός αδένας που αποτελείται από λόβια, τα οποία χωρίζονται μεταξύ τους με διαφραγμάτια που προσεκβάλλουν από το χαλαρό συνδετικό ιστό που περιβάλλει το όργανο. Το πάγκρεας αποτελείται από εξωκρινή και ενδοκρινή μοίρα. Η εξωκρινής μοίρα του αποτελείται από αδενοκυψέλες, οι οποίες παροχετεύουν το έκκριμά τους σε ένα δίκτυο πόρων. Αυτοί ενώνονται και σχηματίζουν το μείζονα και τον ελάσσονα παγκρεατικό πόρο, οι οποίοι εκβάλλουν στη δεύτερη μοίρα του δωδεκαδακτύλου. Η ενδοκρινής μοίρα του αποτελείται από τα νησίδια του Langerhans, τα οποία βρίσκονται διασκορπισμένα σε όλη την έκταση της εξωκρινούς μοίρας του [1, 5, 6].



## ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

### Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι ο τρίτος συχνότερος καρκίνος παγκοσμίως, τόσο στους άνδρες, μετά τον καρκίνο του προστάτη και τον καρκίνο του πνεύμονα, όσο και στις γυναίκες, μετά τον καρκίνο του μαστού και τον καρκίνο του πνεύμονα [8-10]. Η συχνότερη ιστολογική μορφή του είναι το αδενοκαρκίνωμα, σε ποσοστό περίπου 90%-95% [9]. Διάφοροι παράγοντες κινδύνου έχουν συνδεθεί με την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται το θετικό οικογενειακό ιστορικό για αυτή τη νόσο, η παρουσία ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, η ανάπτυξη πολυπόδων παχέος εντέρου, η παρουσία κάποιου γενετικού συνδρόμου που προδιαθέτει σε ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου, η ηλικία άνω των 50 ετών, η δίαιτα πλούσια σε κατανάλωση κόκκινου και κατεργασμένου κρέατος και πτωχή σε κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ και η παχυσαρκία. Αντιθέτως, προστατευτική δράση θεωρείται ότι ασκούν τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, η χρόνια λήψη των οποίων ελαττώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου [8-11].

Ο δια βίου κίνδυνος για ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου υπολογίζεται περίπου στο 4%-5%, δηλαδή 1 στα 20-25 άτομα [12], ενώ η συνολική πενταετής επιβίωση υπολογίζεται περίπου στο 60%-65% [8, 9]. Η επιμέρους πενταετής επιβίωση κατά στάδια είναι 85%-95% για το στάδιο I, 70%-80% για το στάδιο II, 30%-70% για το στάδιο III και 5%-10% για το στάδιο IV [8, 9, 13]. Η κατανομή των περιπτώσεων καρκίνου παχέος εντέρου διαφέρει μεταξύ των τμημάτων του παχέος εντέρου. Στο ορθό αναπτύσσεται το 20%-30% των καρκίνων, στο σιγμοειδές κόλον

το 25%-30%, στο κατιόν κόλον το 5%-10%, στο εγκάρσιο κόλον το 10%-15%, στο ανιόν κόλον το 10%-15% και στο τυφλό το 10%-20% [14, 15].

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου εμφανίζεται με σποραδική, κληρονομική ή οικογενή κατανομή των περιπτώσεων [8, 10, 12, 16]. Η σποραδική εμφάνιση είναι η συνηθέστερη και αφορά σε περιπτώσεις ασθενών χωρίς οικογενειακό ιστορικό αυτής της κακοήθους νόσου που συνήθως είναι μεγαλύτερης ηλικίας (60-80 ετών) και εμφανίζουν μονήρη εστία καρκίνου. Οι γενετικές μεταλλάξεις αφορούν μόνο το νεόπλασμα, ενώ ο υγιής βλεννογόνος είναι φυσιολογικός. Η κληρονομική εμφάνιση χαρακτηρίζεται από την παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού, την εμφάνιση της νόσου σε νεαρή ηλικία και την εκδήλωση άλλων βλαβών και όγκων. Παραδείγματα κληρονομικής εμφάνισης είναι η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση και ο κληρονομικός μη πολυποδιασικός καρκίνος του παχέος εντέρου. Η οικογενής εμφάνιση αφορά σε περιπτώσεις καρκίνου παχέος εντέρου που εκδηλώνονται σε ασθενείς ηλικίας μικρότερης των 50 ετών. Έχει βρεθεί ότι οι συγγενείς πρώτου βαθμού αυτών των ασθενών έχουν διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου παχέος εντέρου σε σχέση με το γενικό πληθυσμό και ο κίνδυνος αυτός αυξάνεται όσο αυξάνεται ο αριθμός των περιστατικών εντός της ίδιας οικογένειας [8, 10, 12].

### **Γονιδιακές μεταβολές και κληρονομικά σύνδρομα**

Μία πλειάδα γονιδίων έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένων πρωτο-ογκογονιδίων, ογκοκατασταλτικών γονιδίων και γονιδίων επιδιόρθωσης του DNA [17-23]. Τα πρωτο-ογκογονίδια είναι γονίδια που παράγουν πρωτεΐνες που προάγουν την κυτταρική ανάπτυξη και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και όταν μεταλλαχθούν μετατρέπονται σε ογκογονίδια [20, 21].

Παραδείγματα ογκογονιδίων τα οποία έχει βρεθεί ότι εμπλέκονται στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι το *K-ras* [17-21, 23], το *c-myc* [19, 22, 23] και το *BRAF* [17-19, 21-23]. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια παράγουν πρωτεΐνες που δρουν ανασταλτικά στη δημιουργία και την εξέλιξη νεοπλασμάτων ασκώντας ανασταλτική δράση στον κυτταρικό κύκλο και τη μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων [20, 21]. Παραδείγματα ογκοκατασταλτικών γονιδίων τα οποία έχει βρεθεί ότι απενεργοποιούνται στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι το *APC* (adenomatous polyposis coli) [17-23], το *DCC* (deleted in colorectal carcinoma) [17, 19, 20, 23], το *SMAD2* [17, 19-21, 23], το *SMAD4* [17-23] και το *p53* [17-23]. Τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA είναι γονίδια που παράγουν πρωτεΐνες υπεύθυνες για τον έλεγχο της ακεραιότητας του γονιδιώματος και την επιδιόρθωση των σφαλμάτων κατά την αντιγραφή του DNA [20, 21]. Παραδείγματα τέτοιων γονιδίων που μεταλλάσσονται στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι το *MYH* [19, 21, 22] και τα γονίδια MMR (mismatch repair) (π.χ. *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *PMS1*, *PMS2*) [17-23].

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων που εμπλέκονται στον καρκίνο του παχέος εντέρου έχει ανακαλυφθεί ότι αποτελούν το υπόβαθρο πολλών γενετικών συνδρόμων, τα οποία εκτός από την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση και άλλων καλοηθών και κακοηθών νεοπλασμάτων και διαμαρτιών της διάπλασης [17-23]. Μερικά χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα εξής σύνδρομα: οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση (ή σύνδρομο Gardner) (μετάλλαξη του *APC*) [17-23], κληρονομικός μη πολυποδιασικός καρκίνος του παχέος εντέρου (ή σύνδρομο Lynch) (μετάλλαξη του *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1* ή *PMS2*) [17-23], σύνδρομο Peutz-Jeghers (μετάλλαξη του *STK11* (serine-threonine kinase 11)) [18-20, 22], οικογενής νεανική πολυποδίαση (μετάλλαξη του *SMAD4* ή του *BMPRIA* (bone

morphogenetic protein receptor 1A)) [19-23], σύνδρομο Turcot (μετάλλαξη του *APC*, *MLH1* ή *PMS2*) [17, 22], νόσος Cowden (μετάλλαξη του *PTEN* (phosphatase and tensin homolog)) [19-22] και το σύνδρομο Bannayan-Ruvalcaba-Riley (μετάλλαξη του *PTEN*) [22].

### **Πολύποδες παχέος εντέρου και καρκινογένεση**

Αναφορικά με τη μορφολογία των πολυπόδων, αυτοί διακρίνονται σε αδενωματώδεις, οι οποίοι αποτελούν το 85%-90% των πολυπόδων και χωρίζονται σε σωληνώδεις, λαχνωτούς και σωληνολαχνωτούς, και σε οδοντωτούς πολύποδες, οι οποίοι αποτελούν το 10%-15% των πολυπόδων [24-27]. Το 50% των αδενωματωδών πολυπόδων είναι σωληνώδεις, το 15% είναι λαχνωτοί και το 35% είναι σωληνολαχνωτοί [28]. Οι σωληνώδεις πολύποδες είναι συνήθως μικρότεροι και μισχωτοί, ενώ οι λαχνωτοί πολύποδες είναι συνήθως μεγαλύτεροι και άμισχοι [25]. Επίσης, συνήθως τα σωληνώδη αδενώματα χαρακτηρίζονται από μικρότερου βαθμού κυτταρική ατυπία, ενώ τα λαχνωτά αδενώματα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερου βαθμού κυτταρική ατυπία ή δυσπλασία. Η πιθανότητα ένας πολύποδας να εμπεριέχει μία εστία αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου είναι μεταξύ των άλλων και συνάρτηση του μεγέθους του και της μορφολογίας του. Έτσι, όσο μεγαλύτερος είναι ένας πολύποδας, τόσο αυξάνει η πιθανότητα κακοήθους νόσου. Έχει υπολογιστεί ότι η πιθανότητα να εμπεριέχεται εστία αδενοκαρκινώματος σε ένα σωληνώδες αδένωμα διαμέτρου μικρότερης του 1 cm είναι 1%, ενώ είναι 50% σε ένα λαχνωτό αδένωμα διαμέτρου μεγαλύτερης των 2 cm [24].

Η πλειονότητα των καρκίνων του παχέος εντέρου αναπτύσσεται σε έδαφος ενός αδενωματώδους πολύποδα. Διάφορες μελέτες υποστηρίζουν το παρακάτω μοντέλο καρκινογένεσης. Η διαδικασία εξαλλαγής ξεκινά με το φυσιολογικό επιθήλιο του

παχέος εντέρου. Σε κάποιο αρχικά φυσιολογικό επιθηλιακό κύτταρο συμβαίνει απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *APC*, η οποία οδηγεί στη δημιουργία ενός υπερπλαστικού και δυσπλαστικού τμήματος του επιθηλίου. Επιπλέον μεταβολές σε ό,τι αφορά τη μεθυλίωση του DNA προκαλούν τη δημιουργία ενός πρώιμου αδενώματος. Εάν σε αυτό το σημείο συμβεί ενεργοποίηση του ογκογονιδίου *K-ras*, το αδένωμα μετατρέπεται σε ενδιάμεσο. Η επιπλέον απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων *DCC*, *SMAD2* και *SMAD4*, οδηγεί στη μετατροπή του αδενώματος σε όψιμο. Σε αυτό το σημείο η απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *p53* προκαλεί την εξαλλαγή του αδενώματος σε αδenoκαρκίνωμα, το οποίο στη συνέχεια με τη συρροή μεταλλάξεων επιπρόσθετων γονιδίων διηθεί τους γειτονικούς ιστούς και δίνει μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες και σε απομακρυσμένα όργανα [21, 23, 24, 28-31]. Παρόλα αυτά, στην περίπτωση των οδοντωτών πολύποδων υπάρχουν ενδείξεις ότι ακολουθούνται διαφορετικές μοριακές οδοί προς την καρκινογένεση σε σχέση με τους κλασικούς αδενωματώδεις πολύποδες, οι οποίες περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση των ογκογονιδίων *K-ras* και *BRAF*, την απενεργοποίηση του επιδιορθωτικού γονιδίου *MLH1*, την παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας και την αυξημένη μεθυλίωση δινουκλεοτιδίων κυτοσίνης-γουανίνης στον εκκινητή διαφόρων γονιδίων, οδηγώντας στη μειωμένη έκφρασή τους [25-27].

### **Κλινική εικόνα και εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις**

Το αδenoκαρκίνωμα του παχέος εντέρου εμφανίζει βραδύ ρυθμό ανάπτυξης, με αποτέλεσμα συνήθως να παραμένει ασυμπτωματικό και σε πρώιμο στάδιο για αρκετά έτη, περίπου 5-15 [32]. Η συμπτωματολογία του καρκίνου του παχέος εντέρου εξαρτάται από την εντόπισή του, την έκτασή του και τον ιστολογικό τύπο του. Οι

καρκίνοι που αναπτύσσονται στο δεξιό κόλον (τυφλό, ανιόν κόλον, εγκάρσιο κόλον) παρουσιάζουν συμπτώματα που δεν είναι σαφή και συχνά είναι αόριστα λόγω του ευρύτερου αυλού του δεξιού κόλου, του υδαρούς περιεχομένου του και της ανθοκραμβοειδούς και όχι στενωτικής μορφολογίας που συνήθως έχουν. Έτσι, οι ασθενείς προσέρχονται καθυστερημένα παρουσιάζοντας συνήθως σιδηροπενική αναιμία, λόγω μικροσκοπικής αιμορραγίας από τον όγκο, και ασαφή δυσπεπτικά ενοχλήματα ή/και άλγος στη δεξιά κοιλία ή περιομφαλικά. Σε μερικούς ασθενείς με προχωρημένη νόσο μπορεί να ψηλαφάται μάζα στο δεξιό λαγόνιο βόθρο [32, 33], ενώ αλλαγές των συνηθειών του εντέρου ή αποφρακτικά φαινόμενα είναι σπάνια [32-34]. Η απόφραξη όταν εκδηλώνεται έχει τη μορφή ειλεού του λεπτού εντέρου και συνήθως οφείλεται σε όγκους τυφλού που αποφράσσουν την ειλεοτυφλική βαλβίδα [33].

Αντιθέτως, οι καρκίνοι που αναπτύσσονται στο αριστερό κόλον (κατιόν κόλον, σιγμοειδές κόλον) εμφανίζουν πιο χαρακτηριστικά συμπτώματα. Οι ασθενείς συχνά εμφανίζουν δυσκοιλιότητα ή διαρροϊκές κενώσεις ή εναλλαγή των δύο, καθώς επίσης συχνή είναι και η παρουσία αίματος και βλέννας στις κενώσεις, συνήθως αναμειγμένων με τα κόπρανα. Η αιμορραγία συνήθως είναι μικρή και σπανίως μεγάλη, προκαλώντας συχνά σιδηροπενική αναιμία, ενώ ανεύρεση ψηλαφητής μάζας υποδεικνύει προχωρημένη νόσο [32, 33]. Επιπλέον, δυνατή είναι και η εκδήλωση της νόσου ως πλήρης ή ατελής εντερική απόφραξη λόγω του στενότερου αυλού, του πιο συμπαγούς εντερικού περιεχομένου και της συνηθέστερης ανάπτυξης δακτυλιοειδούς τύπου νεοπλασμάτων [32-34].

Οι καρκίνοι που αναπτύσσονται στο ορθό εμφανίζονται με αποβολή καθαρού αίματος με τις κενώσεις, η οποία επιμένει και μπορεί να συνοδεύεται από την παρουσία βλέννης. Συχνά συμπτώματα είναι ο τεινισμός και το αίσθημα ατελούς

κένωσης [32-34]. Το άλγος συνήθως απουσιάζει, ενώ εάν εμφανιστεί, αποτελεί ένδειξη τοπικά προχωρημένης νόσου με διήθηση του ιερού και του υπογαστρίου νευρικού πλέγματος. Επίσης, διάφορα συμπτώματα εμφανίζονται αναλόγως του παρακείμενου οργάνου που διηθείται. Έτσι, σε διήθηση της ουροδόχου κύστεως μπορεί να εμφανιστούν συμπτώματα κυστίτιδας ή να σχηματιστεί ορθοκυστικό συρίγγιο με αποτέλεσμα την αποβολή αερίων ή/και κοπράνων κατά την ούρηση, ενώ σε διήθηση του κόλπου μπορεί να σχηματιστεί ορθοκολικό συρίγγιο με αποτέλεσμα την αποβολή αερίων ή/και κοπράνων από τον κόλπο. Όταν ο όγκος αναπτύσσεται στα τελευταία εκατοστά του ορθού είναι ψηλαφητός με τη δακτυλική εξέταση [32].

Η εμφάνιση κακουχίας, ανορεξίας, απώλειας βάρους, ψηλαφητής μάζας, ηπατομεγαλίας, ασκίτη, διογκωμένων λεμφαδένων σε ασθενή με καρκίνο παχέος εντέρου είναι ένδειξη προχωρημένης και μεταστατικής νόσου. Σχετικά με τις επιπλοκές του καρκίνου του παχέος εντέρου, αυτές είναι η εντερική απόφραξη, η αιμορραγία και η διάτρηση και πάντα αντιμετωπίζονται χειρουργικά σε επείγουσα βάση [32].

Το κυριότερο διαγνωστικό μέσο του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι η κολonosκόπηση, με την οποία είναι δυνατή η αναγνώριση του όγκου και η λήψη βιοψιών για την ιστολογική ταυτοποίησή του [32-34]. Η συνήθης εικόνα είναι αυτή ενός πολυποειδούς, ελκωτικού ή στενωτικού όγκου, ερυθρού στο χρώμα, με επηρμένα άκρα, κεντρική εξέλκωση και ήπια αιμορραγία [32]. Η κολonosκόπηση προτείνεται ως προληπτικό μέσο στο γενικό πληθυσμό, με στόχο την πρόωμη διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου, από την ηλικία των 50 ετών και στο εξής κάθε 5 έτη. Ο βαριούχος υποκλυσμός αποτελεί άλλο ένα διαγνωστικό μέσο, του οποίου η χρήση έχει μειωθεί λόγω της χρήσης της κολonosκόπησης [32-34]. Οι όγκοι

εμφανίζονται ως σκιαγραφικά ελλείμματα εξαιτίας πολυποειδούς μάζας, ανώμαλες στενώσεις ή ανώμαλες ελκωτικές κρύπτες [32].

Η αξονική τομογραφία άνω-κάτω κοιλίας και θώρακος είναι σημαντική για τη σταδιοποίηση του νεοπλάσματος, σε ό,τι αφορά τις απομακρυσμένες μεταστάσεις (όπως ηπατικές και πνευμονικές) και σε μικρότερο βαθμό τις επιχώριες λεμφαδενικές μεταστάσεις και την τοπική διήθηση των γειτονικών ιστών και οργάνων [35-38]. Ειδικά για τον καρκίνο του ορθού, μεγάλη αξία έχει το διορθικό υπερηχογράφημα και η μαγνητική τομογραφία πυέλου, που δείχνουν με μεγάλη ακρίβεια την έκταση διήθησης του νεοπλάσματος και την παρουσία ή μη παθολογικώς διογκωμένων επιχώριων λεμφαδένων [35, 37-40]. Επιπλέον, η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET scan) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση μεταστάσεων και τοπικών υποτροπών στα πλαίσια παρακολούθησης ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου [35-39, 41, 42].

Όσον αφορά τους καρκινικούς δείκτες, για τον καρκίνο του παχέος εντέρου χαρακτηριστικό είναι το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), το οποίο αποτελεί μία γλυκοπρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης διαφόρων ιστών. Μερικά μόρια της εισέρχονται στο αίμα και μπορούν να ανιχνευθούν με ραδιοϊσοτοπικές μεθόδους. Δεν είναι ακριβής δείκτης για τη διάγνωση της νόσου. Ωστόσο, χρησιμοποιείται ως προγνωστικός δείκτης και ως δείκτης παρακολούθησης της εξέλιξης της νόσου, καθώς αύξηση των επιπέδων του CEA συνδέεται με υποτροπές του καρκίνου του παχέος εντέρου [43-46].

### **Σταδιοποίηση**

Υπάρχουν τρία συστήματα σταδιοποίησης του καρκίνου του παχέος εντέρου που χρησιμοποιούνται ευρύτερα: η σταδιοποίηση κατά Dukes, η σταδιοποίηση κατά Astler και Coller και η σταδιοποίηση κατά TNM της UICC-AJCC (International



Union Against Cancer – American Joint Committee on Cancer). Η σταδιοποίηση πλέον θεωρείται επαρκής όταν στο χειρουργικό παρασκεύασμα ανευρίσκονται τουλάχιστον 12 λεμφαδένες [47-51].

#### Σταδιοποίηση κατά Dukes [51]

Στάδιο A: Όγκος περιορισμένος στο τοίχωμα του παχέος εντέρου

Στάδιο B: Διήθηση γειτονικών ιστών

Στάδιο C: Παρουσία επιχώριων λεμφαδενικών μεταστάσεων

Στάδιο D: Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

#### Σταδιοποίηση κατά Astler και Coller [51]

Στάδιο A: Όγκος περιορισμένος στο βλεννογόνο ή τον υποβλεννογόνο χιτώνα του παχέος εντέρου

Στάδιο B1: Διήθηση μυϊκού χιτώνα παχέος εντέρου χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις

Στάδιο B2: Διήθηση ορογόνου χιτώνα παχέος εντέρου χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις

Στάδιο C1: Διήθηση μυϊκού χιτώνα παχέος εντέρου με λεμφαδενικές μεταστάσεις

Στάδιο C2: Διήθηση ορογόνου χιτώνα παχέος εντέρου με λεμφαδενικές μεταστάσεις

Στάδιο D: Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

#### Σταδιοποίηση κατά TNM της UICC-AJCC (7<sup>η</sup> έκδοση, 2009) [51]

T: Έκταση διήθησης πρωτοπαθούς όγκου

Tx: Αδυναμία εκτίμησης πρωτοπαθούς όγκου

T0: Απουσία ένδειξης πρωτοπαθούς όγκου

Tis: Καρκίνωμα in situ: ενδοεπιθηλιακός όγκος ή διήθηση χορίου  
(ενδοβλεννογονικός όγκος)

T1: Διήθηση υποβλεννογονίου χιτώνα

T2: Διήθηση μυϊκού χιτώνα

T3: Διήθηση περικολικών ιστών διαμέσου του μυϊκού χιτώνα

T4a: Διήθηση έως και την επιφάνεια του ορογόνου χιτώνα (σπλαγχνικό περιτόναιο)

T4b: Άμεση διήθηση ή επαφή άλλων οργάνων ή δομών

N: Επιχώριοι λεμφαδένες

Nx: Αδυναμία εκτίμησης επιχώριων λεμφαδένων

N0: Απουσία επιχώριων λεμφαδενικών μεταστάσεων

N1: Διήθηση 1-3 επιχώριων λεμφαδένων

N1a: Διήθηση 1 επιχώριου λεμφαδένα

N1b: Διήθηση 2 ή 3 επιχώριων λεμφαδένων

N1c: Καρκινικές εναποθέσεις σε υπορογόνιους ιστούς, μεσεντέριο ή μη καλυπτόμενους από περιτόναιο περικολικούς ή περιορθικούς ιστούς χωρίς επιχώριες λεμφαδενικές μεταστάσεις

N2: Διήθηση 4 ή περισσότερων επιχώριων λεμφαδένων

N2a: Διήθηση 4-6 επιχώριων λεμφαδένων

N2b: Διήθηση 7 ή περισσότερων επιχώριων λεμφαδένων

M: Απομακρυσμένες μεταστάσεις

M0: Απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

M1: Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

M1a: Μετάσταση περιορισμένη σε ένα όργανο ή θέση

M1b: Μεταστάσεις σε πάνω από ένα όργανο ή θέση ή στο περιτόναιο

G: Διαφοροποίηση (grade)

Gx: Αδυναμία εκτίμησης διαφοροποίησης

G1: Υψηλή διαφοροποίηση

G2: Μέση διαφοροποίηση

G3: Χαμηλή διαφοροποίηση

G4: Αδιαφοροποίητο νεόπλασμα

<b>Πίνακας 1. Σταδιοποίηση καρκίνου παχέος εντέρου κατά TNM (7<sup>η</sup> έκδοση, 2009) [51]</b>			
<b>Στάδιο</b>	<b>Tα</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIΒ	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIΑ	T1-T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
IIIΒ	T3-T4a	N1	M0
	T2-T3	N2a	M0
IIIС	T1-T2	N2b	
	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVΑ	Οποιοδήποτε Tα	Οποιοδήποτε N	M1a
IVΒ	Οποιοδήποτε Tα	Οποιοδήποτε N	M1b

### **Θεραπεία και παρακολούθηση**

Η θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι κατά βάση χειρουργική και επικουρείται από τη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία αναλόγως του σταδίου και της θέσης του όγκου. Σε καρκίνους του δεξιού κόλου (τυφλού, ανιόντος κόλου, δεξιάς κολικής καμπής) η κατάλληλη χειρουργική επέμβαση είναι η δεξιά ημικολεκτομή, ενώ σε καρκίνους του εγκαρσίου κόλου διενεργείται εκτεταμένη δεξιά

ημικολεκτομή, αν και προτείνεται και η εγκαρσιεκτομή. Σε καρκίνους του αριστερού κόλου (αριστερής κοιλικής καμπής, κατιόντος κόλου) η κατάλληλη χειρουργική επέμβαση είναι η αριστερή ημικολεκτομή. Σε καρκίνους του σιγμοειδούς κόλου η κατάλληλη χειρουργική επέμβαση είναι η σιγμοειδεκτομή. Τέλος, σε καρκίνους του ορθού η επέμβαση εκλογής είναι η χαμηλή πρόσθια εκτομή για όγκους που εντοπίζονται έως και 2-4 εκατοστά από την οδοντωτή γραμμή, ενώ για όγκους πιο κοντά στην οδοντωτή γραμμή διενεργείται κοιλιοπερινεϊκή εκτομή με τελική κολοστομία. Ωστόσο, μπορεί να διενεργηθεί και μεσοσφιγκτηριακή εκτομή με διατήρηση των σφιγκτήρων του πρωκτού και κολοπρωκτική αναστόμωση για όγκους κοντά στην οδοντωτή γραμμή που δεν διηθούν τους σφιγκτήρες του πρωκτού. Σε περιπτώσεις όγκων στο κατώτερο τριτημόριο του ορθού για τους οποίους διενεργείται χαμηλή πρόσθια εκτομή ή μεσοσφιγκτηριακή εκτομή, η συνήθης πρακτική περιλαμβάνει και τη δημιουργία προφυλακτικής ειλεοστομίας αγκύλης ή κολοστομίας αγκύλης, η οποία δύναται να συγκλεισθεί μετά την πάροδο περίπου 10 εβδομάδων. Σε περίπτωση παρουσίας μεταστατικής νόσου επιχειρείται εκτομή αυτής εάν είναι εξαιρεσιμη, είτε στον ίδιο είτε σε άλλο χρόνο [32-34]. Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι σε πρώιμους όγκους του ορθού είναι δυνατόν να εφαρμοστεί και η τοπική διαπρωκτική εκτομή τους, εφόσον πληρούν τις εξής προϋποθέσεις: είναι όγκοι μικρότεροι από 4 εκατοστά σε διάμετρο, εντοπίζονται έως 6 εκατοστά από την οδοντωτή γραμμή, είναι όγκοι T1 (διήθηση έως τον υποβλεννογόνιο χιτώνα) ή T2 (διήθηση έως το μυϊκό χιτώνα), έχουν υψηλή ή μέση διαφοροποίηση, δεν παρουσιάζουν αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση και δεν υπάρχουν ενδείξεις διήθησης επιχώριων λεμφαδένων [33].

Σε κάθε περίπτωση που η χειρουργική επέμβαση διενεργείται σε τακτική βάση και έχει προηγηθεί καθαρισμός του παχέος εντέρου, εκτός της κοιλιοπερινεϊκής εκτομής,

γίνεται αναστόμωση του κεντρικού και του περιφερικού κολοβώματος. Σε περιπτώσεις επιπλεγμένου καρκίνου παχέος εντέρου, δηλαδή εντερικής απόφραξης, αιμορραγίας ή διάτρησης η χειρουργική αντιμετώπιση είναι επείγουσα και γίνεται χωρίς προετοιμασία του παχέος εντέρου. Εάν ο όγκος εντοπίζεται στο δεξιό κόλον (τυφλό, ανιόν κόλον, εγκάρσιο κόλον), διενεργείται δεξιά ημικολεκτομή με ειλεοεγκάρσια αναστόμωση, ενώ εάν ο όγκος εντοπίζεται στο αριστερό κόλον (αριστερό κόλον, σιγμοειδές κόλον) ή στο ορθό, γίνεται η ανάλογη εκτομή, το κεντρικό κολόβωμα εκστομώνεται στο δέρμα της κοιλιακής χώρας ως τελική κολοστομία και το περιφερικό κολόβωμα συγκλείεται ή εκστομώνεται στο δέρμα της κοιλιακής χώρας ως βλεννώδες συρίγγιο [32-34].

Σε ό,τι αφορά την επικουρική θεραπεία, υπάρχει διαφορά μεταξύ του καρκίνου του κόλου και του ορθού [47-50, 52, 53]. Στους καρκίνους του κόλου σταδίου I και II δεν απαιτείται η χρήση επικουρικής χημειοθεραπείας και αρκεί μόνο η χειρουργική αντιμετώπιση. Εξαίρεση αποτελούν οι καρκίνοι σταδίου II με κακούς προγνωστικούς παράγοντες, οι οποίοι είναι οι εξής: εντερική απόφραξη, διάτρηση, όγκοι T4, όγκοι χαμηλής διαφοροποίησης, αγγειακή, λεμφαγγειακή ή περινευρική διήθηση, ανεύρεση λιγότερων από 12 λεμφαδένων και θετικά όρια εκτομής ή καρκίνος που φτάνει πολύ κοντά στα όρια εκτομής. Σε αυτές τις περιπτώσεις προστίθεται και μετεγχειρητική χημειοθεραπεία [47, 49]. Επίσης, μετεγχειρητική χημειοθεραπεία χορηγείται και στους καρκίνους του κόλου σταδίου III και IV [47, 49, 52, 53]. Στους καρκίνους του ορθού σταδίου I δεν απαιτείται συμπληρωματική θεραπεία, ενώ στους καρκίνους του ορθού σταδίου II, III και IV χορηγείται προεγχειρητική χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία και μετεγχειρητική χημειοθεραπεία [48, 50].

Η χημειοθεραπεία στον καρκίνο του παχέος εντέρου περιλαμβάνει σχήματα βασισμένα στην 5-φθοριοουρακίλη, όπως το FOLFOX (5-φθοριοουρακίλη,

λευκοβορίνη, οξαλιπλατίνη), και το CapeOx (καπεσιταμπίνη, οξαλιπλατίνη). Στον καρκίνο παχέος εντέρου σταδίου IV χρησιμοποιούνται επίσης και τα χημειοθεραπευτικά σχήματα FOLFIRI (5-φθοριοουρακίλη, λευκοβορίνη, ιρινοτεκάνη) και FOLFOXIRI (5-φθοριοουρακίλη, λευκοβορίνη, οξαλιπλατίνη, ιρινοτεκάνη), τα μονοκλωνικά αντισώματα κατά του EGFR (υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα) cetuximab και panitumumab, εάν τα καρκινική κύτταρα φέρουν μη μεταλλαγμένο ογκογονίδιο *K-ras*, και το μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του VEGF-A (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας τύπου A) bevasizumab [47-50, 52, 53].

Η μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου περιλαμβάνει λήψη ιστορικού, κλινική εξέταση και μέτρηση του CEA στον ορό κάθε 3-6 μήνες για τα 2 πρώτα έτη και μετά κάθε 6 μήνες μέχρι τη συμπλήρωση 5 ετών. Επίσης, περιλαμβάνει κολonosκόπηση στο 1 έτος και στα 3 έτη μετά τη χειρουργική επέμβαση και ακολούθως κάθε 5 έτη. Τέλος, η αξονική τομογραφία θώρακος, κοιλίας και πυέλου προτείνεται σε ετήσια βάση μέχρι τη συμπλήρωση 5 ετών από τη χειρουργική επέμβαση [49, 50].

## ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

### Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος του στομάχου είναι ο τέταρτος συχνότερος καρκίνος παγκοσμίως [54-56]. Ωστόσο, η επίπτωσή του έχει μεγάλες διακυμάνσεις ανά τον κόσμο. Η μεγαλύτερη επίπτωσή του απαντάται στην Άπω Ανατολή, τη Νότια Αμερική και την Ανατολική Ευρώπη, ενώ η μικρότερη στη Βόρεια Αμερική, τη Δυτική Ευρώπη και την Αφρική [54-62]. Η συχνότερη ιστολογική μορφή του είναι το αδenoκαρκίνωμα, σε ποσοστό περίπου 90%-95% [55, 58, 59, 62]. Ο καρκίνος εντοπίζεται συχνότερα στο άπω τμήμα του στομάχου, αν και τα τελευταία χρόνια αυξάνεται η συχνότητα της εμφάνισής του στο εγγύς τμήμα του και ελαττώνεται στο άπω τμήμα του [54-58, 61, 62]. Διάφοροι παράγοντες κινδύνου έχουν συνδεθεί με την ανάπτυξη καρκίνου του στομάχου. Μεταξύ αυτών είναι η αυξημένη κατανάλωση αλατισμένου κρέατος και ψαριού και καπνιστού κρέατος, η μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ, το ανδρικό φύλο (καθώς άνω του 60% των ασθενών είναι άνδρες), η λοίμωξη με *Helicobacter pylori*, η ραδιενεργός ακτινοβολία, η προηγηθείσα γαστρεκτομή και η παρουσία ατροφικής γαστρίτιδας, εντερικής μετάπλασης ή/και αδενωματοδών πολυπόδων [54, 55, 57-62].

Η συνολική πενταετής επιβίωση για τον καρκίνο του στομάχου υπολογίζεται περίπου στο 20%-25%, καθώς στους περισσότερους ασθενείς η νόσος διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο με τοπικά προχωρημένη ή μεταστατική νόσο [57, 59, 62]. Στις περιπτώσεις πρώιμου γαστρικού καρκίνου η πενταετής επιβίωση είναι άνω του 80% [55, 57-59], ενώ στον προχωρημένο γαστρικό καρκίνο κυμαίνεται μεταξύ 5% και 20%, αναλόγως της έκτασης διήθησης της νόσου και την παρουσία ή μη απομακρυσμένων μεταστάσεων [58]. Πέραν αυτών, τα ποσοστά των υποτροπών μετά τη γαστρεκτομή είναι υψηλά και κυμαίνονται μεταξύ 30% και 60% [56, 63-65]. Οι



περισσότερες υποτροπές συμβαίνουν εντός 2 ετών από τη γαστρεκτομή [65]. Τα ποσοστά των τοπικών υποτροπών είναι 55%-65% επί του συνόλου των υποτροπών [56, 64, 65] και οι συχνότερες θέσεις υποτροπής είναι το γαστρικό κολόβωμα, η αναστόμωση, η ανατομική περιοχή του στομάχου και οι επιχώριοι λεμφαδένες [56, 63-65]. Οι περιτοναϊκές εμφυτεύσεις εμφανίζονται στο 30%-60% και οι απομακρυσμένες μεταστάσεις στο 20%-50% των ασθενών με υποτροπή [56, 64, 65]. Η αιματογενής διασπορά παρατηρείται συχνότερα στο ήπαρ, τους πνεύμονες και τα οστά [56, 63-65].

### **Γονιδιακές μεταβολές και κληρονομικά σύνδρομα**

Διάφορες γενετικές μεταβολές έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του στομάχου, όπως η ενεργοποίηση ογκογονιδίων, η απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, η παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας [66-72] και η ενεργοποίηση της τελομεράσης [67, 72]. Παραδείγματα ενεργοποιημένων ογκογονιδίων είναι τα *c-erbB2*, *c-met*, *c-myc*, *K-ras* και *k-sam*, ενώ παραδείγματα απενεργοποιημένων ογκοκατασταλτικών γονιδίων είναι τα *p53*, *p16*, *p27* και *APC* [66-72]. Επίσης, στον καρκίνο του στομάχου παρατηρείται συχνά μικροδορυφορική αστάθεια, δηλαδή η απώλεια ή η προσθήκη επιπλέον μικρών επαναλαμβανόμενων νουκλεοτιδικών μοτίβων [67, 71, 72] λόγω βλάβης του μηχανισμού επιδιόρθωσης του DNA, που οφείλεται σε μετάλλαξη ή απενεργοποίηση των αντίστοιχων γονιδίων, όπως τα εξής: *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1*, *PMS2* [67-71]. Μία επιπλέον γενετική μεταβολή είναι η ελάττωση των επιπέδων ή η απώλεια έκφρασης του μορίου προσκόλλησης E-cadherin λόγω μειωμένης έκφρασης ή μετάλλαξης του αντίστοιχου γονιδίου *CDH1* [66-72], η οποία συναντάται συχνά στα αδenoκαρκινώματα στομάχου διάχυτου τύπου [67, 69, 71, 72].

Ο καρκίνος του στομάχου αποτελεί συχνή εκδήλωση διάφορων γενετικών συνδρόμων, τα οποία χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση και άλλων καλοηθών και κακοηθών νεοπλασμάτων. Μερικά παραδείγματα αυτών των συνδρόμων είναι η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση (ή σύνδρομο Gardner) (μετάλλαξη του *APC*), ο κληρονομικός μη πολυποδιασικός καρκίνος του παχέος εντέρου (ή σύνδρομο Lynch) (μετάλλαξη του *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1* ή *PMS2*), το σύνδρομο Li-Fraumeni (μετάλλαξη του *p53*) και ο κληρονομικός διάχυτος καρκίνος στομάχου (μετάλλαξη του *CDH1*) [59, 61, 62, 67, 73-75]. Ο δια βίου κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου στομάχου στον κληρονομικό διάχυτο καρκίνο στομάχου είναι άνω του 80% [59, 73, 74].

### **Παθολογοανατομική ταξινόμηση**

Υπάρχουν διάφορα συστήματα παθολογοανατομικής ταξινόμησης του καρκίνου του στομάχου. Τα πιο διαδεδομένα είναι του Borrmann, του Lauren και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization (WHO)). Το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο είναι του Lauren. Το σύστημα ταξινόμησης κατά Borrmann διακρίνει τέσσερις κατηγορίες καρκίνου στομάχου βάσει της μακροσκοπικής εικόνας του, οι οποίες είναι οι εξής: τύπος 1: πολυποειδής όγκος, τύπος 2: ελκωτική βλάβη με κρατήρα και υπεγεργμένα όρια χωρίς διήθηση του παρακείμενου βλεννογόνου, τύπος 3: ελκωτική βλάβη με ελαφρώς υπεγεργμένα όρια και διήθηση των υποκείμενων στιβάδων, τύπος 4: διάχυτη διήθηση ολόκληρου του γαστρικού τοιχώματος (πλαστική λινίτιδα) [58, 76].

Η ταξινόμηση κατά Lauren διακρίνει δύο ιστολογικούς τύπους αδενοκαρκινώματος στομάχου βάσει της μικροσκοπικής εικόνας του, τον εντερικό και το διάχυτο τύπο. Τα αδενοκαρκινώματα εντερικού τύπου είναι συνήθως καλώς

διαφοροποιημένα, έχουν την τάση να σχηματίζουν αδένια και έχουν καλύτερη πρόγνωση. Συνήθως αναπτύσσονται επί εδάφους προκαρκινωματώδους παθολογίας, όπως η ατροφική γαστρίτιδα και η εντερική μεταπλασία [62, 67, 71, 72, 77, 76]. Γενετικά σχετίζονται με απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων *p53*, *p16* και *APC*, με ενεργοποίηση του ογκογονιδίου *K-ras* και με παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας [67, 72]. Οι άνδρες προσβάλλονται συχνότερα από τις γυναίκες, ενώ απαντώνται συχνότερα σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας και σε περιοχές με αυξημένη επίπτωση του καρκίνου στομάχου, υποδηλώνοντας περιβαλλοντικά αίτια [62, 67, 72, 76, 77]. Η μεταστατική διασπορά τους είναι συνήθως αιματογενής και λεμφογενής [67, 72]. Από την άλλη μεριά, τα αδενοκαρκινώματα διάχυτου τύπου αποτελούνται από μικρές ομάδες μικρών ομοιόμορφων κυττάρων περιεχόντων βλέννη, τα οποία συχνά έχουν μορφολογία δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου, έχουν πτωχή διαφοροποίηση, δεν σχηματίζουν αδένια και έχουν χειρότερη πρόγνωση [67, 72, 76, 77]. Γενετικά σχετίζονται με μειωμένη έκφραση του μορίου προσκόλλησης E-cadherin λόγω ελαττωμένης έκφρασης ή μετάλλαξης του αντίστοιχου γονιδίου *CDH-1* και ενεργοποίηση των ογκογονιδίων *c-met* και *k-sam* [67, 72]. Συχνά προσβάλλονται ασθενείς μικρότερης ηλικίας [67, 72, 76, 77], ενώ η επίπτωση φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες [67, 76, 77]. Επιπλέον, υπάρχει συσχέτιση με την παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού [62, 67, 72]. Η διασπορά συνήθως γίνεται υποβλεννογονίως, διατοιχωματικά και μέσω των λεμφαγγείων και των λεμφαδένων και εκδηλώνεται νωρίς, ενώ συχνές είναι και οι περιτοναϊκές μεταστάσεις [67, 72]. Παρόλα αυτά, υπάρχουν αδενοκαρκινώματα στομάχου που περιλαμβάνουν τμήματα με μορφολογία εντερικού τύπου και τμήματα με μορφολογία διάχυτου τύπου. Ως εκ τούτου χαρακτηρίζονται αδενοκαρκινώματα μεικτού τύπου [67, 72, 76, 77].

Τέλος, ο WHO διακρίνει τους καρκίνους στομάχου σε πέντε ιστολογικούς τύπους καρκινώματος, οι οποίοι είναι οι εξής: αδеноκαρκίνωμα, αδеноπλακώδες καρκίνωμα, πλακώδες καρκίνωμα, αδιαφοροποίητο καρκίνωμα και αταξινόμητο καρκίνωμα. Τα αδеноκαρκινώματα χωρίζονται σε τέσσερις υποκατηγορίες, οι οποίες είναι οι εξής: θηλώδες, σωληνώδες, βλενωδές και εκ κυττάρων δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου. Κάθε μία υποκατηγορία υποδιαιρείται περαιτέρω βάσει της διαφοροποίησης του νεοπλάσματος [72, 76, 77].

### **Κλινική εικόνα και εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις**

Η συμπτωματολογία του καρκίνου του στομάχου είναι ασαφής και μη ειδική. Σε αυτό οφείλεται και η συχνή διάγνωση της νόσου σε προχωρημένα στάδια. Οι συνηθέστερες εκδηλώσεις αφορούν σε αίσθημα πρώιμης γαστρικής πλήρωσης, επιγαστρικό άλγος και απώλεια βάρους. Δυσφαγία μπορεί να εκδηλωθεί σε όγκους της καρδιακής μοίρας του στομάχου που αποφράσσουν την είσοδό του και εικόνα πυλωρικής στένωσης μπορεί να εμφανιστεί σε όγκους του πυλωρικού άντρου που αποφράσσουν την έξοδο του στομάχου. Συχνή είναι και η αιμορραγία από τον όγκο, συνήθως με τη μορφή της χρόνιας απώλειας αίματος που εκδηλώνεται ως σιδηροπενική αναιμία και σπανιότερα με τη μορφή της γαστρορραγίας. Επίσης, ο καρκίνος του στομάχου, συνήθως όταν είναι ελκωτικού τύπου, μπορεί να προκαλέσει διάτρηση του τοιχώματος του στομάχου. Σε περιπτώσεις μεταστατικής νόσου ιδιαίτερα κλινικά σημεία μπορεί να εμφανιστούν, όπως είναι η παρουσία ηπατομεγαλίας, ασκίτη και ικτέρου λόγω ηπατικών μεταστάσεων, διογκωμένοι υπερκλείδιοι λεμφαδένες λόγω λεμφαδενικών μεταστάσεων (λεμφαδένας του Virchow όταν πρόκειται για αριστερούς υπερκλείδιους λεμφαδένες), σκληρία στο δουγλάσειο χώρο κατά τη δακτυλική εξέταση λόγω περιτοναϊκών εμφυτεύσεων

(κέλυφος του Blummer), οζίδιο περιομφαλικά λόγω περιτοναϊκών εμφυτεύσεων (οζίδιο της Sister Mary Joseph) και περιτοναϊκές εμφυτεύσεις στις ωοθήκες κατά την εξέταση της πυέλου (όγκος του Krukenberg). Αναφορικά με τις επιπλοκές του καρκίνου του στομάχου, αυτές είναι η απόφραξη, η αιμορραγία και η διάτρηση [78-80].

Το κυριότερο διαγνωστικό μέσο του καρκίνου του στομάχου είναι η γαστροσκόπηση, με την οποία είναι δυνατή η άμεση αναγνώριση του όγκου και η λήψη βιοψιών για την ιστολογική ταυτοποίησή του. Ο όγκος μπορεί να έχει πολυποειδή, ελκωτική ή στενωτική μορφολογία [78-80]. Η ενδοσκόπηση μπορεί να συνδυαστεί με υπερηχογραφικό έλεγχο των τοιχωμάτων του στομάχου και των γειτονικών ιστών. Το ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα δείχνει με μεγάλη ακρίβεια την έκταση διήθησης του νεοπλάσματος και την παρουσία ή μη παθολογικός διογκωμένων επιχώριων λεμφαδένων [81-84]. Επίσης, αναδεικνύει και την παρουσία μεταστατικών εστιών που βρίσκονται κοντά στο στόμαχο, όπως για παράδειγμα στον αριστερό λοβό του ήπατος [82-84]. Το βαριούχο γέυμα αποτελεί ένα άλλο διαγνωστικό μέσο, του οποίου η χρήση έχει μειωθεί λόγω της χρήσης της γαστροσκόπησης. Οι όγκοι εμφανίζονται ως σκιαγραφικά ελλείμματα εξαιτίας πολυποειδούς μάζας, στενώσεις εξαιτίας μη διατάσιμου τοιχώματος που οφείλεται σε διάχυτη διήθηση ή ελκωτικοί κρατήρες. Τα κακοήθη έλκη διαφέρουν από τα καλοήθη στα εξής χαρακτηριστικά: βρίσκονται συνήθως μέσα σε μάζα, οι πτυχές του βλεννογόνου έχουν ακανόνιστη διάταξη και συνήθως είναι μεγαλύτερα από 1 cm [78].

Η αξονική τομογραφία άνω-κάτω κοιλίας και θώρακος είναι σημαντική για τη σταδιοποίηση του νεοπλάσματος, σε ό,τι αφορά τις απομακρυσμένες μεταστάσεις (ηπατικές, πνευμονικές κ.τ.λ.) και σε μικρότερο βαθμό τις επιχώριες λεμφαδενικές

μεταστάσεις και την τοπική διήθηση των γειτονικών ιστών και οργάνων. Ωστόσο, η ικανότητα ανίχνευσης των περιτοναϊκών εμφυτεύσεων είναι περιορισμένη [81, 84-86]. Τα ίδια φαίνεται να ισχύουν και για τη μαγνητική τομογραφία, η οποία ωστόσο έχει δοκιμαστεί σε μικρό σχετικά αριθμό μελετών όσον αφορά αυτή τη νόσο [81, 85]. Επιπλέον, η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET scan) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση απομακρυσμένων μεταστάσεων στα πλαίσια παρακολούθησης ασθενών με καρκίνο στομάχου, ενώ δεν είναι ακριβής στην εκτίμηση των επιχώριων λεμφαδενικών μεταστάσεων και της τοπικής διήθησης των γειτονικών ιστών και οργάνων [81, 87, 88]. Τέλος, η διαγνωστική λαπαροσκόπηση έχει μεγαλύτερη ακρίβεια από την αξονική τομογραφία στην ανίχνευση απομακρυσμένων μεταστάσεων, τόσο μακροσκοπικών όσο και μικροσκοπικών μέσω της κυτταρολογικής εξέτασης περιτοναϊκής έκπλυσης, αλλά αναδεικνύει και την τοπικά προχωρημένη νόσο [86, 89-93]. Το ποσοστό των ασθενών που σύμφωνα με τις απεικονιστικές εξετάσεις έχουν εξαιρεσιμη νόσο και τελικά αποδεικνύεται με τη διαγνωστική λαπαροσκόπηση ότι η νόσος τους είναι μη εξαιρεσιμη κυμαίνεται από 10% έως 60% στις διάφορες μελέτες. Όλοι αυτοί μπορούν να γλιτώσουν μία λαπαροτομία που δεν θα τους προσφέρει ουσιαστικά στην επιβίωση [86, 89-92].

### **Σταδιοποίηση**

Το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο σύστημα σταδιοποίησης του καρκίνου του στομάχου είναι η σταδιοποίηση κατά TNM της UICC-AJCC (International Union Against Cancer – American Joint Committee on Cancer). Η σταδιοποίηση πλέον θεωρείται επαρκής όταν στο χειρουργικό παρασκεύασμα ανευρίσκονται τουλάχιστον 15 λεμφαδένες [94-96].

Σταδιοποίηση κατά TNM της UICC-AJCC (7<sup>η</sup> έκδοση, 2009) [96]

T: Έκταση διήθησης πρωτοπαθούς όγκου

Tx: Αδυναμία εκτίμησης πρωτοπαθούς όγκου

T0: Απουσία ένδειξης πρωτοπαθούς όγκου

Tis: Καρκίνωμα in situ: ενδοεπιθηλιακός όγκος χωρίς διήθηση του χορίου

T1: Διήθηση χορίου, βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας ή υποβλεννογονίου χιτώνα

T1a: Διήθηση χορίου ή βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας

T1b: Διήθηση υποβλεννογονίου χιτώνα

T2: Διήθηση μυϊκού χιτώνα

T3: Διήθηση υπορογονίου συνδετικού ιστού χωρίς διήθηση του σπλαγχνικού περιτοναίου ή των γειτονικών δομών

T4: Διήθηση ορογόνου χιτώνα (σπλαγχνικού περιτοναίου) ή γειτονικών δομών

T4a: Διήθηση ορογόνου χιτώνα (σπλαγχνικού περιτοναίου)

T4b: Διήθηση γειτονικών δομών

N: Επιχώριοι λεμφαδένες

Nx: Αδυναμία εκτίμησης επιχώριων λεμφαδένων

N0: Απουσία επιχώριων λεμφαδενικών μεταστάσεων

N1: Διήθηση 1 ή 2 επιχώριων λεμφαδένων

N2: Διήθηση 3-6 επιχώριων λεμφαδένων

N3: Διήθηση 7 ή περισσότερων επιχώριων λεμφαδένων

N3a: Διήθηση 7-15 επιχώριων λεμφαδένων

N3b: Διήθηση 16 ή περισσότερων επιχώριων λεμφαδένων

M: Απομακρυσμένες μεταστάσεις

M0: Απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

M1: Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

G: Διαφοροποίηση (grade)

Gx: Αδυναμία εκτίμησης διαφοροποίησης

G1: Υψηλή διαφοροποίηση

G2: Μέση διαφοροποίηση

G3: Χαμηλή διαφοροποίηση

G4: Αδιαφοροποίητο νεόπλασμα



<b>Πίνακας 2. Σταδιοποίηση καρκίνου στομάχου κατά TNM (7<sup>η</sup> έκδοση, 2009) [96]</b>			
<b>Στάδιο</b>	<b>Tα</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
IIB	T4b	N0	M0
	T4b	N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
IIIC	T4b	N2	M0
	T4b	N3	M0
	T4a	N3	M0
IV	Οποιοδήποτε Tα	Οποιοδήποτε N	M1

## Θεραπεία και παρακολούθηση

Η θεραπεία του καρκίνου του στομάχου είναι κατά βάση χειρουργική και επικουρείται από τη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία αναλόγως του σταδίου της νόσου. Για όγκους του πυλωρικού άντρου και του σώματος του στομάχου διενεργείται περιφερική ή υφολική γαστρεκτομή, ενώ για όγκους του θόλου ή της καρδιακής μοίρας του στομάχου διενεργείται ολική γαστρεκτομή. Τα επιθυμητά όρια εκτομής είναι τουλάχιστον 5 cm από τα μακροσκοπικά όρια του όγκου. Σχετικά με την αποκατάσταση της συνέχειας του γαστρεντερικού σωλήνα, η ανακατασκευή κατά Roux-en-Y είναι η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη τεχνική. Έτσι, στις περιφερικές ή υφολικές γαστρεκτομές συνήθως διενεργείται γαστρονηστιδική αναστόμωση κατά Roux-en-Y. Η ανακατασκευή κατά Billroth II (τελικο-πλάγια γαστρονηστιδική αναστόμωση με συρραφή του δωδεκαδακτυλικού κολοβώματος) αποτελεί μία εναλλακτική τεχνική, ενώ η ανακατασκευή κατά Billroth I (τελικο-τελική γαστροδωδεκαδακτυλική αναστόμωση) δεν προτιμάται πλέον. Στις ολικές γαστρεκτομές διενεργείται οισοφαγονηστιδική αναστόμωση κατά Roux-en-Y [78-80].

Πολλές έρευνες έχουν γίνει σχετικά με το κατάλληλο εύρος του λεμφαδενικού καθαρισμού σε γαστρεκτομές για καρκίνο στομάχου. Έχουν αναγνωριστεί τρία επίπεδα λεμφαδενικού καθαρισμού, τα D1, D2 και D3. Ο λεμφαδενικός καθαρισμός επιπέδου D1 περιλαμβάνει τους περιγαστρικούς λεμφαδένες μόνο. Ο λεμφαδενικός καθαρισμός επιπέδου D2 περιλαμβάνει ό,τι ο επιπέδου D1 και επιπλέον τους λεμφαδένες της κοιλιακής αρτηρίας και των κλάδων της (αριστερή γαστρική αρτηρία, σπληνική αρτηρία, κοινή ηπατική αρτηρία) με την πιθανή προσθήκη της σπληνεκτομής στην επέμβαση. Τέλος, ο λεμφαδενικός καθαρισμός επιπέδου D3 περιλαμβάνει ό,τι ο επιπέδου D2 και επιπλέον τους παρα-αορτικούς λεμφαδένες [78-

80]. Οι περισσότερες μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι το καταλληλότερο επίπεδο λεμφαδενικού καθαρισμού είναι το D2 χωρίς απαραίτητα την προσθήκη της σπληνεκτομής. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια υπάρχει μία τάση της επικέντρωσης στον αριθμό των αφαιρουμένων λεμφαδένων και όχι τόσο στο ανατομικό επίπεδό τους. Έτσι, ο λεμφαδενικός καθαρισμός θεωρείται επαρκής εάν έχουν αφαιρεθεί τουλάχιστον 15 λεμφαδένες με το χειρουργικό παρασκεύασμα [79, 80].

Πέραν των χειρουργικών επεμβάσεων, είτε ανοικτών είτε λαπαροσκοπικών επεμβάσεων, τα τελευταία χρόνια έχουν αρχίσει και εφαρμόζονται ενδοσκοπικές τεχνικές, όπως η βλεννογονική και η υποβλεννογόνια ενδοσκοπική εκτομή, σε περιπτώσεις πρώιμου γαστρικού καρκίνου με περιορισμένη διήθηση του τοιχώματος του στομάχου και χωρίς ένδειξη λεμφαδενικών μεταστάσεων. Οι ενδείξεις βλεννογονικής ενδοσκοπικής εκτομής του πρώιμου γαστρικού καρκίνου είναι οι εξής: όγκος διαμέτρου μικρότερης των 2 cm, όγκος περιορισμένος στο βλεννογόνο, απουσία αγγειακής ή λεμφαγγειακής διήθησης, απουσία διηθημένων λεμφαδένων, απουσία εξέλκωσης. Ωστόσο, ορισμένοι ερευνητές προτείνουν και διευρυμένα κριτήρια για την εφαρμογή της μεθόδου, τα οποία περιλαμβάνουν τις εξής προϋποθέσεις: όλοι οι ενδοβλεννογονικοί όγκοι χωρίς εξέλκωση, οι καλώς διαφοροποιημένοι ενδοβλεννογονικοί όγκοι με εξέλκωση, εφόσον είναι μικρότεροι από 3 cm σε διάμετρο, και οι όγκοι με διήθηση του υποβλεννογονίου χιτώνα έως 500 μm σε βάθος με διάμετρο μικρότερη των 3 cm και χωρίς εξέλκωση. Επιπλέον, οι όγκοι θα πρέπει να μην παρουσιάζουν αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση ή διηθημένους λεμφαδένες [79, 80].

Όσον αφορά την επικουρική θεραπεία, αυτή έγκειται στην εφαρμογή χημειοθεραπείας, με σχήματα που περιλαμβάνουν κατά βάση 5-φθοριουρακίλη, επιρουμπικίνη και σισπλατίνη, και ακτινοθεραπείας. Περιεγχειρητική χημειοθεραπεία

προτείνεται για όλους τους ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε R0 εκτομή όγκων T1b-T4. Επίσης, για αυτούς τους ασθενείς προτείνεται και συνδυασμός προεγχειρητικής χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας. Η μετεγχειρητική χορήγηση χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας κρίνεται σκόπιμη στους ασθενείς που δεν έχουν λάβει προεγχειρητική θεραπεία, έχουν υποβληθεί σε R0 εκτομή και έχουν όγκους T3-T4, ανεξαρτήτως λεμφαδενικών μεταστάσεων, ή όγκους T1-T2 με λεμφαδενικές μεταστάσεις ή όγκους T2N0 με ιστολογικά χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου (π.χ. χαμηλή διαφοροποίηση, αγγειακή, λεμφαγγειακή ή περινευρική διήθηση κ.λπ.). Επίσης, μετεγχειρητική χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με διηθημένα όρια εκτομής. Σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένη ή μεταστατική νόσο πρέπει να χορηγείται χημειοθεραπεία, η οποία μπορεί να περιλαμβάνει και trastuzumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του υποδοχέα HER2/neu (υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα τύπου 2), σε περιπτώσεις αυξημένης έκφρασης του συγκεκριμένου υποδοχέα [94, 95].

Σε ό,τι αφορά τις επιπλοκές του καρκίνου του στομάχου, αυτές είναι η αιμορραγία, η απόφραξη και η διάτρηση [78-80]. Σε περιπτώσεις αιμορραγίας, ενδοσκοπικές μέθοδοι (καυτηριασμός, έγχυση αδρεναλίνης, τοποθέτηση κλιπ κ.α.) κατά πρώτον και αγγειογραφία με εμβολισμό του αιμορραγούντος αγγείου κατά δεύτερον πρέπει να εφαρμόζονται για να σταματήσει η αιμορραγία. Σε περιπτώσεις αποτυχίας τους και σε αιμοδυναμικά ασταθή ασθενή ακολουθεί χειρουργική αντιμετώπιση με εκτομή του αιμορραγούντος όγκου, η ριζικότητα της οποίας υπαγορεύεται από την έκταση της νόσου, τη γενική κατάσταση και το προσδόκιμο επιβίωσης του ασθενούς [79]. Ασθενείς που εκδηλώνουν εικόνα απόφραξης συνήθως έχουν προχωρημένη νόσο. Διάφορες επιλογές παρηγορητικής θεραπείας υπάρχουν, όπως η χορήγηση χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας με σκοπό τη συρρίκνωση του

όγκου, η παρηγορητική γαστρεκτομή, η δημιουργία νηστιδοστομίας ή γαστρονηστιδικής αναστόμωσης και η ενδοσκοπική διαστολή με τοποθέτηση νάρθηκα (stent) [78, 79]. Η αντιμετώπιση της διάτρησης είναι πάντα επείγουσα και χειρουργική. Η ριζικότητα της γαστρεκτομής υπαγορεύεται από την έκταση της νόσου, τη γενική κατάσταση και το προσδόκιμο επιβίωσης του ασθενούς. Σε ασθενείς με πολύ πτωχή πρόγνωση και γενική κατάσταση μπορεί να γίνει σύγκλιση της διάτρησης χρησιμοποιώντας τμήμα μείζονος επιπλόου. Τέλος, η πλαστική λινίτιδα αφορά σε διάχυτη διήθηση όλου του τοιχώματος του στομάχου και χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα πτωχή πρόγνωση. Η παρηγορητική χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία και η συμπτωματική αντιμετώπιση του ασθενούς αποτελούν την κύρια μορφή θεραπείας, ενώ ολική γαστρεκτομή διενεργείται σε ασθενείς με μη ελεγχόμενη συμπτωματολογία [79].

Η μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών με καρκίνο στομάχου περιλαμβάνει λήψη ιστορικού και κλινική εξέταση κάθε 3-6 μήνες για τα πρώτα 1-2 έτη, κάθε 6-12 μήνες για τα επόμενα 3-5 έτη και ακολούθως ετησίως. Ο εργαστηριακός έλεγχος με γενική αίματος και βιοχημικό έλεγχο, η ενδοσκόπηση του ανωτέρου πεπτικού και ο απεικονιστικός έλεγχος με αξονική τομογραφία θώρακος, κοιλίας και πυέλου θα πρέπει να διενεργείται επί κλινικών ενδείξεων, ενώ κατά άλλους ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Τέλος, οι ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε γαστρεκτομή πρέπει να λαμβάνουν θεραπεία υποκατάστασης για σίδηρο και βιταμίνη B12 [95].

## **ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ**

### **Εισαγωγή**

Η ανοσοϊστοχημεία είναι κλάδος της ιστοπαθολογίας που ασχολείται με την ανίχνευση φυσιολογικών ή παθολογικών συστατικών των κυττάρων και των ιστών μέσω αντισωμάτων εναντίον αντιγόνων-στόχων, τα οποία είναι συνδεδεμένα με ειδικές χρωστικές ουσίες. Τα αντιγόνα-στόχοι μπορεί να είναι προϊόντα κυτταρικής έκκρισης, ένζυμα, κυτταρικοί υποδοχείς (μεμβρανικοί, κυτταροπλασματικοί ή πυρηνικοί), άλλες πρωτεΐνες, αντιγόνα με ιστική ή κυτταρική ειδικότητα, αντιγόνα μικροβίων κ.λπ. Για την ανίχνευση των αντιγόνων-στόχων χρησιμοποιούνται ειδικοί αντιοροί, οι οποίοι είναι ειδικά αντισώματα εναντίον των εκάστοτε αναζητούμενων αντιγόνων. Χρησιμοποιούνται είτε πολυκλωνικά είτε μονοκλωνικά αντισώματα. Τα πολυκλωνικά αντισώματα είναι λιγότερο εξειδικευμένα, γιατί στρέφονται κατά περισσότερων επιτόπων, ενώ τα μονοκλωνικά αντισώματα θεωρούνται περισσότερο εξειδικευμένα, γιατί στρέφονται κατά ενός μόνο επιτόπου, αλλά η διάρκεια ζωής τους είναι μικρότερη αυτής των πολυκλωνικών [97-99].

### **Μέθοδοι ανοσοϊστοχημείας**

Υπάρχουν δύο μεγάλες κατηγορίες μεθόδων ανοσοϊστοχημείας: ο ανοσοφθορισμός και οι ανοσοενζυμικές τεχνικές. Οι ανοσοενζυμικές τεχνικές, οι οποίες εφαρμόζονται και σε τομές κατεψυγμένων ιστών και σε τομές παραφίνης, περιλαμβάνουν τη μέθοδο της ανοσοϋπεροξειδάσης, τη μέθοδο αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης, τη μέθοδο της αλκαλικής φωσφατάσης και τη μέθοδο της οξειδάσης της γλυκόζης [97-99].

Ο ανοσοφθορισμός αποτελεί την πρώτη μέθοδο ανοσοϊστοχημείας που αναπτύχθηκε. Χρησιμοποιείται κυρίως για ανίχνευση ανοσοσφαιρινών, κλασμάτων

του συμπληρώματος και άλλων αντιγόνων. Η τεχνική εφαρμόζεται συνήθως σε ιστούς κατεψυγμένους με υγρό άζωτο, αν και μπορεί να εφαρμοστεί και σε τομές παραφίνης μετά την επεξεργασία τους με ειδικά ένζυμα. Οι τομές του υπό εξέταση ιστού κόβονται με ψυκτικό μικροτόμο, μονιμοποιούνται με ακετόνη και ακολούθως ξεπλένονται με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα. Στη συνέχεια εφαρμόζεται ο ειδικός αντιορός και κατόπιν οι τομές ξεπλένονται και πάλι με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα. Στο τέλος οι τομές επικαλύπτονται με μείγμα γλυκερίνης. Ο ειδικός αντιορός είναι συνδεδεμένος με ισοθιοκυανική φλουροσκεΐνη και όταν αυτός συνδεθεί με το αντίστοιχο αντιγόνο, σχηματίζεται ανοσοσύμπλεγμα που είναι ορατό λόγω του φθορισμού που παράγει η ισοθιοκυανική φλουροσκεΐνη. Ο φθορισμός γίνεται ορατός όταν οι τομές εξετάζονται σε μικροσκόπιο με υπεριώδη ακτινοβολία, η οποία διεγείρει το φθορισμό της ισοθιοκυανικής φλουροσκεΐνης, με αποτέλεσμα να παράγεται κιτρινοπράσινο φως, η ένταση του οποίου βαθμολογείται [97, 99, 100].

Η μέθοδος της ανοσοϋπεροξειδάσης χαρακτηρίζεται από τη σύνδεση των αντισωμάτων με το ένζυμο υπεροξειδάση. Η αναγνώριση του υπό εξέταση αντιγόνου γίνεται με τη χρήση ειδικών χρωμογόνων, τα οποία συνήθως είναι η διαμινοβενζιδίνη και η ερυθροκαρβαζόλη. Η διαμινοβενζιδίνη πολυμερίζεται παρουσία υπεροξειδάσης και υπεροξειδίου του υδρογόνου, σχηματίζοντας ένα αδιάλυτο πολυμερές στις θέσεις όπου υπάρχει σύνδεση του αντιγόνου με το αντίσωμα, το οποίο έχει χρώμα καφέ. Με την προσθήκη αιματοξυλίνης διακρίνεται και η δομή και η μορφολογία των ιστών και των κυττάρων. Η μέθοδος της ανοσοϋπεροξειδάσης περιλαμβάνει τέσσερις υποκατηγορίες: την άμεση μέθοδο, την έμμεση μέθοδο, τη μέθοδο της γέφυρας και τη μέθοδο υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης. Στην άμεση μέθοδο το αντίσωμα είναι απευθείας συνδεδεμένο με την υπεροξειδάση, ενώ στην έμμεση μέθοδο το πρωτογενές αντίσωμα συνδέεται με το αντιγόνο και το δευτερογενές αντίσωμα, το

οποίο είναι συνδεδεμένο με την υπεροξειδάση, συνδέεται με το πρωτογενές αντίσωμα. Στη μέθοδο της γέφυρας, η οποία αποτελεί επέκταση της έμμεσης μεθόδου, παρεμβάλλεται ένα τρίτο μη συνδεδεμένο αντίσωμα μεταξύ πρωτογενούς και δευτερογενούς αντισώματος. Τέλος, στη μέθοδο υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης γίνεται ό,τι και στη μέθοδο της γέφυρας με τη διαφορά ότι η υπεροξειδάση συνδέεται πριν από την εφαρμογή της με το αντίσωμά της, την αντιυπεροξειδάση, σχηματίζοντας ένα κυκλικό σύμπλεγμα [97, 99, 101].

Η μέθοδος αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης είναι ανάλογη της μεθόδου υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης, αλλά πιο ευαίσθητη λόγω της μεγάλης συνάφειας μεταξύ αβιδίνης και βιοτίνης. Η αβιδίνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που εντοπίζεται στο λευκό του αυγού και η βιοτίνη είναι μία βιταμίνη που εντοπίζεται στη λέκιθο του αυγού. Η βιοτίνη συνδέεται με το δευτερογενές αντίσωμα, όπως η υπεροξειδάση. Ακολούθως, η βιοτίνη του δευτερογενούς αντισώματος συνδέεται με την αβιδίνη ενός τρίτου αντιορού που αποτελείται από σύμπλεγμα αβιδίνη-βιοτίνης-υπεροξειδάσης. Εναλλακτικά, αντί για αβιδίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί στρεπταβιδίνη [97, 99, 102]. Αναφορικά με τη μέθοδο της αλκαλικής φωσφατάσης, αυτή είναι παρόμοια με τη μέθοδο υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης ή τη μέθοδο αβιδίνης-βιοτίνης-υπεροξειδάσης. Η βασική διαφορά είναι η αντικατάσταση της υπεροξειδάσης με αλκαλική φωσφατάση και συνεπώς της αντιυπεροξειδάσης με αντιαλκαλική φωσφατάση. Τέλος, η μέθοδος της οξειδάσης της γλυκόζης είναι και αυτή παρόμοια με τη μέθοδο υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης. Η βασική διαφορά είναι η αντικατάσταση της υπεροξειδάσης με οξειδάση της γλυκόζης και συνεπώς της αντιυπεροξειδάσης με αντίσωμα εναντίον της οξειδάσης της γλυκόζης [97, 99].

Όταν υπάρχει ανάγκη ανίχνευσης περισσότερων του ενός αντιγόνων στον ίδιο ιστό ή το ίδιο κύτταρο, χρησιμοποιούνται οι μέθοδοι διπλής ή πολλαπλής χρώσης.



Αυτές διακρίνονται σε διαδοχικές και ταυτόχρονες. Η διαδοχική μέθοδος χρησιμοποιείται όταν τα πρωτογενή αντισώματα προέρχονται από το ίδιο ζωικό είδος και έγκειται στην εφαρμογή της ίδιας ανοσοενζυμικής μεθόδου με διαφορετικό κάθε φορά χρωμογόνο. Η ταυτόχρονη μέθοδος χρησιμοποιείται όταν τα πρωτογενή αντισώματα προέρχονται από διαφορετικά ζωικά είδη και έγκειται στην ταυτόχρονη εφαρμογή ανοσοενζυμικών μεθόδων που χρησιμοποιούν δευτερογενείς αντιορούς με διαφορετικά ένζυμα [97].

### **Εφαρμογές της ανοσοϊστοχημείας στην ογκολογία**

Οι διάφοροι όγκοι μπορεί να παράγουν και να εκκρίνουν ουσίες που να χρησιμεύουν είτε ως διαγνωστικοί είτε ως προγνωστικοί δείκτες. Όσον αφορά τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας για διαγνωστικούς σκοπούς, αυτή βρίσκει εφαρμογή στην ακριβή ταυτοποίηση του είδους του πρωτοπαθούς νεοπλασματος στις περιπτώσεις που η ιστολογική εικόνα του δεν μπορεί να βοηθήσει σε αυτή την κατεύθυνση και στην ταυτοποίηση της προέλευσης των μεταστατικών κακοήθων νεοπλασμάτων αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας. Μερικές ουσίες είναι φυσιολογικά προϊόντα ενός συγκεκριμένου ιστού, ενώ άλλες παράγονται σε λάθος θέση ή/και χρόνο. Το φάσμα των ουσιών που χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικοί δείκτες είναι ευρύ. Παρακάτω αναφέρονται μερικά από τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα αντιγόνα ως δείκτες ταυτοποίησης και τα νεοπλάσματα στα οποία αντιστοιχούν.

- Κερατίνες → καρκίνωμα, μεσοθηλίωμα
- Επιθηλιακό μεμβρανικό αντιγόνο (EMA) → καρκίνωμα
- Κοινό λευκοκυτταρικό αντιγόνο (LCA) → λέμφωμα
- Πρωτεΐνη S-100 → μελάνωμα
- Βιμεντίνη → σάρκωμα

- Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) → αδenoκαρκίνωμα
- Α – εμβρυϊκή πρωτεΐνη (AFP) → ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, εμβρυϊκό καρκίνωμα
- Ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) → αδenoκαρκίνωμα προστάτη
- Ειδική νευρωνική ενολάση (NSE) → νευροενδοκρινής όγκος, μυελοειδές καρκίνωμα θυρεοειδούς, φαιοχρωμοκύττωμα, καρκινοειδές, μικροκροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα
- Χρωμογρανίνη Α → νευροενδοκρινής όγκος
- Δεσμίνη → ραβδομυοσάρκωμα, λειομυοσάρκωμα
- Μυοσφαιρίνη → ραβδομυοσάρκωμα
- Βλεννώδεις γλυκοπρωτεΐνες (π.χ. CA 125, CA 19-9, CA 15-3) → διάφορα καρκινώματα
- Νευροϊνίδια → νευροβλάστωμα
- Όξινη γλοιοϊνιδική πρωτεΐνη → γλοίωμα [103-106].

Σχετικά με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας για τον προσδιορισμό της πρόγνωσης και της απάντησης στη χορηγούμενη θεραπεία των κακοήθων νεοπλασμάτων, πολλές κατηγορίες δεικτών έχουν χρησιμοποιηθεί. Μερικές χαρακτηριστικές κατηγορίες είναι οι παρακάτω.

- Ογκογονίδια [π.χ. *K-ras*, *c-myc*, *c-kit*, *c-erbB2*]
- Ογκοκατασταλτικά γονίδια [π.χ. *p53*, *APC* (adenomatous polyposis coli), *DCC* (deleted in colorectal cancer), *Rb-1* (ρετινοβλάστωμα)]
- Δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού [π.χ. Ki-67]
- Ορμονικοί υποδοχείς [π.χ. οιστρογονικοί υποδοχείς (ER), προγεστερονικοί υποδοχείς (PR)]

- Αυξητικοί παράγοντες [π.χ. επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας – β (TGF-β), αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF), προερχόμενος από αιμοπετάλια αυξητικός παράγοντας (PDGF)]
- Δείκτες αγγειογένεσης, διήθησης, μετάστασης [π.χ. αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF), μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας – β (TGF-β)] [107-109].

# ΟΙ ΚΙΣΣΠΕΠΤΙΝΕΣ (KISSPERTINS) ΚΑΙ Ο ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΤΟΥΣ

## Εισαγωγή

Οι κισσπεπτίνες (kisspeptins) είναι πρωτεΐνες που αποτελούν προϊόντα του γονιδίου *KISS1* [(kisspeptin-54 (KP-54), kisspeptin-14 (KP-14), kisspeptin-13 (KP-13), kisspeptin-10 (KP-10)] και αγωνιστές του υποδοχέα G-protein coupled receptor-54 (GPR54) ή αλλιώς KISS1R [110-120]. Οι κισσπεπτίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε ό,τι αφορά την έναρξη της εφηβείας, τη ρύθμιση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες και το σχηματισμό του πλακούντα [110, 115-119]. Επίσης, εμπλέκονται στη ρύθμιση διαφόρων μηχανισμών σχετικών με την καρκινογένεση και τη μετάσταση, κυρίως όσον αφορά την καταστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων στις μεταστατικές εστίες [110-114, 119, 120].

## Γονίδια, πρωτεΐνες και μοριακοί μηχανισμοί

Το γονίδιο *KISS1* εδράζεται στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 1 και συγκεκριμένα στη θέση 1q32.1 [110, 111, 113, 118-120]. Περιλαμβάνει τέσσερα εξόνια και τρία εσόνια [118, 120] και παράγει μία πρόδρομη πρωτεΐνη που αποτελείται από 145 αμινοξέα και χαρακτηρίζεται ως πρωτεΐνη KISS1 ή προκισσπεπτίνη (pro-kisspeptin) [110, 112-114, 116, 118-120]. Η πρόδρομη αυτή πρωτεΐνη υφίσταται πρωτεολυτική διάσπαση από προ-πρωτεϊνικές κονβερτάσες (proprotein convertases), οι οποίες είναι φουρίνες (furins) ή προ-ορμονικές κονβερτάσες (prohormone convertases), σε δύο διβασικές θέσεις (R<sup>66</sup>-R και K<sup>123</sup>-R) [110, 111, 119]. Η διάσπαση αυτή οδηγεί στο σχηματισμό της πρωτεΐνης KP-54, η οποία αποτελείται από 54 αμινοξέα, ονομάζεται αλλιώς και μεταστίνη

(metastin) και είναι το δραστικό προϊόν της έκφρασης του γονιδίου *KISS1*. Περαιτέρω διάσπαση της πρωτεΐνης KP-54 και αφαίρεση άλλοτε άλλου μήκους τμήματος από το αμινοτελικό άκρο της, έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό άλλων τριών πρωτεϊνών που αποτελούν στην ουσία το καρβοξυτελικό άκρο της KP-54. Με αυτόν τον τρόπο σχηματίζονται οι πρωτεΐνες KP-14 (μήκους 14 αμινοξέων), KP-13 (μήκους 13 αμινοξέων) και KP-10 (μήκους 10 αμινοξέων) [110-115, 117-120]. Οι κισσπεπτίνες παράγονται σε αρκετούς ιστούς, με τα υψηλότερα επίπεδα να απαντώνται στον πλακούντα, το πάγκρεας, το ήπαρ, το νεφρό, το λεπτό έντερο, τον όρχι και τον τοξοειδή και τον περικοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου [110, 111, 113-119].

Ο υποδοχέας των κισσπεπτινών είναι η πρωτεΐνη KISS1R (KISS1 receptor), η οποία έχει τις εναλλακτικές ονομασίες GPR54 (G protein-coupled receptor 54), AXOR12 και hOT7T175 [110-120]. Αποτελεί μία πρωτεΐνη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης με επτά διαμεμβρανικά τμήματα [119] συνδεδεμένη με πρωτεΐνη G, μέλος της υποοικογένειας των συνδεδεμένων με Gαq/11 υποδοχέων [110, 112-115, 119]. Το γονίδιο του υποδοχέα εδράζεται στο βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 19 και συγκεκριμένα στη θέση 19p13.3. Περιλαμβάνει πέντε εξόνια και τέσσερα εσόνια και παράγει μία πρωτεΐνη που αποτελείται από 398 αμινοξέα [113, 118, 119]. Ο υποδοχέας KISS1R παράγεται σε αρκετούς ιστούς, με τα υψηλότερα επίπεδα να απαντώνται στον πλακούντα, το πάγκρεας, το ήπαρ, το νεφρό, την καρδιά, τους σκελετικούς μυς, τον όρχι, το νωτιαίο μυελό και σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου (θάλαμος, υπόφυση, στέλεχος, κέλυφος, παρεγκεφαλίδα, φλοιός) [110, 111, 113, 114, 117, 119].

Αρκετά δεδομένα έχουν συσσωρευτεί σε ό,τι αφορά τους μοριακούς μηχανισμούς στους οποίους εμπλέκονται οι κισσπεπτίνες. Όπως έχει βρεθεί από

έρευνες σε καρκινικές κυτταρικές σειρές μελανώματος, η πρωτεΐνη CRSP3, που αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα, αυξάνει την έκφραση της πρωτεΐνης TXNIP (thioredoxin-interacting protein), η οποία με τη σειρά της αυξάνει την έκφραση της KISS1 [110, 111, 113, 120]. Οι κισσπεπτίνες με τη σειρά τους συνδέονται με τον υποδοχέα τους, KISS1R, προκαλώντας την ενεργοποίησή του. Η σύνδεση του KISS1R με κάποια από τις κισσπεπτίνες προκαλεί την ενεργοποίηση της συνδεδεμένης με αυτόν πρωτεΐνης Gαq/11, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την φωσφολιπάση C [110, 112-115, 119]. Η φωσφολιπάση C καταλύει τη διάσπαση της διφωσφολιπιδικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης της κυτταρικής μεμβράνης σε διακυλογλυκερόλη και τριφωσφορική ινοσιτόλη, οι οποίες ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση C, άμεσα στην περίπτωση της διακυλογλυκερόλης και έμμεσα στην περίπτωση της τριφωσφορικής ινοσιτόλης μέσω της κινητοποίησης ιόντων ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το κυτταρόπλασμα [110, 111, 113-115, 118-120]. Πέραν της πρωτεϊνικής κινάσης C, επιπλέον μοριακές οδοί ενεργοποιούνται, όπως οι κινάσες ERK 1 και ERK 2 (extracellular signal-regulated kinases), μέσω εξαρτημένων και ανεξάρτητων από G πρωτεΐνες μηχανισμών, η κινάση p38, άλλες κινάσες MAPK (mitogen-activated protein kinases), το μονοπάτι PI3K/Akt (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase / protein kinase B) και η οδός του αραχιδονικού οξέος [110, 111, 113-115, 119, 120].

### **Ο ρόλος των κισσπεπτινών στο αναπαραγωγικό σύστημα και την έναρξη της εφηβείας**

Οι κισσπεπτίνες διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στην έναρξη της εφηβείας. Καθώς το παιδί πλησιάζει την έναρξη της εφηβείας, οι νευρώνες του υποθαλάμου

που παράγουν κισσπεπτίνες αυξάνουν την έκφρασή τους, οδηγώντας στη μεγαλύτερη ενεργοποίηση του *KISS1R*. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της έκκρισης γοναδοεκλυτίνης (GnRH) από τους νευρώνες του υποθαλάμου, που με τη σειρά της οδηγεί στην αυξημένη έκκριση της ωοθυλακιοτρόπου (FSH) και της ωχρινοτρόπου (LH) ορμόνης από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Με αυτόν τον τρόπο ενεργοποιούνται οι γονάδες να παράγουν μεγάλες ποσότητες ορμονών του φύλου (τεστοστερόνη στα αγόρια και οιστρογόνα και προγεστερόνη στα κορίτσια) και το παιδί εισέρχεται στην εφηβεία [110, 115-119]. Επίσης, η έκκριση των κισσπεπτινών υπόκειται και σε μηχανισμούς αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης, καθώς τα οιστρογόνα, η προγεστερόνη και η προλακτίνη αναστέλλουν την έκκρισή τους. Ωστόσο, ο ρόλος των κισσπεπτινών δεν περιορίζεται μόνο στην έναρξη της εφηβείας, αλλά συνεχίζουν να διαδραματίζουν κομβικό ρόλο στον έλεγχο της ορμονικής λειτουργίας του αναπαραγωγικού συστήματος και κατά την ενήλικη ζωή [115-118].

Παραδείγματα της σημασίας των κισσπεπτινών στον έλεγχο των ορμονών του αναπαραγωγικού συστήματος έρχονται από αρκετές κλινικές και πειραματικές περιπτώσεις. Έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις υπογοναδοτροπικού υπογοναδισμού, κατά τις οποίες οι ασθενείς δεν εισέρχονται στην εφηβεία, που έχουν ως γενετικό υπόβαθρο απενεργοποιητικές μεταλλάξεις των γονιδίων *KISS1* ή *KISS1R*. Αντιθέτως, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις παιδιών με πρόιμη έναρξη της ήβης που οφείλεται σε ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του *KISS1R*. Αναφορικά με τη φαρμακευτική χρήση των κισσπεπτινών, έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγησή τους σε ζώα, αλλά και σε υγιείς άνδρες και προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες, καθώς και σε ασθενείς με λειτουργική υποθαλαμική αμηνόρροια, προκαλεί την αύξηση των επιπέδων της FSH, της LH και των ορμονών του φύλου [110, 115-119].

Επιπλέον, οι κισσπεπτίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στην εγκυμοσύνη. Συγκεκριμένα, κατά το σχηματισμό του πλακούντα, οι κισσπεπτίνες ελέγχουν τη διήθηση του ενδομητρίου από την τροφοβλάστη περιορίζοντάς την. Επίσης, ο πλακούντας, και ειδικότερα τα κύτταρα της συγκυτιοτροφοβλάστης, παράγει κισσπεπτίνες καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης, με τη μεγαλύτερη παραγωγή κατά το πρώτο τρίμηνο, προκαλώντας μεγάλη αύξηση των επιπέδων τους στο αίμα της εγκύου, τα οποία επανέρχονται σχεδόν στις φυσιολογικές τιμές την πέμπτη ημέρα μετά τον τοκετό [110, 119, 120].

### **Ο ρόλος των κισσπεπτινών στον καρκίνο**

Οι κισσπεπτίνες αναστέλλουν το τελευταίο στάδιο στη διαδικασία της μετάστασης, το οποίο αφορά στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και την ανάπτυξή τους στις μεταστατικές εστίες μετά τον ενοφθαλμισμό τους στις απομακρυσμένες αυτές θέσεις [111, 112, 120]. Μέσω της δράσης των κισσπεπτινών τα καρκινικά κύτταρα καθίστανται αδρανή, αποτρέποντας έτσι την ανάπτυξη των μεταστάσεων [110-114, 119, 120]. Πέραν αυτής της δράσης, έχει βρεθεί ότι οι κισσπεπτίνες αναστέλλουν τη διήθηση των γειτονικών ιστών από τα καρκινικά κύτταρα, τη μετανάστευσή τους και τον πολλαπλασιασμό τους. Επίσης, καταστέλλουν την αγγειογένεση των όγκων και επάγουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Συνεπώς, οι κισσπεπτίνες ασκούν ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη των κακοήθων νεοπλασμάτων σε διάφορα επίπεδα, τα οποία αποτελούν κομβικά σημεία στη διαδικασία της καρκινογένεσης και της ανάπτυξης και επέκτασης του καρκίνου [110-114, 119, 120].

Αρκετές έρευνες έχουν διεξαχθεί σχετικά με το ρόλο των κισσπεπτινών και του υποδοχέα τους σε διάφορα είδη καρκίνων χρησιμοποιώντας καρκινικές



κυτταρικές σειρές, πειραματόζωα, αλλά και δείγματα αίματος και ιστών από ασθενείς ανθρώπους. Μερικά παραδείγματα είναι το μελάνωμα, από το οποίο ξεκίνησε και η έρευνα για τις κισσπεπτίνες, το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, οι καρκίνοι οισοφάγου, στομάχου, παχέος εντέρου, παγκρέατος, θυρεοειδούς, πνεύμονα, ουροδόχου κύστεως, μαστού, ωοθηκών, ενδομητρίου, το οστεοσάρκωμα, το φαιοχρωμοκύττωμα και το χοριοκαρκίνωμα. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα ευρήματα συμφωνούν με τον ανασταλτικό ρόλο των κισσπεπτινών αναφορικά με την ανάπτυξη των καρκίνων. Ωστόσο, μερικές φορές τα ευρήματα δεν συνάδουν με αυτόν [110-114, 119, 120].

Μερικά παραδείγματα ερευνών σε κακοήγη νεοπλάσματα είναι τα παρακάτω. Στο μελάνωμα μειώνεται η έκφραση της *KISS1* στους όγκους μεγαλύτερης διαμέτρου και στις μεταστατικές εστίες [121]. Στον καρκίνο μαστού το mRNA του *KISS1* είναι μειωμένο στους όγκους σταδίου II ή III με λεμφαδενικές μεταστάσεις [122] και στις εγκεφαλικές μεταστάσεις [123]. Ωστόσο, σε άλλες μελέτες έχει παρατηρηθεί αυξημένη ποσότητα του mRNA του *KISS1* σε όγκους με λεμφαδενικές μεταστάσεις [124], ενώ η αυξημένη έκφραση των γονιδίων της *KISS1* και του *KISS1R* έχει συσχετιστεί με ελαττωμένο διάστημα ελεύθερο νόσου [125]. Στον καρκίνο ωοθηκών τα ελαττωμένα επίπεδα των κισσπεπτινών και του *KISS1R* στον όγκο έχουν συσχετιστεί με χειρότερη πρόγνωση [126, 127], όπως επίσης στον καρκίνο ενδομητρίου μειωμένη έκφραση της *KISS1* έχει παρατηρηθεί στα πιο επιθετικά νεοπλάσματα [128]. Στο καρκίνωμα οισοφάγου εκ πλακωδών κυττάρων η απώλεια της έκφρασης των *KISS1* και *KISS1R* έχει συνδεθεί με αυξημένη πιθανότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων [129]. Στον καρκίνο στομάχου η ελαττωμένη έκφραση της *KISS1* έχει συνδεθεί με την παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων και μειωμένης επιβίωσης [130], ενώ οι

διηθημένοι λεμφαδένες και οι ηπατικές μεταστάσεις έχουν μειωμένα επίπεδα της *KISS1* σε σύγκριση με τις πρωτοπαθείς εστίες [131]. Στον καρκίνο παγκρέατος έχει παρατηρηθεί ελαττωμένη έκφραση του *KISS1*, αλλά αυξημένη έκφραση του *KISS1R*, στους κακοήθεις σε σχέση με τους φυσιολογικούς παγκρεατικούς ιστούς [132], ενώ οι όγκοι που δεν εκφράζουν KP-54 και *KISS1R* είναι μεγαλύτεροι σε μέγεθος συγκριτικά με αυτούς που τα εκφράζουν [133]. Αντιθέτως, η υπερέκφραση των *KISS1* και *KISS1R* έχει συσχετιστεί με χειρότερη πρόγνωση στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [134, 135]. Σε ό,τι αφορά τον καρκίνο ουροδόχου κύστεως, έχει παρατηρηθεί ότι η έκφραση της *KISS1* είναι υψηλή στο φυσιολογικό ουροθήλιο και τους επιφανειακούς όγκους, ενώ είναι χαμηλή στους διηθητικούς όγκους και τους όγκους με μεταστάσεις. Επιπλέον, τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της *KISS1* έχουν συνδεθεί με μεγαλύτερη επιβίωση [136]. Αντιθέτως, έχουν υπάρξει και αντίθετα ευρήματα, τα οποία υποστηρίζουν τα επίπεδα του mRNA των *KISS1* και *KISS1R* είναι αυξημένα στον καρκίνο ουροδόχου κύστεως συγκριτικά με το φυσιολογικό ουροθήλιο [137]. Τέλος, όσον αφορά τον καρκίνο θυρεοειδούς, τα mRNA των *KISS1* και *KISS1R* ανιχνεύονται συχνότερα στα θηλώδη καρκινώματα συγκριτικά με τα θυλακιώδη καρκινώματα [138].

Πέραν αυτών, υπάρχουν ενδείξεις ότι σε ορισμένα είδη καρκίνων η οδός του *KISS1/KISS1R* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της νεοπλασματικής νόσου, οπότε και τα επίπεδα των *KISS1* και *KISS1R* αυξάνονται σε σχέση με τους αντίστοιχους φυσιολογικούς ιστούς, ενώ στα προχωρημένα στάδια και όταν αναπτύσσονται μεταστάσεις, τα επίπεδά τους ελαττώνονται [112]. Ένα παράδειγμα αυτού του προτύπου έκφρασης είναι τα προαναφερθέντα ευρήματα για τον καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Η έκφραση της *KISS1* είναι μεγαλύτερη στους καρκινικούς ιστούς από τους φυσιολογικούς ιστούς, ενώ είναι

μικρότερη στα προχωρημένα στάδια σε σύγκριση με τα πρώιμα στάδια [136, 137]. Ένα άλλο παράδειγμα συμβολής της οδού του KISS1/KISS1R στην καρκινογένεση αποτελούν ευρήματα από μελέτες σε ποντίκια που δείχνουν ότι η ενεργοποίησή της είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη καρκίνου μαστού [139]. Παρόλα αυτά, σε άλλες έρευνες ανευρίσκεται ελαττωμένη έκφραση της KISS1 στους προχωρημένους καρκίνους μαστού σε σχέση με τους πρώιμους [122, 123]. Τέλος, η παρατηρηθείσα μείωση ή αναστολή της ανάπτυξης διαφόρων κακοήθων όγκων μετά την εξωγενή χορήγηση κισσπεπτινών πιθανώς υποδηλώνει ότι η πλεονάζουσα ενεργοποίηση της οδού του KISS1/KISS1R αποκλείει τη σηματοδότηση προς την ανάπτυξη του καρκίνου [112].

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι κισσπεπτίνες (kisspeptins) είναι πεπτίδια παραγόμενα από την πρωτεολυτική διάσπαση μίας πρόιμης πρωτεΐνης αποτελούμενης από 145 αμινοξέα, η οποία αποτελεί προϊόν του γονιδίου *KISS1* [110, 112-114, 116, 118-120]. Η οικογένεια των κισσπεπτινών (kisspeptins) απαρτίζεται από τα εξής πεπτίδια: kisspeptin-54 (KP-54) (ή μεταστίνη (metastin)), kisspeptin-14 (KP-14), kisspeptin-13 (KP-13) και kisspeptin-10 (KP-10) [110-120]. Ο υποδοχέας τους είναι ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας συνδεδεμένος με πρωτεΐνη G, μέλος της υποοικογένειας των συνδεδεμένων με Gαq/11 υποδοχέων, και είναι γνωστός με τις ονομασίες KISS1R (KISS1 receptor), GPR54 (G protein-coupled receptor 54), AXOR12 και hOT7T175 [110, 112-115, 119]. Οι κισσπεπτίνες εμπλέκονται στη ρύθμιση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων, διεγείροντας την έκκριση της γοναδοεκλυτικής (gonadotropin-releasing hormone (GnRH)) και προκαλώντας της έναρξη της εφηβείας [110, 115-119], ενώ συμμετέχουν και στη διήθηση της τροφοβλάστης στο ενδομήτριο κατά το σχηματισμό του πλακούντα στην κύηση [110, 119, 120]. Επιπλέον, οι κισσπεπτίνες καταστέλλουν το μεταστατικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων, αναστέλλουν τη μετανάστευσή τους, την ανάπτυξη των μεταστάσεων και τη διήθηση των γειτονικών ιστών, καταστέλλουν την αγγειογένεση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγουν την κυτταρική απόπτωση [110-114, 119, 120].

Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί όσον αφορά το ρόλο των κισσπεπτινών σε διάφορα είδη καρκίνων, όπως το μελάνωμα, ο καρκίνος μαστού, ωοθηκών, ενδομητρίου, θυρεοειδούς, οισοφάγου, ήπατος, παγκρέατος, ουροδόχου κύστεως, πνεύμονα, το οστεοσάρκωμα, το φαιοχρωμοκύττωμα και το χοριοκαρκίνωμα. Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι η έκφραση του γονιδίου *KISS1* είναι ελαττωμένη στους καρκινικούς ιστούς σε σύγκριση με τους αντίστοιχους φυσιολογικούς και ότι τα

επίπεδα των κισσπεπτινών μειώνονται σε προχωρημένα στάδια των κακοήθων νόσων, ενώ άλλες έρευνες έχουν δείξει αντίθετα αποτελέσματα [110-114, 119, 120]. Ωστόσο, λίγες μελέτες έχουν διεξαχθεί σε ό,τι αφορά το ρόλο των κισσπεπτινών στον καρκίνο του παχέος εντέρου και στον καρκίνο του στομάχου. Στην παρούσα έρευνα αναλύσαμε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας την έκφραση της πρόδρομης των κισσπεπτινών πρωτεΐνης (KISS1) και του υποδοχέα αυτών (KISS1R) σε αυτές τις δύο κακοήθεις νόσους.

## ΜΕΘΟΔΟΙ

### Ασθενείς και δείγματα ιστών

Συμπεριελήφθησαν στην παρούσα μελέτη συνολικά 151 ασθενείς. Οι 111 ασθενείς έπασχαν από αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου (68 άνδρες και 43 γυναίκες, μέση ηλικία: 70,9 έτη, εύρος ηλικίας: 42-90 έτη) και υπεβλήθησαν σε πλήρη εκτομή του πρωτοπαθούς όγκου στη Β΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό» στο χρονικό διάστημα μεταξύ Σεπτεμβρίου 2008 και Μαρτίου 2011. Οι υπόλοιποι 40 ασθενείς έπασχαν από αδενοκαρκίνωμα στομάχου (22 άνδρες και 18 γυναίκες, μέση ηλικία: 64,4 έτη, εύρος ηλικίας: 32-85 έτη) και υπεβλήθησαν σε πλήρη εκτομή του πρωτοπαθούς όγκου στην ίδια κλινική στο χρονικό διάστημα μεταξύ Ιανουαρίου 2007 και Σεπτεμβρίου 2011. Τα δεδομένα σχετικά με την ειδική για τη νόσο επιβίωση και την επιβίωση χωρίς υποτροπή, δηλαδή το διάστημα μέχρι την εμφάνιση της πρώτης υποτροπής της νόσου, συγκεντρώθηκαν για τους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου αναδρομικά το Δεκέμβριο 2012 (μέση διάρκεια παρακολούθησης: 29,3 μήνες, εύρος διάρκειας παρακολούθησης: 0-51 μήνες). Αποκλείστηκαν από την παρούσα μελέτη οι ασθενείς που είχαν άλλο ιστολογικό τύπο κακοήθους νόσου πέραν του αδενοκαρκινώματος ή ιστορικό της ίδιας ή άλλης κακοήθους νόσου κατά το παρελθόν ή είχαν λάβει προεγχειρητική χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία.

Δύο μπλοκ παραφίνης μονιμοποιημένα με φορμαλίνη ελήφθησαν για κάθε ασθενή από το αρχείο του Α΄ Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο οποίο εξετάζονται και φυλάσσονται τα δείγματα ιστών προερχόμενα από το Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό» προς ιστολογική εξέταση. Το ένα μπλοκ παραφίνης περιείχε δείγμα ιστού από το αδενοκαρκίνωμα του ασθενούς και το άλλο

μπλοκ παραφίνης περιείχε δείγμα από παρακείμενο, αλλά όχι στα όρια με το παθολογικό, φυσιολογικό τμήμα του παχέος εντέρου ή του στομάχου του ασθενούς, αναλόγως εάν επρόκειτο για καρκίνο παχέος εντέρου ή στομάχου, αντιστοίχως. Επίσης, υπήρχαν και τέσσερις περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου με σύγχρονες ηπατικές μεταστάσεις που συνεξαιρέθηκαν με τον πρωτοπαθή όγκο, από τις οποίες ελήφθησαν δύο μπλοκ παραφίνης επιπλέον, ένα με δείγμα ιστού από την ηπατική μετάσταση και ένα με δείγμα ιστού από το παρακείμενο φυσιολογικό ήπαρ. Τομές κόπηκαν από κάθε μπλοκ παραφίνης και επεξεργάστηκαν για συνήθη ιστολογική εξέταση με χρώσεις αιματοξυλίνης και ηωσίνης, καθώς και για ανοσοϊστοχημικό έλεγχο. Τα κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization (WHO)) χρησιμοποιήθηκαν για την ταξινόμηση του ιστολογικού τύπου των κακοήθων νεοπλασμάτων [140, 141] και η έβδομη έκδοση της ταξινόμησης των κακοήθων όγκων κατά TNM σύμφωνα με τη Διεθνή Ένωση Κατά του Καρκίνου (International Union Against Cancer (UICC)) και την Αμερικανική Μεικτή Επιτροπή για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer (AJCC)) χρησιμοποιήθηκε για τη σταδιοποίηση των κακοήθων νεοπλασμάτων [51, 96].

Τα κλινικά και παθολογοανατομικά δεδομένα των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου σημειώνονται στον Πίνακα 1 και των ασθενών με καρκίνο στομάχου σημειώνονται στον Πίνακα 2. Η έρευνά μας εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Λαϊκό» (αριθμός πρωτοκόλλου: ΕΣ 344, ημερομηνία: 11 Ιουνίου 2010) και συμβαδίζει με τις οδηγίες της Διακήρυξης του Ελσίνκι του 1975, όπως αυτή αναθεωρήθηκε το 2008.



<b>Πίνακας 1. Κλινικά και παθολογοανατομικά δεδομένα ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου (N=111)</b>	
<b>Παράμετρος</b>	<b>Αριθμός</b>
<b>Φύλο</b>	
Ανδρες	68
Γυναίκες	43
<b>Ηλικία</b>	
<70	49
≥70	62
<b>Τμήμα παχέος εντέρου</b>	
Αριστερό	79
Δεξιό	32
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	
<4 cm	50
≥4 cm	61
<b>Στάδιο</b>	
0	6
I	20
II	29
III	39
IV	17
<b>T</b>	
T0	6
T1	8

T2	23
T3	59
T4	15
<b>N</b>	
N0	59
N1	24
N2	28
<b>M</b>	
M0	94
M1	17
<b>Βαθμός κακοήθειας</b>	
Χαμηλή κακοήθεια	82
Υψηλή κακοήθεια	29
<b>Βλενώδες αδenoκαρκίνωμα</b>	
Ναι	9
Όχι	102
<b>Αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση</b>	
Ναι	28
Όχι	83
<b>Περινευρική διήθηση</b>	
Ναι	9
Όχι	102

T: έκταση διήθησης πρωτοπαθούς όγκου, N: βαθμός διήθησης επιχώριων λεμφαδένων, M: παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

<b>Πίνακας 2. Κλινικά και παθολογοανατομικά δεδομένα ασθενών με καρκίνο στομάχου (N=40)</b>	
<b>Παράμετρος</b>	<b>Αριθμός</b>
<b>Φύλο</b>	
Ανδρες	22
Γυναίκες	18
<b>Ηλικία</b>	
<70	23
≥70	17
<b>Μέγιστη διάμετρος όγκου</b>	
<4 cm	19
≥4 cm	21
<b>Στάδιο</b>	
I	8
II	10
III	16
IV	6
<b>T</b>	
T1	4
T2	6
T3	17
T4	13
<b>N</b>	
N0	13

N1	9
N2	5
N3	13
<b>M</b>	
M0	34
M1	6
<b>Βαθμός κακοήθειας</b>	
Χαμηλή κακοήθεια	16
Υψηλή κακοήθεια	24
<b>Ταξινόμηση κατά Lauren</b>	
Εντερικός τύπος	23
Διάχυτος τύπος	17
<b>Αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση</b>	
Ναι	19
Όχι	21
<b>Περινευρική διήθηση</b>	
Ναι	8
Όχι	32

T: έκταση διήθησης πρωτοπαθούς όγκου, N: βαθμός διήθησης επιχώριων λεμφαδένων, M: παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

## Ανοσοϊστοχημεία

Όλα τα μπλοκ παραφίνης προήλθαν από χειρουργικά παρασκευάσματα που είχαν μονιμοποιηθεί με διάλυμα φορμαλίνης σε συγκέντρωση 10% αμέσως μετά την εκτομή τους. Όλα τα δείγματα ιστών είχαν επεξεργαστεί χρησιμοποιώντας διαβαθμισμένα διαλύματα αλκοολών, ξυλενίου και παραφίνης, διαδοχικά, εντός 24 ωρών. Τομές πάχους 4  $\mu\text{m}$  κόπηκαν από τα μπλοκ παραφίνης μονιμοποιημένα με φορμαλίνη. Η παραφίνη αφαιρέθηκε με τη χρήση ξυλενίου και οι ιστοί επανυδατώθηκαν με τη χρήση διαβαθμισμένων διαλυμάτων αλκοολών. Ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος με pH 6 προστέθηκε στις τομές για 30 λεπτά στους 96 °C σε φούρνο μικροκυμάτων με σκοπό την ανάκτηση αντιγόνων. Ακολούθως, στις τομές προστέθηκε διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου σε συγκέντρωση 3% για 5 λεπτά. Κατόπιν προστέθηκε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος που περιλαμβάνει καζεΐνη σε συγκέντρωση 0,25%, σταθεροποιητική πρωτεΐνη και αζίδιο του νατρίου σε συγκέντρωση 0,015 mol/L για 30 λεπτά με σκοπό την αναστολή της μη ειδικής χρώσης (EnVision, Dako, Glostrup, Δανία). Ακολούθησε επώαση των τομών στους 4 °C κατά τη διάρκεια της νύκτας με πολυκλωνικό αντίσωμα κονίκλου εναντίον της ανθρώπινης πρωτεΐνης KISS1 (SC-15400, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) ή με πολυκλωνικό αντίσωμα αίγας εναντίον της ανθρώπινης πρωτεΐνης KISS1R (SC-48220, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, Καλιφόρνια, ΗΠΑ), αναλόγως της υπό εξέταση πρωτεΐνης, διαλυμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος σε αραιώση 1:100. Την επόμενη ημέρα προστέθηκαν στις τομές σταγόνες βιοτινυλιωμένου αντισώματος εναντίον των αντισωμάτων κονίκλου ή αίγας, αναλόγως του είδους του πρωτογενούς αντισώματος, διαλυμένου σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος, σταγόνες στρεπταβιδίνης συνδεδεμένης με υπεροξειδάση και διαλυμένης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος και

σταγόνες διαλύματος χρωμογόνου (3,3' διαμινοβενζιδίνη (DAB)) για 30 λεπτά το καθένα διαδοχικά (EnVision, Dako, Glostrup, Δανία). Κατόπιν προστέθηκε αιματοξυλίνη για 5 λεπτά στις τομές, οι οποίες εμβαπτίστηκαν 10 φορές σε υδατόλουτρο. Όλα τα προαναφερθέντα βήματα ακολουθήθηκαν από ξέπλυμα των τομών με διάλυμα πλύσης. Τέλος, οι τομές καλύφθηκαν με υδατώδες υλικό. Ιστός από ανθρώπινο πλακούντα χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας και η παράλειψη του πρωτογενούς αντισώματος χρησιμοποιήθηκε ως αρνητικός μάρτυρας.

### **Ανάλυση εικόνας**

Η ανάλυση εικόνας έγινε εντός ενός μηνός από την ανοσοϊστοχημεία. Τέσσερα έως έξι αντιπροσωπευτικά οπτικά πεδία βλεννογόνου παχέος εντέρου ή στομάχου από κάθε τομή, αναλόγως του τύπου του υπό μελέτη καρκίνου, είτε φυσιολογικού είτε καρκινικού, επιλέχθηκαν και φωτογραφήθηκαν σε μεγέθυνση 400X χρησιμοποιώντας ψηφιακή κάμερα (Nikon DS-2MW, Nikon, Τόκιο, Ιαπωνία) προσαρμοσμένη σε οπτικό μικροσκόπιο (Nikon Eclipse 80i, Nikon, Τόκιο, Ιαπωνία). Η ανάλυση των εικόνων, οι οποίες αποθηκεύτηκαν με τη μορφή αρχείων JPEG, έγινε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Image Pro Plus 5.1 (Media Cybernetics, Bethesda, Μέριλαντ, ΗΠΑ). Η έκφραση της KISS1 και του KISS1R αντιπροσωπεύτηκε από την καφέ χρώση DAB, η οποία θεωρήθηκε ως θετική, ενώ η μπλε χρώση της αιματοξυλίνης θεωρήθηκε αρνητική. Όλες οι τομές του φυσιολογικού βλεννογόνου του παχέος εντέρου και του στομάχου ανέδειξαν ομοιογενή ένταση της χρώσης DAB. Αναφορικά με τους καρκινικούς ιστούς, είτε από παχύ έντερο είτε από στόμαχο, άλλες τομές είχαν ομοιογενή ή σχετικά ομοιογενή ένταση της χρώσης DAB, ενώ άλλες τομές είχαν ανομοιογενή ένταση της χρώσης DAB. Στις περιπτώσεις με ομοιογενή χρώση επιλέχθηκαν 4 αντιπροσωπευτικά οπτικά πεδία, ενώ στις

περιπτώσεις με ανομοιογενή χρώση επιλέχθηκαν 6 αντιπροσωπευτικά οπτικά πεδία. Δύο παράμετροι ελήφθησαν υπόψη για κάθε τομή: η μέση ένταση της καφέ χρώσης (μετρημένη σε γραμμική κλίμακα από το 0 (που αντιπροσωπεύει το μαύρο) μέχρι το 255 (που αντιπροσωπεύει το λευκό)) και το μέσο ποσοστό της έκτασης της καφέ χρώσης. Οι μέσες αυτές τιμές για την κάθε τομή προήλθαν από το συνυπολογισμό των μετρήσεων των αντιπροσωπευτικών οπτικών πεδίων για κάθε τομή. Αυτές οι παράμετροι συνδυάστηκαν στην εξής εξίσωση:

Έκφραση πρωτεΐνης =  $(255 - \text{μέση ένταση καφέ χρώσης}) \times \text{μέσο ποσοστό έκτασης καφέ χρώσης}$ .

### **Στατιστική ανάλυση**

Η αξιολόγηση της κανονικής ή μη κατανομής των τιμών των διαφόρων ομάδων έγινε με το τεστ Shapiro-Wilk. Το τεστ T ή το τεστ Mann-Whitney U χρησιμοποιήθηκε για τις συγκρίσεις μεταξύ δύο ομάδων με ποσοτικές παραμέτρους όταν οι τιμές τους ακολουθούσαν την κανονική κατανομή ή όχι, αντιστοίχως. Οι συγκρίσεις ανάμεσα σε τρεις ή περισσότερες ομάδες με ποσοτικές παραμέτρους έγιναν με τη χρήση ανάλυσης διακύμανσης (analysis of variance (ANOVA)) σε συνδυασμό με τη διόρθωση κατά Bonferroni. Οι συσχετίσεις μεταξύ δύο ποσοτικών παραμέτρων εκτιμήθηκαν με το συντελεστή γραμμικής συσχέτισης του Spearman (Spearman's rank correlation coefficient).

Επίσης, οι ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου για τους οποίους υπήρχαν δεδομένα μετεγχειρητικής παρακολούθησης χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες βάσει των επιπέδων της KISS1 στον καρκινικό ιστό, αλλά και βάσει της διαφοράς τους από τα επίπεδα της KISS1 στον αντίστοιχο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου για την εκτίμηση της ειδικής για τη νόσο επιβίωσης και της επιβίωσης χωρίς

υποτροπή (ομάδα 1:  $\leq 25^\circ$  εκατοστημόριο, ομάδα 2:  $>25^\circ$  εκατοστημόριο και  $\leq 50^\circ$  εκατοστημόριο, ομάδα 3:  $>50^\circ$  εκατοστημόριο και  $\leq 75^\circ$  εκατοστημόριο, ομάδα 4:  $>75^\circ$  εκατοστημόριο). Η μέθοδος Kaplan-Meier χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ειδικής για τη νόσο επιβίωσης και της επιβίωσης χωρίς υποτροπή και για τις συγκρίσεις μεταξύ ομάδων βάσει της έκφρασης της KISS1 και διαφόρων κλινικών και παθολογοανατομικών παραμέτρων. Η παλινδρόμηση Cox (Cox regression) με τη μέθοδο προς τα εμπρός υπό όρους (forward conditional) χρησιμοποιήθηκε για την πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης, η οποία περιελάμβανε την έκφραση της KISS1 και διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους.

Όλα τα τεστ ήταν διπλής κατεύθυνσης (two-tailed). Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά εάν η τιμή p ήταν μικρότερη από 0,05 ( $p < 0,05$ ).

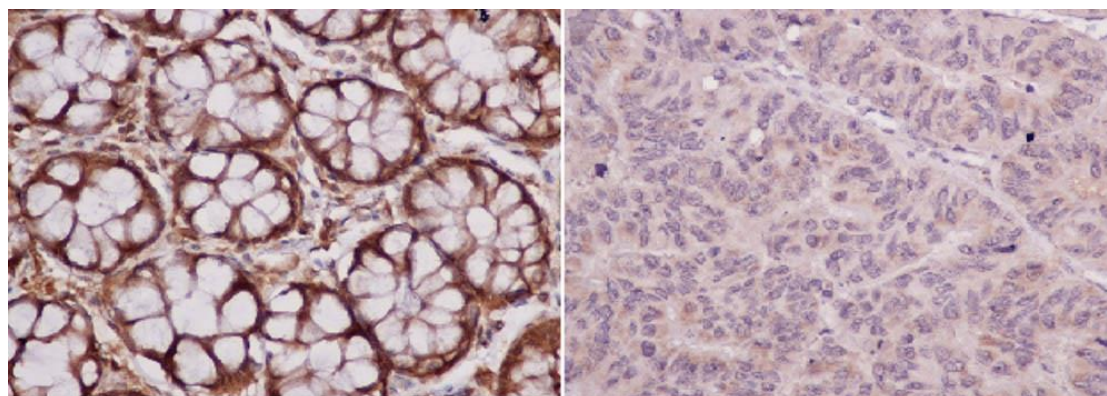


## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

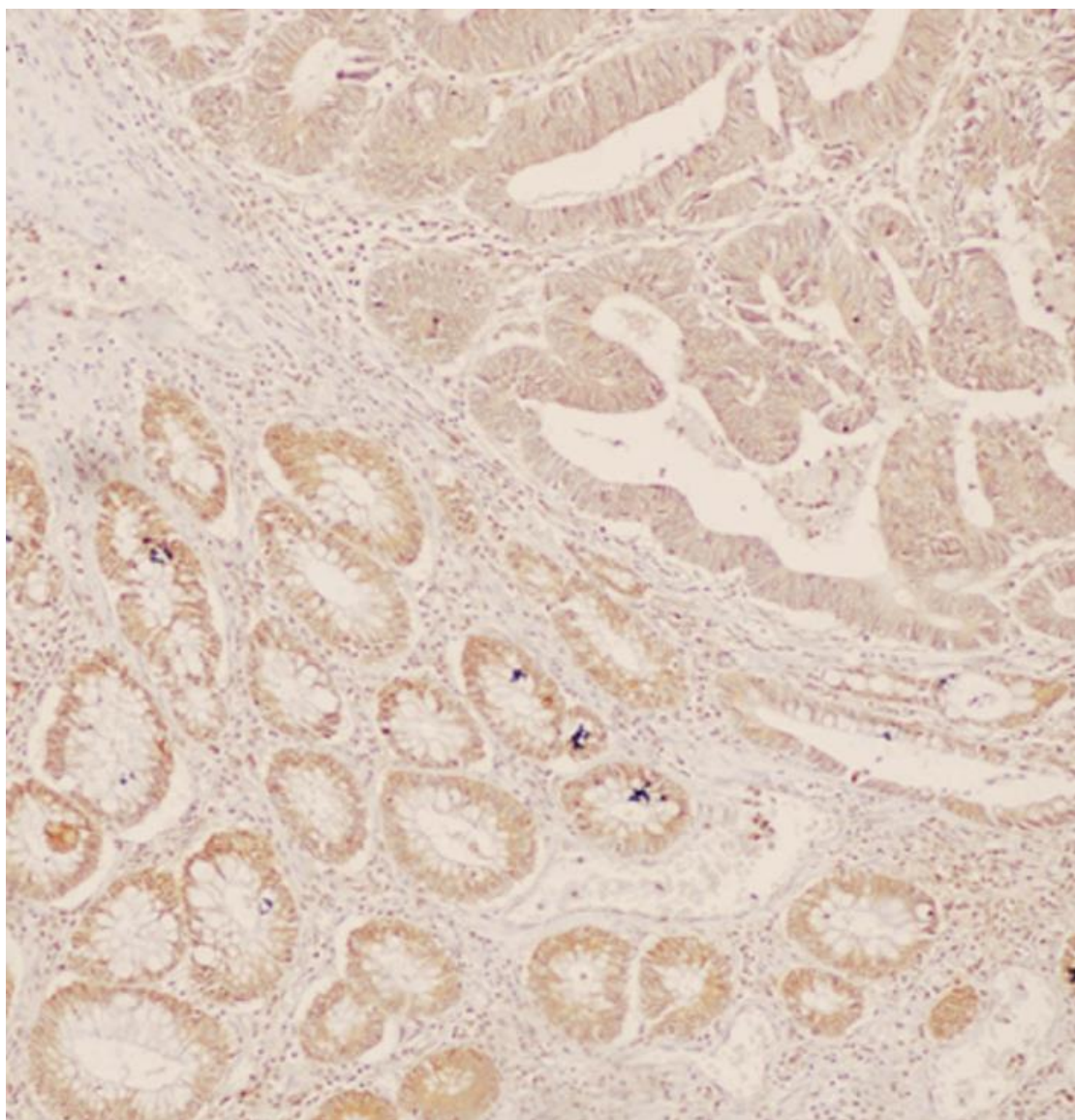
### ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

#### Σύγκριση μεταξύ του φυσιολογικού εντερικού βλεννογόνου και του καρκινικού ιστού όσον αφορά την έκφραση της KISS1

Η έκφραση της KISS1 ανιχνεύτηκε στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων και μερικών στρωματικών κυττάρων του βλεννογόνου του παχέος εντέρου (Εικόνες 1 και 2), όπως και στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων και μερικών στρωματικών κυττάρων του ήπατος (Εικόνα 3). Τα επίπεδά της ήταν κατά πολύ υψηλότερα στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τον καρκινικό ιστό ( $p < 0,00001$ ) (Εικόνες 1 και 2) και κάθε δείγμα φυσιολογικού ιστού είχε υψηλότερα επίπεδα KISS1 σε σχέση με το αντίστοιχο δείγμα καρκινικού ιστού. Αυτή η διαφορά επιβεβαιώθηκε και όταν συγκρίθηκαν οι φυσιολογικοί και οι καρκινικοί ιστοί στις περιπτώσεις των *in situ* αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου ( $p = 0,004$ ).

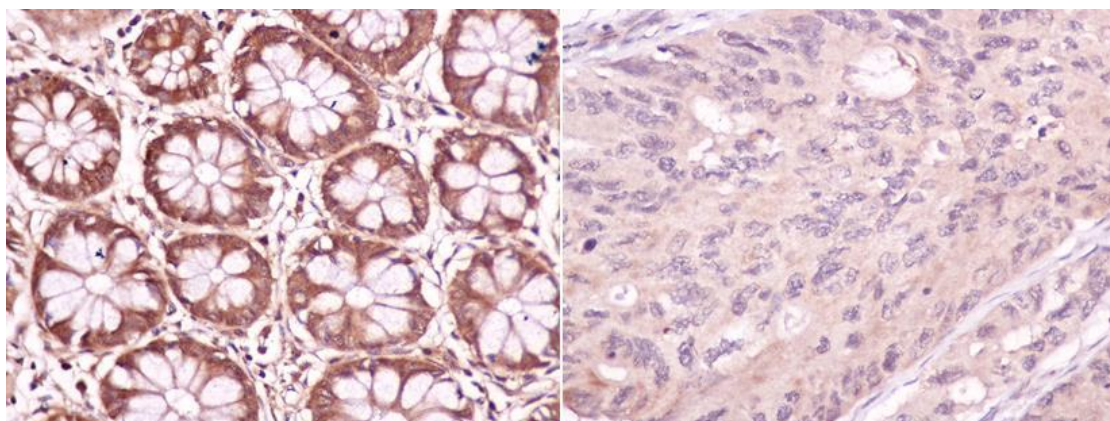


**Εικόνα 1α.**

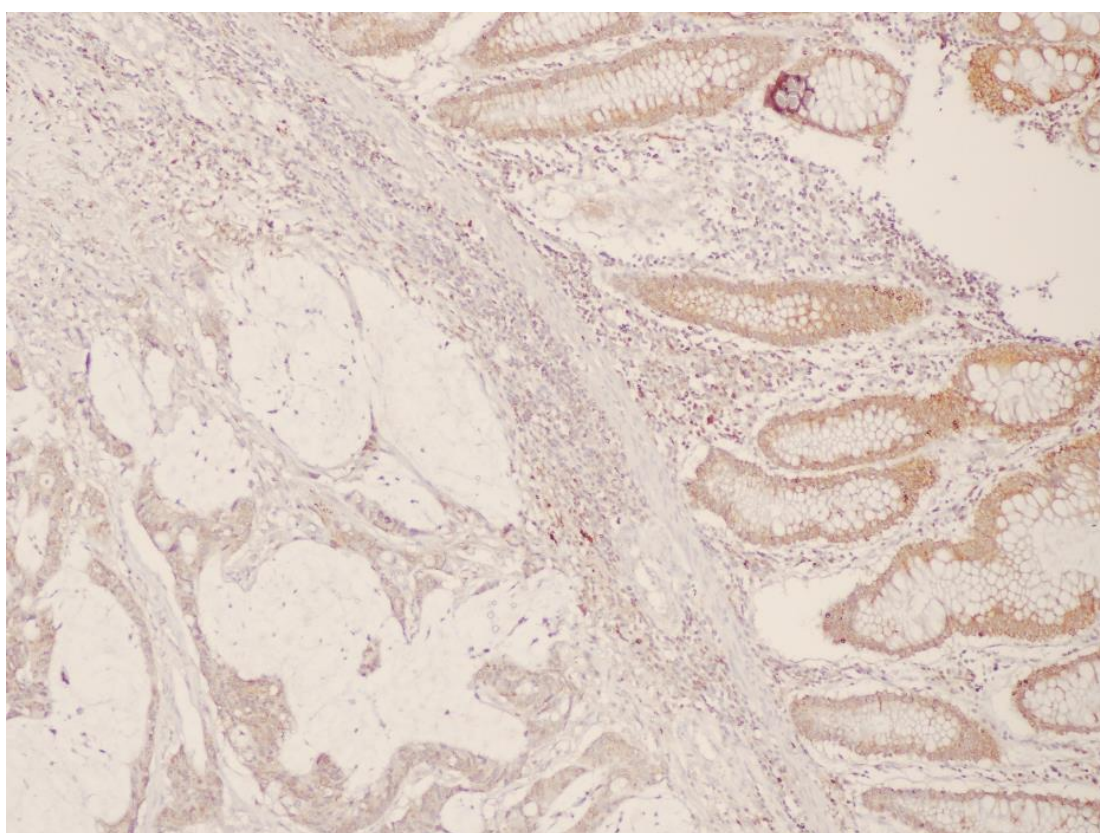


**Εικόνα 1β.**

**Εικόνα 1.** Χρώση 3,3' διαμινοβενζιδίνης (DAB) που αντιπροσωπεύει την έκφραση της KISS1 στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου (εικόνα 1α: αριστερή εικόνα, εικόνα 1β: κάτω αριστερό τμήμα) και στον καρκίνο του παχέος εντέρου (εικόνα 1α: δεξιά εικόνα, εικόνα 1β: άνω δεξιό τμήμα). Σημειώνεται η ασθενέστερη χρώση στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Οι εικόνες 1α και 1β έχουν μεγέθυνση 400x και 100x, αντιστοίχως.



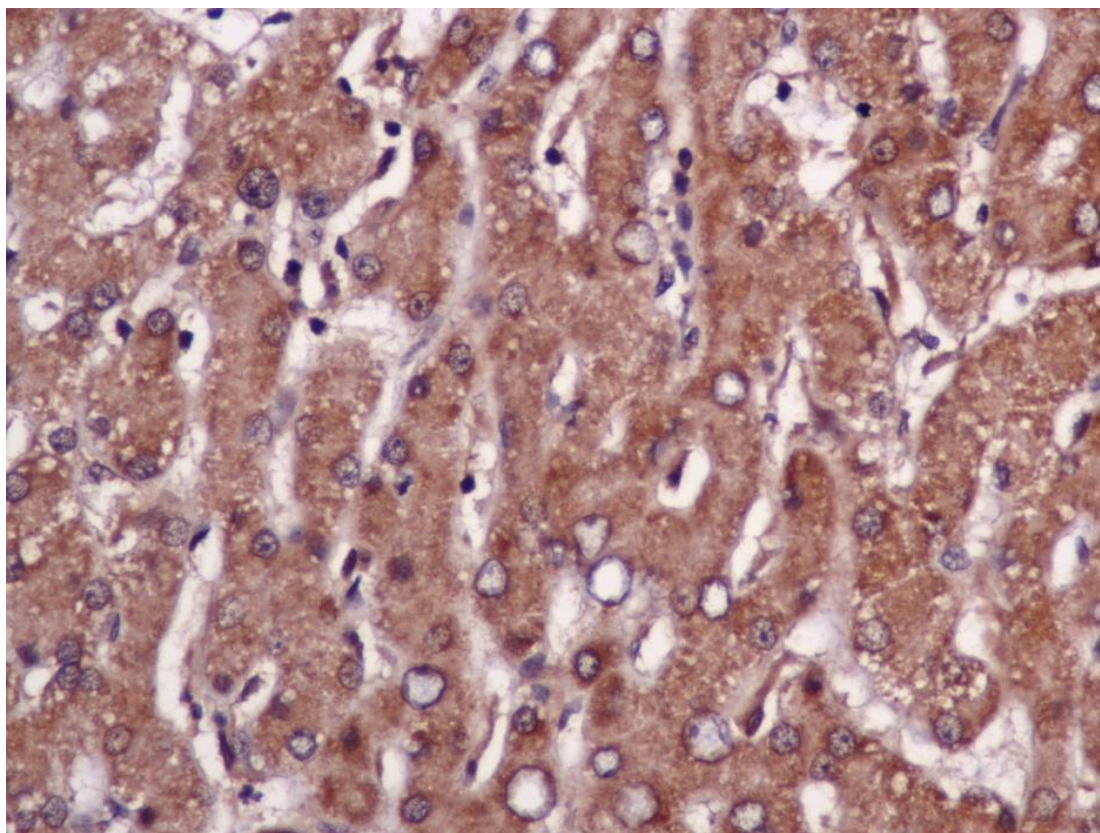
**Εικόνα 2α.**



**Εικόνα 2β.**

**Εικόνα 2.** Χρώση 3,3' διαμινοβενζιδίνης (DAB) που αντιπροσωπεύει την έκφραση της KISS1 στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου (εικόνα 2α: αριστερή εικόνα, εικόνα 2β: δεξιό τμήμα) και στον καρκίνο του παχέος εντέρου (εικόνα 2α: δεξιά εικόνα, εικόνα 2β: αριστερό τμήμα). Σημειώνεται η ασθενέστερη χρώση στον

καρκίνο του παχέος εντέρου. Οι εικόνες 2α και 2β έχουν μεγέθυνση 400x και 100x, αντιστοίχως.



**Εικόνα 3.** Έκφραση της KISS1 στο φυσιολογικό ήπαρ (μεγέθυνση 400x).

**Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο με το τμήμα ανάπτυξης του όγκου, το φύλο και την ηλικία**

Η έκφραση της KISS1 στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο ήταν υψηλότερη στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου συγκριτικά με το αριστερό, λαμβάνοντας την αριστερή κολική καμπή ως όριο ( $p=0,016$ ), ενώ δεν υπήρχε διαφορά ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες ( $p=0,894$ ). Επίσης, τα επίπεδα της KISS1 στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο συσχετίζονταν θετικά με την ηλικία των ασθενών ( $r=0,286$ ,  $p=0,003$ ), με τους ασθενείς ηλικίας ίσης ή μεγαλύτερης των 70 ετών να παράγουν περισσότερη KISS1 από τους νεότερους ασθενείς στο φυσιολογικό παχύ έντερο ( $p=0,015$ ).

## **Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στον καρκινικό ιστό του παχέος εντέρου με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους**

Υπήρχε μία οριακά σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της KISS1 με το τμήμα του παχέος εντέρου στο οποίο εντοπιζόταν ο όγκος, με τους όγκους στο αριστερό τμήμα να παράγουν περισσότερη KISS1 από τους όγκους στο δεξιό τμήμα, λαμβάνοντας την αριστερή κολική καμπή ως όριο ( $p=0,049$ ). Αντιθέτως, δεν υπήρχε διαφορά ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες σε ό,τι αφορά τα επίπεδα της KISS1 στον καρκινικό ιστό ( $p=0,668$ ) και η ηλικία δεν φάνηκε να επηρεάζει την παραγωγή της KISS1 σε αυτόν, αφού δεν ανιχνεύτηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ τους ( $p=0,59$ ) και δεν βρέθηκε διαφορά συγκρίνοντας τους ασθενείς ηλικίας ίσης ή μεγαλύτερης των 70 ετών με τους νεότερους ασθενείς ( $p=0,578$ ).

Σε ό,τι αφορά τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των όγκων του παχέος εντέρου, υπήρχε μία οριακά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της μέγιστης διαμέτρου του όγκου και των επιπέδων της KISS1 ( $r=0,187$ ,  $p=0,0497$ ), ενώ βρέθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των όγκων διαμέτρου ίσης ή μεγαλύτερης των 4 cm και των όγκων διαμέτρου μικρότερης των 4 cm, με τους μεγαλύτερους να παράγουν περισσότερη KISS1 από τους μικρότερους ( $p=0,029$ ). Επιπλέον, οι καρκίνοι σταδίου III ή IV παράγαν περισσότερη KISS1 από τους καρκίνους σταδίου 0, I ή II ( $p=0,009$ ). Οι καρκίνοι με διηθημένους επιχώριους λεμφαδένες επίσης είχαν αυξημένα επίπεδα KISS1 συγκριτικά με τους καρκίνους χωρίς διηθημένους επιχώριους λεμφαδένες ( $p=0,019$ ). Ακόμη, υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ των τιμών της KISS1 και του αριθμού των διηθημένων επιχώριων λεμφαδένων, η οποία μόλις οριακά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $r=0,187$ ,  $p=0,05$ ). Αντιθέτως, η έκφραση της KISS1 δεν φάνηκε να αλλάζει σημαντικά όσον αφορά την έκταση της διήθησης του

πρωτοπαθούς όγκου (T) ( $p=0,254$ ), την παρουσία ή την απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων ( $p=0,404$ ), το βαθμό διαφοροποίησης του νεοπλάσματος (χαμηλής κακοήθειας εναντίον υψηλής κακοήθειας) ( $p=0,421$ ), την παρουσία ή την απουσία βλεννώδους αδενοκαρκινώματος ( $p=0,456$ ), την παρουσία ή την απουσία αγγειακής ή λεμφαγγειακής διήθησης ( $p=0,421$ ) και την παρουσία ή την απουσία περινευρικής διήθησης ( $p=0,762$ ).

### **Συσχετίσεις της διαφοράς της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού εντερικού βλεννογόνου και καρκινικού ιστού με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους**

Η διαφορά της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού εντερικού βλεννογόνου και καρκινικού ιστού ήταν μεγαλύτερη στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου από το αριστερό τμήμα του παχέος εντέρου, λαμβάνοντας την αριστερή κολική καμπή ως όριο ( $p=0,001$ ). Επίσης, υπήρχε θετική συσχέτιση ανάμεσα σε αυτή τη διαφορά και την ηλικία των ασθενών ( $r=0,209$ ,  $p=0,03$ ), η οποία ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς ηλικίας ίσης ή μεγαλύτερης των 70 ετών από τους νεότερους ( $p=0,018$ ). Ακόμη, η διαφορά της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού ήταν μεγαλύτερη στους όγκους σταδίου T4 σε σύγκριση με τους υπόλοιπους όγκους (T0-T3) ( $p=0,039$ ). Αντιθέτως, δεν ανευρέθησαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα σε αυτή τη διαφορά και άλλες παραμέτρους, όπως το φύλο των ασθενών ( $p=0,971$ ), η μέγιστη διάμετρος του όγκου ( $p=0,714$ ), το στάδιο της νόσου ( $p=0,923$ ), το στάδιο διήθησης επιχώριων λεμφαδένων (N) ( $p=0,504$ ), η παρουσία ή απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων (M) ( $p=0,326$ ), ο βαθμός διαφοροποίησης του νεοπλάσματος (χαμηλής κακοήθειας εναντίον υψηλής κακοήθειας) ( $p=0,07$ ), η παρουσία ή απουσία βλεννώδους αδενοκαρκινώματος ( $p=0,142$ ), η παρουσία ή

απουσία αγγειακής ή λεμφαγγειακής διήθησης ( $p=0,849$ ) και η παρουσία ή απουσία περινευρικής διήθησης ( $p=0,115$ ).

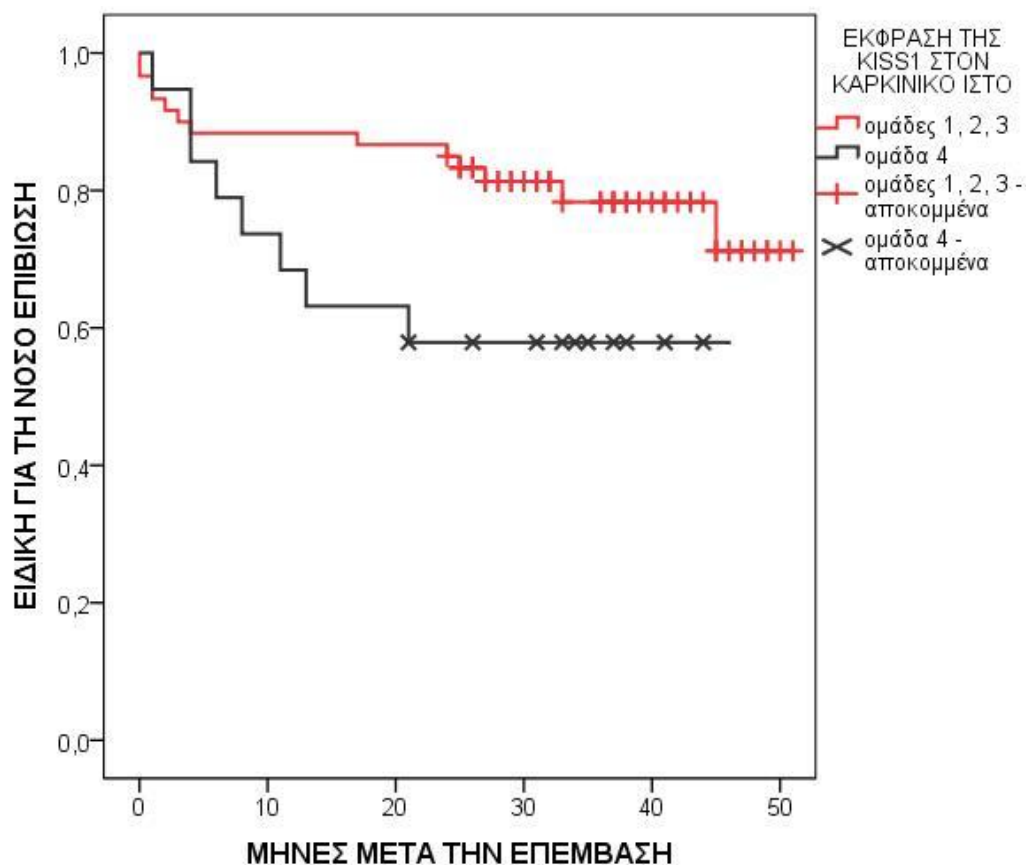
### **Σύγκριση μεταξύ των πρωτοπαθών όγκων και των ηπατικών μεταστάσεων όσον αφορά την έκφραση της KISS1**

Μολονότι και οι τέσσερις εξετασθείσες μεταστατικές ηπατικές βλάβες είχαν υψηλότερα επίπεδα KISS1 από τους αντίστοιχους πρωτοπαθείς όγκους, η διαφορά μεταξύ πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p=0,111$ ).

### **Ανάλυση επιβίωσης σύμφωνα με την έκφραση της KISS1**

Υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα για 79 ασθενείς σχετικά με την ειδική για τη νόσο επιβίωση, 22 (27,8%) εκ των οποίων πέθαναν κατά το χρονικό διάστημα της παρακολούθησης. Οι ασθενείς με λιγότερη έκφραση της KISS1 στον καρκινικό ιστό (ομάδες 1, 2, 3) είχαν σημαντικά πιο μακροχρόνια ειδική για τη νόσο επιβίωση από τους ασθενείς με περισσότερη έκφραση της KISS1 στον καρκινικό ιστό (ομάδα 4) ( $p=0,02$ , ομάδες 1, 2, 3: μέση επιβίωση  $\pm$  SE: 42,3 μήνες  $\pm$  2,2 (95% CI: 37,994-46,665), ομάδα 4: μέση επιβίωση  $\pm$  SE: 30,2 μήνες  $\pm$  4,6 (95% CI: 21,188-39,233)) (Εικόνα 4). Παρόλα αυτά, η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης έδειξε ότι οι μόνες ανεξάρτητες παράμετροι που επηρεάζουν αρνητικά την ειδική για τη νόσο επιβίωση είναι η παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων ( $p=0,011$ , HR=10,414 (95% CI: 1,702-63,725), B=2,343, SE=0,924, Wald=6,427) και το αρσενικό φύλο ( $p=0,00003$ , HR=11,963, (95% CI: 3,764-38,017), B=2,482, SE=0,59, Wald=17,699). Αντιθέτως, η έκφραση της KISS1 στον καρκινικό ιστό δεν ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας όταν συγκρίθηκαν οι ομάδες 1, 2, 3 μαζί με την ομάδα 4 στην

πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης ( $p=0,479$ ). Επιπλέον, η διαφορά της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού δεν φάνηκε να επηρεάζει την ειδική για τη νόσο επιβίωση ( $p=0,826$ ).

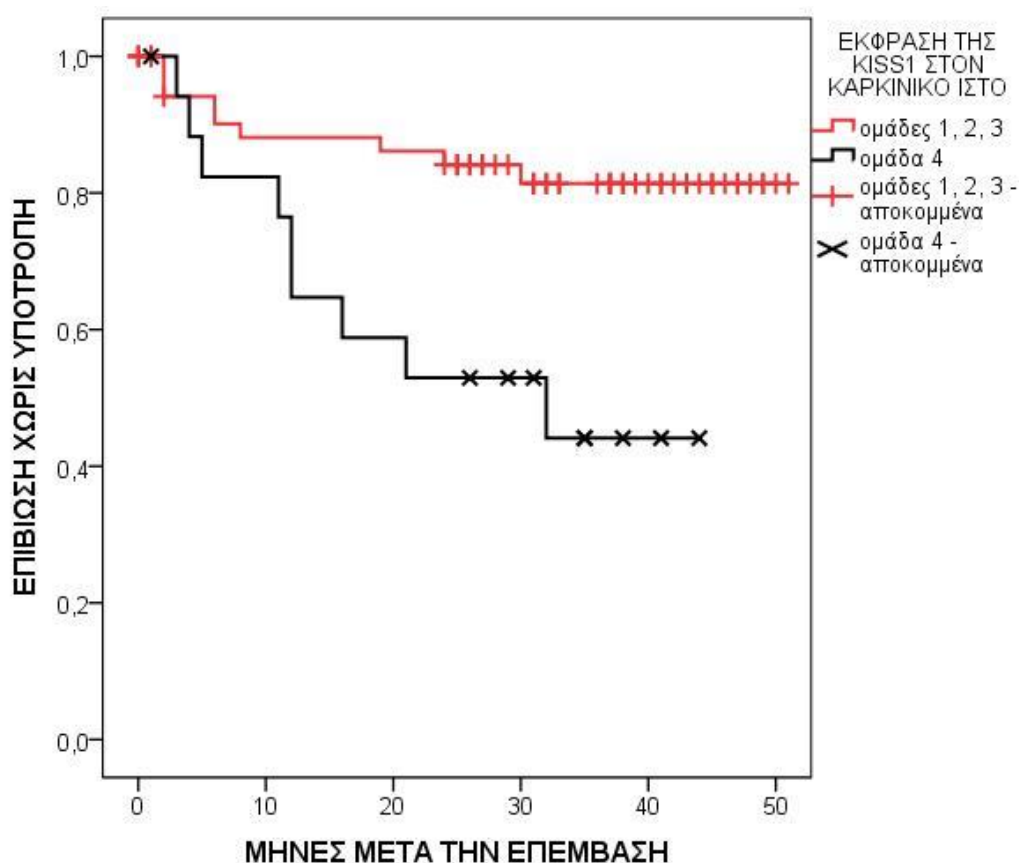


**Εικόνα 4.** Ειδική για τη νόσο επιβίωση ασθενών με υψηλότερη (ομάδα 4) και χαμηλότερη (ομάδες 1, 2, 3) έκφραση της KISS1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Αναφορικά με την επιβίωση χωρίς υποτροπή, υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα για 74 ασθενείς, 18 (24,3%) εκ των οποίων παρουσίασαν υποτροπή της νόσου τους κατά το χρονικό διάστημα της παρακολούθησης. Οι ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα KISS1 στον καρκινικό ιστό (ομάδες 1, 2, 3) είχαν σημαντικά πιο μακροχρόνια επιβίωση χωρίς υποτροπή από τους ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα KISS1 στον καρκινικό ιστό (ομάδα 4) ( $p=0,005$ , ομάδες 1, 2, 3: μέση επιβίωση  $\pm$  SE: 43,7 μήνες  $\pm$  2,3 (95% CI: 39,274-48,132), ομάδα 4: μέση επιβίωση  $\pm$  SE: 27,2 μήνες  $\pm$  4,1 (95% CI: 19,233-



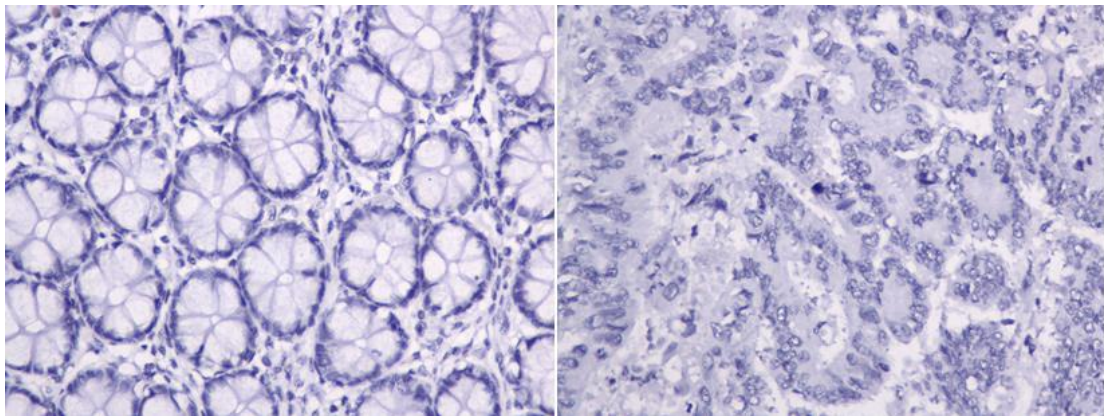
35,12)) (Εικόνα 5). Ωστόσο, η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης έδειξε ότι οι μόνες ανεξάρτητες παράμετροι που επηρεάζουν αρνητικά την επιβίωση χωρίς υποτροπή είναι η παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων ( $p=0,00008$ ,  $HR=11,368$ , (95% CI: 3,397-38,042),  $B=2,431$ ,  $SE=0,616$ ,  $Wald=15,558$ ) και η ηλικία ίση ή μεγαλύτερη των 80 ετών ( $p=0,0001$ ,  $HR=8,491$ , (95% CI: 2,819-25,572),  $B=2,139$ ,  $SE=0,563$ ,  $Wald=14,458$ ). Αντιθέτως, τα επίπεδα της KISS1 στον καρκινικό ιστό δεν ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας όταν συγκρίθηκαν οι ομάδες 1, 2, 3 μαζί με την ομάδα 4 στην πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης ( $p=0,652$ ). Επιπλέον, η διαφορά των επιπέδων της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού δεν φάνηκε να επηρεάζει την επιβίωση χωρίς υποτροπή ( $p=0,19$ ).



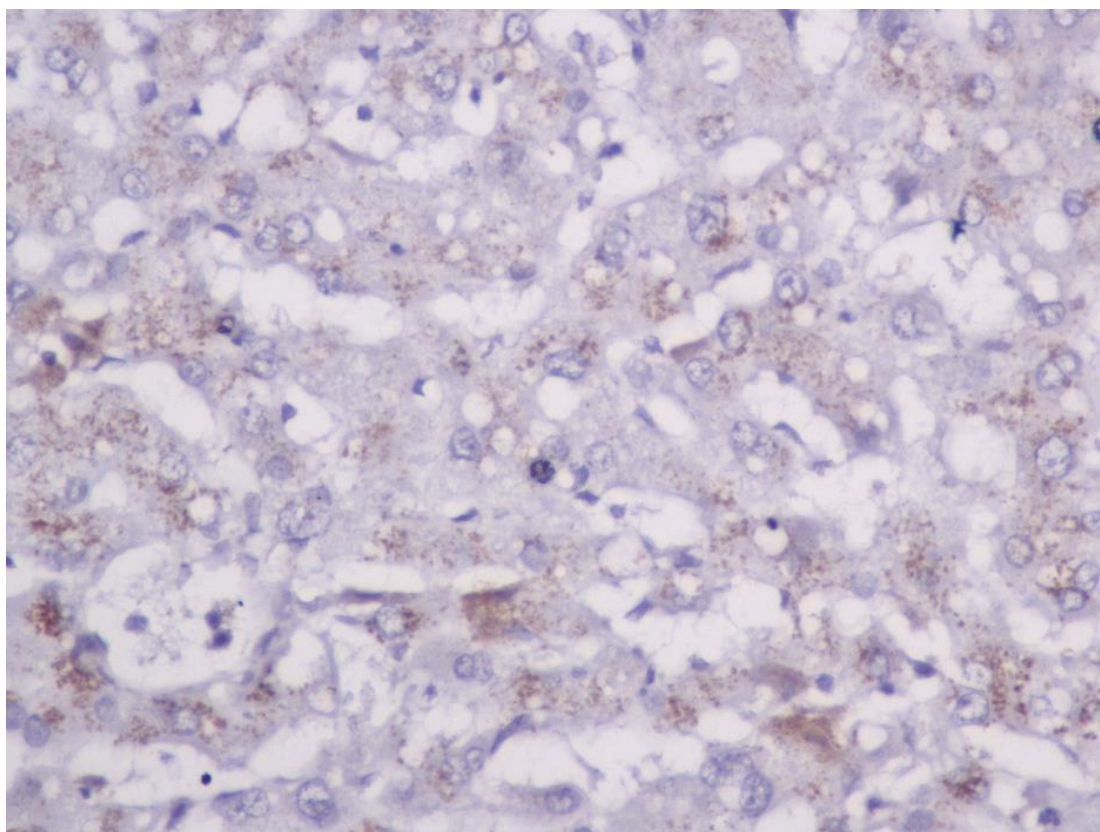
**Εικόνα 5.** Επιβίωση χωρίς υποτροπή ασθενών με υψηλότερη (ομάδα 4) και χαμηλότερη (ομάδες 1, 2, 3) έκφραση της KISS1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

**Η έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, τον καρκινικό ιστό του πρωτοπαθούς όγκου, το φυσιολογικό ήπαρ και τις ηπατικές μεταστάσεις**

Καμία έκφραση του KISS1R δεν ανιχνεύθηκε στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου ή τον καρκινικό ιστό του πρωτοπαθούς όγκου ή των ηπατικών μεταστάσεων (Εικόνα 6). Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε έκφραση του KISS1R στο κυτταρόπλασμα των φυσιολογικών ηπατοκυττάρων (Εικόνα 7).



**Εικόνα 6.** Απουσία έκφρασης του KISS1R στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου (αριστερή εικόνα) και στον καρκίνο του παχέος εντέρου (δεξιά εικόνα) (μεγέθυνση 400x).

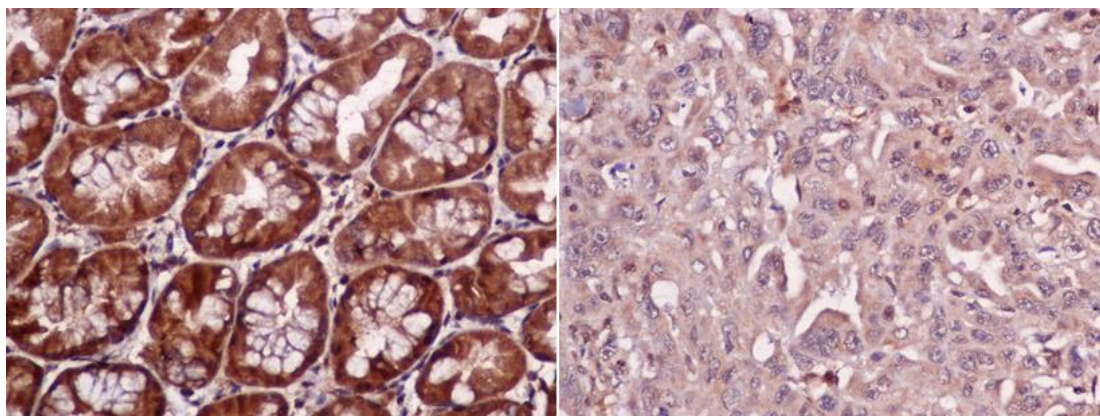


**Εικόνα 7.** Έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό ήπαρ (μεγέθυνση 400x).

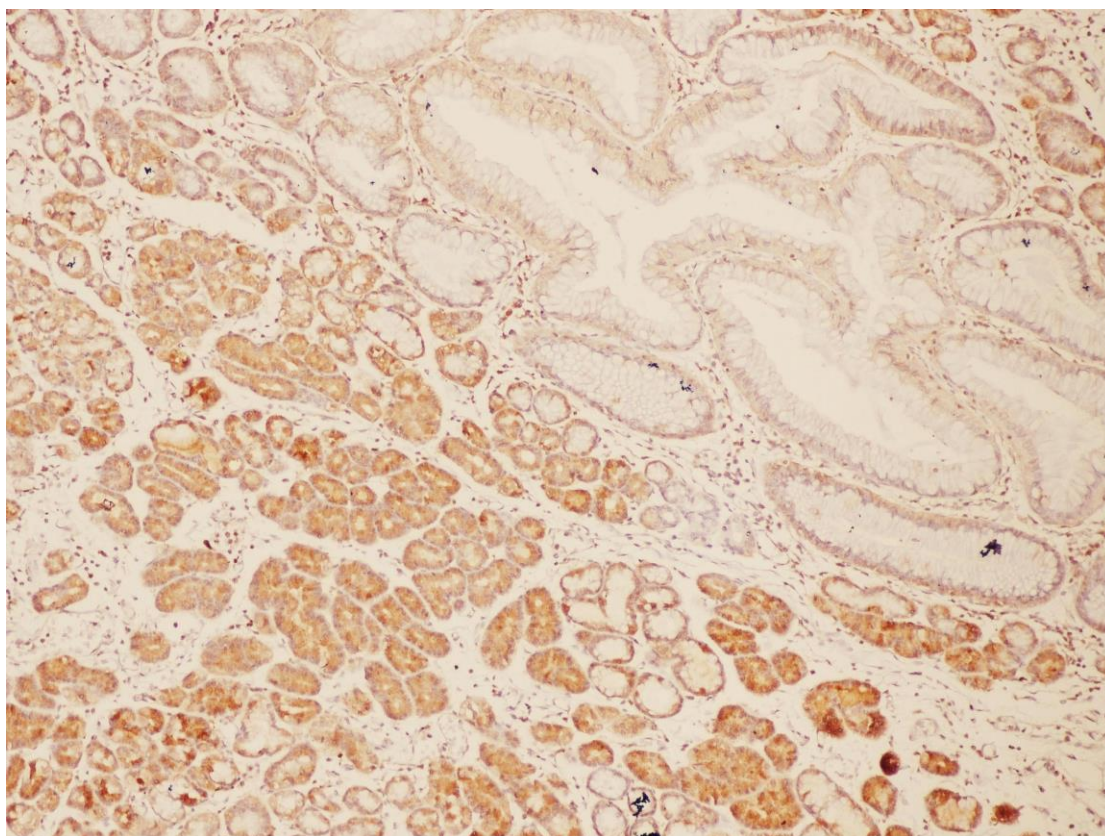
## ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

### Σύγκριση μεταξύ του φυσιολογικού γαστρικού βλεννογόνου και του καρκινικού ιστού όσον αφορά την έκφραση της KISS1

Η έκφραση της KISS1 ανιχνεύθηκε στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων και μερικών στρωματικών κυττάρων του βλεννογόνου του στομάχου (Εικόνα 8). Τα επίπεδά της ήταν κατά πολύ υψηλότερα στο φυσιολογικό βλεννογόνο του στομάχου σε σύγκριση με τον καρκινικό ιστό ( $p < 0,00001$ ) (Εικόνα 8) και κάθε δείγμα φυσιολογικού ιστού είχε υψηλότερα επίπεδα KISS1 σε σχέση με το αντίστοιχο δείγμα καρκινικού ιστού.



**Εικόνα 8α.**



**Εικόνα 8β.**

**Εικόνα 8.** Χρώση 3,3' διαμινοβενζιδίνης (DAB) που αντιπροσωπεύει την έκφραση της KISS1 στο φυσιολογικό βλεννογόνο του στομάχου (εικόνα 8α: αριστερή εικόνα, εικόνα 8β: κάτω αριστερό τμήμα) και στον καρκίνο του στομάχου (εικόνα 8α: δεξιά εικόνα, εικόνα 8β: άνω δεξιό τμήμα). Σημειώνεται η ασθενέστερη χρώση στον καρκίνο του στομάχου. Οι εικόνες 8α και 8β έχουν μεγέθυνση 400x και 100x, αντιστοίχως.

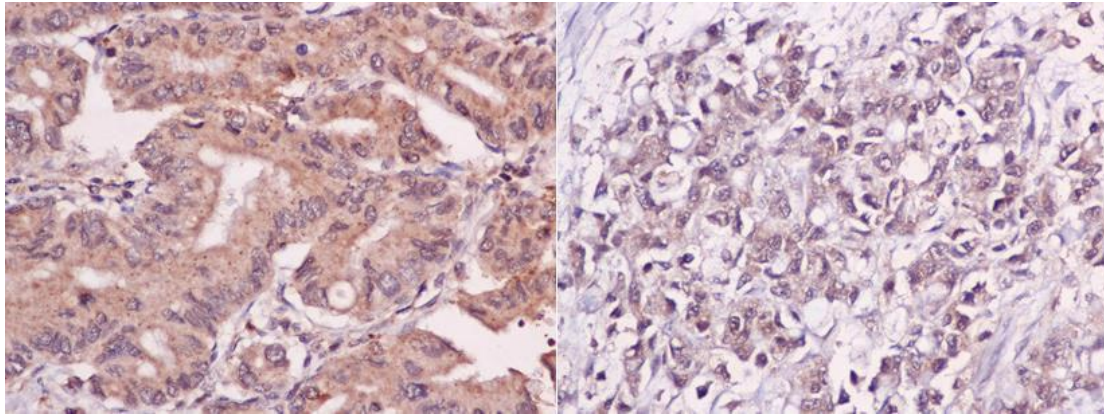
#### **Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο με το φύλο και την ηλικία**

Δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες ( $p=0,623$ ) ή ανάμεσα σε γηραιότερους ( $\geq 70$  ετών) και νεότερους ( $< 70$  ετών) ασθενείς

( $p=0,988$ ) σε ό,τι αφορά τα επίπεδα της KISS1 στο φυσιολογικό βλεννογόνο του στομάχου.

### **Συσχετίσεις της έκφρασης της KISS1 στον καρκινικό ιστό του στομάχου με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους**

Τα επίπεδα της KISS1 ήταν υψηλότερα στους όγκους γηραιότερων ασθενών ( $\geq 70$  ετών) σε σχέση με τους όγκους νεότερων ασθενών ( $< 70$  ετών) ( $p=0,015$ ), ενώ δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες ( $p=0,59$ ). Επίσης, η έκφραση της KISS1 ήταν περισσότερη στους καρκίνους πρώιμων σταδίων (στάδια I και II) από τους καρκίνους προχωρημένων σταδίων (στάδια III και IV) ( $p=0,043$ ), στα εντερικού τύπου αδενοκαρκινώματα από τα διάχυτου τύπου αδενοκαρκινώματα ( $p=0,03$ ) (Εικόνα 9) και στις περιπτώσεις χωρίς αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση από τις περιπτώσεις με αυτή ( $p=0,042$ ). Από την άλλη πλευρά, δεν ανευρέθησαν σημαντικές διαφορές αναφορικά με την έκφραση της KISS1 στον καρκινικό ιστό μεταξύ μεγαλύτερων ( $\geq 4$  cm σε διάμετρο) και μικρότερων ( $< 4$  cm σε διάμετρο) όγκων ( $p=0,638$ ) ή μεταξύ καρκίνων υψηλής και χαμηλής κακοήθειας ( $p=0,11$ ). Ακόμη, η έκταση της διήθησης του πρωτοπαθούς όγκου (T) ( $p=0,532$ ), η παρουσία διήθησης ( $p=0,273$ ) ή το στάδιο διήθησης των επιχώριων λεμφαδένων (N) ( $p=0,662$ ), η παρουσία ή απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων (M) ( $p=0,054$ ) και η παρουσία ή απουσία περινευρικής διήθησης ( $p=0,055$ ) δεν φάνηκαν να επηρεάζουν σημαντικά τα επίπεδα της KISS1 στον καρκινικό ιστό.



**Εικόνα 9.** Χρώση 3,3' διαμινοβενζιδίνης (DAB) που αντιπροσωπεύει την έκφραση της KISS1 στον εντερικό ιστολογικό τύπο καρκίνου στομάχου (αριστερή εικόνα) και στο διάχυτο ιστολογικό τύπο καρκίνου στομάχου (δεξιά εικόνα). Σημειώνεται η εντονότερη χρώση στον εντερικό ιστολογικό τύπο (μεγέθυνση 400x).

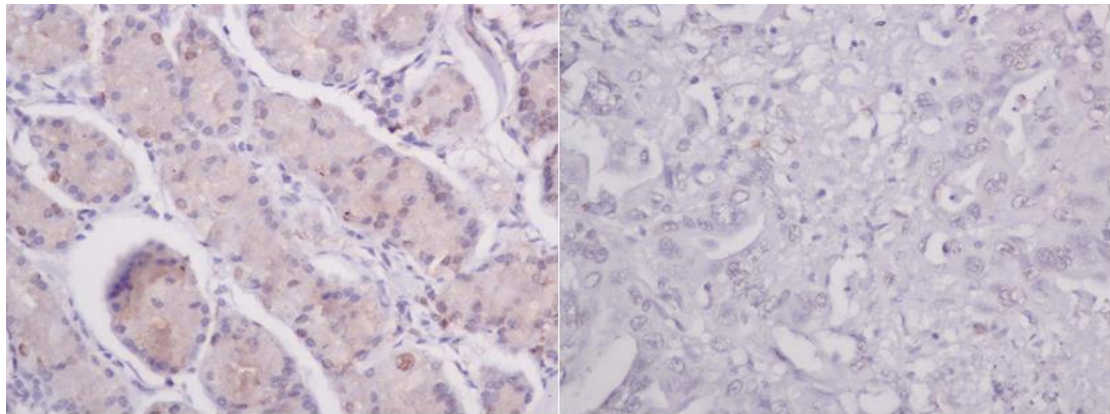
#### **Συσχετίσεις της διαφοράς της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού γαστρικού βλεννογόνου και καρκινικού ιστού με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους**

Η διαφορά της έκφρασης της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού γαστρικού βλεννογόνου και καρκινικού ιστού δεν φάνηκε να επηρεάζεται σημαντικά από την ηλικία ( $\geq 70$  ετών έναντι  $< 70$  ετών) ( $p=0,22$ ) ή το φύλο των ασθενών ( $p=0,519$ ), το μέγεθος του όγκου ( $\geq 4$  cm σε διάμετρο έναντι  $< 4$  cm σε διάμετρο) ( $p=0,936$ ), το στάδιο της νόσου ( $p=0,445$ ), την έκταση της διήθησης του πρωτοπαθούς όγκου (T) ( $p=0,748$ ), την παρουσία διήθησης ( $p=0,474$ ) ή το στάδιο διήθησης των επιχώριων λεμφαδένων (N) ( $p=0,719$ ), την παρουσία ή απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων (M) ( $p=0,925$ ), το βαθμό διαφοροποίησης του νεοπλάσματος (υψηλής κακοήθειας έναντι χαμηλής κακοήθειας) ( $p=0,479$ ), τον ιστολογικό τύπο (εντερικού τύπου έναντι διάχυτου τύπου) ( $p=0,285$ ), την παρουσία ή απουσία αγγειακής ή

λεμφαγγειακής διήθησης ( $p=0,995$ ) και την παρουσία ή απουσία περινευρικής διήθησης ( $p=0,241$ ).

### **Η έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο και τον καρκινικό ιστό**

Καμία έκφραση του KISS1R δεν ανιχνεύθηκε στα καρκινικά κύτταρα του καρκίνου του στομάχου, ενώ μόλις ασθενής έκφραση του KISS1R βρέθηκε στα επιθηλιακά κύτταρα του βασικού τμήματος των γαστρικών αδένων (Εικόνα 10).



**Εικόνα 10.** Ασθενής έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό βλεννογόνο του στομάχου (αριστερή εικόνα) και απουσία έκφρασης του KISS1R στον καρκίνο του στομάχου (δεξιά εικόνα) (μεγέθυνση 400x, χρώση 3,3' διαμινοβενζιδίνης (DAB)).



## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα έρευνα έγινε χρήση του προγράμματος Image Pro Plus ως εργαλείου ψηφιακής ανάλυσης εικόνας, με σκοπό την ακριβέστερη εκτίμηση της έντασης και της έκτασης της χρώσης DAB. Το πρόγραμμα Image Pro Plus αποτελεί ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο εργαλείο ψηφιακής ανάλυσης των χρωμάτων μιας εικόνας. Χρησιμοποιεί ένα σύστημα βασισμένο στην απόχρωση, τον κορεσμό και την ένταση (HSI: hue, saturation, intensity) για την αντιστοίχιση κάθε εικονοκυττάρου (pixel) της εικόνας σε χρώμα προερχόμενο από μοντέλο βασισμένο στα χρώματα κόκκινο, πράσινο και μπλε (RGB: red, green, blue) [142]. Η αξιοπιστία του στην εκτίμηση της χρώσης έχει συγκριθεί με αυτή της οπτικής ανάλυσης εικόνας σε μία σειρά μελετών, οι οποίες έχουν χρησιμοποιήσει ιστολογικές εικόνες μετά την εφαρμογή ανοσοϊστοχημείας σε ποικίλους φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς (π.χ. μαστός, ωοθήκη, θυρεοειδής αδένας, πνεύμονας, νεφρός, ήπαρ, παχύ έντερο κ.λπ.). Έχει βρεθεί ότι υπάρχει καλή συμφωνία ανάμεσα στην ψηφιακή ανάλυση με το Image Pro Plus και την οπτική ανάλυση και υψηλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων τους που αφορούν την ένταση και την έκταση της χρώσης [143-148]. Επίσης, η συσχέτιση των διαφόρων κλινικών και παθολογοανατομικών παραμέτρων με τα αποτελέσματα της ψηφιακής ανάλυσης εικόνας είναι ίση ή ακόμη υψηλότερη από τη συσχέτιση στην οπτική ανάλυση εικόνας [143, 145, 147, 148]. Για αυτούς τους λόγους προτιμήθηκε το πρόγραμμα Image Pro Plus στην παρούσα μελέτη ως εργαλείο ψηφιακής ανάλυσης εικόνας, ώστε να επιτευχθεί μία ευαίσθητη και αξιόπιστη ανάλυση της έκφρασης της KISS1 και του KISS1R, όπως αυτή αντιπροσωπεύεται από τη χρώση DAB.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, η έκφραση της KISS1 είναι κατά πολύ υψηλότερη στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου συγκριτικά

με τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό και τα επίπεδα της *KISS1* στον καρκινικό ιστό είναι υψηλότερα στα αδενοκαρκινώματα παχέος εντέρου με μεγαλύτερη διάμετρο, προχωρημένο στάδιο (σταδίου III ή IV) ή/και λεμφαδενικές μεταστάσεις. Επίσης, τα επίπεδα της *KISS1* στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου, όπως και η διαφορά τους από τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό, είναι αυξημένα σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας και στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου. Ωστόσο, στον καρκινικό ιστό είναι αυξημένα στο αριστερό τμήμα του παχέος εντέρου.

Λίγες έρευνες έχουν γίνει αναφορικά με το ρόλο της *KISS1* στον καρκίνο του παχέος εντέρου με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Οι Liang και συνεργάτες ανίχνευσαν την έκφραση της *KISS1* στο 70% των φυσιολογικών παχέων εντέρων, αλλά μόνο στο 28% των καρκίνων του παχέος εντέρου, προτείνοντας όπως και η παρούσα μελέτη, ότι η έκφραση της *KISS1* είναι μεγαλύτερη στο φυσιολογικό παχύ έντερο από τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Αντιθέτως, άλλα ευρήματα της έρευνάς τους δεν συμφωνούν με της παρούσας, καθώς βρήκαν ότι τα επίπεδα των κισσπεπτινών είναι αυξημένα στους καρκίνους σταδίου 0, I ή II συγκριτικά με τους καρκίνους σταδίου III ή IV και στις περιπτώσεις χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις συγκριτικά με εκείνες με λεμφαδενικές μεταστάσεις [149]. Οι Moya και συνεργάτες και οι Okugawa και συνεργάτες επίσης ανίχνευσαν μεγαλύτερη έκφραση της *KISS1* στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου από τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό και έδειξαν ότι οι καρκίνοι του παχέος εντέρου παράγουν περισσότερη *KISS1* στα πρώιμα στάδια από τα προχωρημένα στάδια [150, 151]. Επιπλέον, οι Moya και συνεργάτες βρήκαν ότι τα χαμηλά επίπεδα της *KISS1* συσχετίζονται με την παρουσία μεθυσίας του υποκινητή του γονιδίου *KISS1*, προχωρημένο στάδιο του καρκίνου και υψηλό βαθμό κακοήθειας του καρκίνου και συνδέονται με μία τάση υποτροπής της νόσου και συντομότερη ειδική της νόσου επιβίωση [150] και οι Okugawa και

συνεργάτες έδειξαν ότι η μειωμένη έκφραση της *KISS1* συνδέεται με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και πτωχή πρόγνωση [151]. Οι Ji και συνεργάτες ανέλυσαν και αυτοί ελαττωμένα επίπεδα της πρωτεΐνης *KISS1* στους καρκινικούς ιστούς σε σχέση με το φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου, χωρίς ωστόσο ουσιαστική διαφορά στο αντίστοιχο mRNA, καθώς και μειωμένα επίπεδα του mRNA του γονιδίου *KISS1* στους νεοπλασματικούς ιστούς στα προχωρημένα στάδια της νόσου σε σύγκριση με τα πρώιμα στάδια, χωρίς όμως ουσιαστική διαφορά στην επιβίωση μεταξύ περιπτώσεων με υψηλή και χαμηλή έκφραση του γονιδίου [152]. Οι Chen και συνεργάτες διαπίστωσαν αυξημένα ποσοστά υπερμεθυλίωσης του υποκινητή του γονιδίου *KISS1*, η οποία οδηγεί σε ελαττωμένη έκφρασή του, σε δείγματα καρκίνου παχέος εντέρου σε σχέση με δείγματα φυσιολογικού παχέος εντέρου. Επιπλέον, βρήκαν ότι τα ποσοστά υπερμεθυλίωσης είναι υψηλότερα και η έκφραση της *KISS1* χαμηλότερη στους καρκίνους παχέος εντέρου με μεγαλύτερη έκταση διήθησης, και ειδικότερα στους όγκους με επέκταση πέραν της μυϊκής στιβάδας, με λεμφαδενικές ή απομακρυσμένες μεταστάσεις ή με μέση ή πτωχή διαφοροποίηση [153]. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με την ήδη γνωστή ογκοκατασταλτική δράση της *KISS1* και προτείνουν ότι η έκφραση της *KISS1* ελαττώνεται κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου και καθώς η κακοήθης νόσος εξελίσσεται.

Ωστόσο, τα αποτελέσματα άλλων ερευνών αντιτίθενται σε αυτόν τον προτεινόμενο ρόλο. Πιο συγκεκριμένα, οι Liang και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι η παραγωγή της *KISS1* είναι μεγαλύτερη στους καρκίνους παχέος εντέρου που διηθούν τον ορογόνο χιτώνα ή πέραν αυτού συγκριτικά με εκείνους των οποίων η διήθηση εκτείνεται μέχρι υπορογονίως [149] και οι Canbay και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου έχουν αυξημένα επίπεδα πλάσματος της KP-54

σε σχέση με υγιείς εθελοντές και ότι τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος της KP-54 συσχετίζονται με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων [154]. Ακόμη, οι Stathaki και συνεργάτες βρήκαν μειωμένα επίπεδα KISS1 στο φυσιολογικό παχύ έντερο σε σχέση με τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Παρόλα αυτά, στους καρκινικούς ιστούς τα επίπεδα της KISS1 ήταν ελαττωμένα σε περιπτώσεις παρουσίας μεταστάσεων, τοπικά προχωρημένης νόσου ή υψηλής κακοήθειας νεοπλάσματος [155].

Πέραν αυτών, λίγες έρευνες σε καρκινικές σειρές επιβεβαιώνουν την ογκοκατασταλτική δράση των κισσπεπτινών. Οι Chen και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι η χορήγηση 5-αζα-2'-δεοξυκυτιδίνης στην κυτταρική σειρά καρκίνου παχέος εντέρου HCT116 μειώνει τα ποσοστά υπερμεθυλίωσης του υποκινητή του γονιδίου *KISS1* και αυξάνει την έκφρασή του [153] και ότι η ακτινοβολία προκαλεί αύξηση της έκφρασης της *KISS1* και του ρυθμού απόπτωσης στην κυτταρική σειρά καρκίνου παχέος εντέρου SW480 [156]. Επίσης, οι Ji και συνεργάτες διαπίστωσαν μειωμένο διηθητικό και μεταναστευτικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων στα οποία αποκλείστηκε η έκφραση του γονιδίου *KISS1* στις κυτταρικές σειρές καρκίνου παχέος εντέρου HT115 και HRT18 [152].

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκε κατά πολύ υψηλότερη έκφραση της *KISS1* στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι τα φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου παράγουν πολύ περισσότερη *KISS1* από τα αντίστοιχα καρκινικά κύτταρα. Συνεπώς, η έκφραση της *KISS1* ελαττώνεται κατά πολύ κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται και από τη χαμηλότερα επίπεδα *KISS1* στα *in situ* αδενοκαρκινώματα συγκριτικά με το φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο. Τα ευρήματα αυτά συνάδουν με

την ογκοκατασταλτική δράση της KISS1, η οποία είναι ήδη γνωστή. Από την άλλη μεριά, τα υπόλοιπα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δεν φαίνεται να υποστηρίζουν αυτό το ρόλο κατά την εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου. Πιο συγκεκριμένα, οι μεγαλύτεροι όγκοι, και ειδικά εκείνοι με διάμετρο ίση με 4 cm ή μεγαλύτερη, παρήγαγαν περισσότερη KISS1 από τους μικρότερους όγκους. Ακόμη, οι καρκίνοι σταδίου III ή IV είχαν υψηλότερα επίπεδα KISS1 από τους καρκίνους σταδίου 0, I ή II, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η έκφραση της KISS1 αυξάνεται στους όγκους που μεθίστανται πέραν της αρχικής εστίας τους, είτε σε επιχώριους λεμφαδένες είτε σε απομακρυσμένες θέσεις. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τα αυξημένα επίπεδα KISS1 στους καρκίνους με διηθημένους επιχώριους λεμφαδένες σε σχέση με εκείνους χωρίς διηθημένους επιχώριους λεμφαδένες. Η απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς ανάμεσα στην παρουσία και την απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων όσον αφορά την έκφραση της KISS1 πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι πολλοί όγκοι χωρίς απομακρυσμένες μεταστάσεις είχαν λεμφαδενικές μεταστάσεις και μόνο λίγοι όγκοι με απομακρυσμένες μεταστάσεις δεν είχαν λεμφαδενικές μεταστάσεις στον πληθυσμό της μελέτης. Επιπλέον, οι ασθενείς με καρκίνους με υψηλότερα επίπεδα KISS1 εμφάνισαν υποτροπή νωρίτερα και είχαν συντομότερη ειδική της νόσου επιβίωση. Ένα άλλο εύρημα ήταν η μεγαλύτερη διαφορά στα επίπεδα της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού στους όγκους σταδίου T4 σε σχέση με τους όγκους σταδίου T0-T3. Αυτό πιθανόν σημαίνει ότι η έκφραση της KISS1 στους όγκους που διαπερνούν την επιφάνεια του σπλαγγχνικού περιτοναίου ή διηθούν άλλα όργανα ή δομές κατά συνέχεια ιστού είναι ακόμα πιο μειωμένη από τα αρχικά φυσιολογικά επίπεδα σε σύγκριση με τους λιγότερο διηθητικούς όγκους. Τέλος, τα επίπεδα της KISS1 στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου και η

διαφορά των επιπέδων της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού ήταν μεγαλύτερη στους γηραιότερους από τους νεότερους ασθενείς.

Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας υποδηλώνουν ότι η ελάττωση της έκφρασης της KISS1 αποτελεί ένα πρώιμο γεγονός κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου. Ωστόσο, τα καρκινικά κύτταρα αυξάνουν την έκφραση της KISS1 κατά την εξέλιξη της νόσου, ειδικά όταν ο καρκίνος αυξάνεται σε μέγεθος ή/και μεθίσταται, αλλά χωρίς να μπορούν να φτάσουν τα πρότερα φυσιολογικά επίπεδα. Η σύνδεση ανάμεσα στην παρουσία προχωρημένης νόσου και την ενισχυμένη έκφραση της KISS1 αντανακλάται στην πρωιμότερη υποτροπή και τη συντομότερη ειδική της νόσου επιβίωση των ασθενών με αυξημένα επίπεδα της KISS1. Υπάρχουν αρκετές μελέτες που δείχνουν ελάττωση των επιπέδων των κισσπεπτινών σε διάφορους καρκίνους και ιδιαίτερα στους πιο προχωρημένους, ενώ αντιθέτως άλλες μελέτες αναφέρουν αύξηση των επιπέδων τους σε διάφορα κακοήγη νεοπλάσματα [110-114, 119, 120]. Παρόλα αυτά δεν έχει αναφερθεί πρότυπο μεταβολής της έκφρασης της KISS1 παρόμοιο με αυτό της παρούσας έρευνας.

Ένα άλλο ενδιαφέρον εύρημα ήταν τα υψηλότερα επίπεδα της KISS1 στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου και η μεγαλύτερη διαφορά των επιπέδων της KISS1 μεταξύ φυσιολογικού και καρκινικού ιστού στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου σε σύγκριση με το αριστερό τμήμα του, ενώ ο καρκινικός ιστός φάνηκε να έχει αυξημένα επίπεδα της KISS1 στο αριστερό τμήμα του παχέος εντέρου σε σχέση με το δεξιό τμήμα του. Αυτό πιθανόν υποδεικνύει μία διαφορά μεταξύ του δεξιού και του αριστερού τμήματος του παχέος εντέρου σε ό,τι αφορά τους υποκείμενους μηχανισμούς που ελέγχουν την έκφραση της KISS1. Αυτές οι διαφορές αποκτούν ακόμη μεγαλύτερο ενδιαφέρον εάν ληφθεί υπόψη η συχνότερη ανάπτυξη καρκίνου στο άπω τμήμα του παχέος εντέρου έναντι του εγγύς τμήματός του [157,

158]. Επίσης, αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει διαφορές ανάμεσα στους καρκίνους του εγγύς κόλου, του άπω κόλου και του ορθού όσον αφορά τις μεταλλάξεις ή/και τα πρότυπα έκφρασης διαφόρων γονιδίων, όπως το APC, το p53, το CDH1 (γονίδιο της E-cadherin), το CTNNB1 (γονίδιο της β-κατενίνης), το S100P κ.λπ. [159-163].

Αναφορικά με τον KISS1R, τον υποδοχέα των κισσπεπτινών, δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία του ούτε στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου ούτε στον αντίστοιχο καρκινικό ιστό του παχέος εντέρου ή των ηπατικών μεταστάσεων. Μόνο τρεις μελέτες έχουν αναφερθεί στην έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό ανθρώπινο παχύ έντερο και μία μελέτη στην έκφραση του KISS1R στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Οι Ohtaki και συνεργάτες ανίχνευσαν την παρουσία του mRNA του *KISS1R* μόνο σε ένα από τα τρία δείγματα ιστού φυσιολογικού ανθρώπινου παχέος εντέρου, τα οποία εξετάστηκαν με ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφάσης (quantitative reverse transcriptase – polymerase chain reaction) [164], ενώ οι Clements και συνεργάτες δεν ανίχνευσαν την παρουσία του mRNA του *KISS1R* σε δείγματα ιστού φυσιολογικού ανθρώπινου παχέος εντέρου με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης κατά Northern (Northern blot) [165]. Από την άλλη μεριά, οι Ji και συνεργάτες ανίχνευσαν την παρουσία του KISS1R μέσω ανοσοϊστοχημείας, καθώς και του mRNA του μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφάσης (reverse transcriptase – polymerase chain reaction), τόσο στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου, όσο και στον αντίστοιχο καρκινικό ιστό και διαπίστωσαν ότι τόσο η πρωτεΐνη όσο και το mRNA του *KISS1R* είναι μειωμένα στους νεοπλασματικούς ιστούς σε σχέση με τους υγιείς ιστούς. Ωστόσο, υψηλά επίπεδα του mRNA του *KISS1R* στους καρκινικούς ιστούς συσχετίστηκαν με συντομότερη επιβίωση [152]. Στην παρούσα έρευνα δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία του KISS1R μέσω

ανοσοϊστοχημείας στο φυσιολογικό παχύ έντερο ή τον καρκίνο του παχέος εντέρου, αλλά επιβεβαιώθηκε η ήδη γνωστή έκφρασή του στο φυσιολογικό ήπαρ [110, 119]. Η απουσία του υποδοχέα των κισσπεπτινών από το παχύ έντερο υποδεικνύει είτε την παρουσία ενός άλλου, ακόμα άγνωστου, υποδοχέα των κισσπεπτινών στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου είτε ότι οι κισσπεπτίνες παράγονται στο παχύ έντερο και δρουν σε απομακρυσμένες θέσεις, όπως το ήπαρ, το οποίο παράγει και KISS1 και KISS1R [110, 119], δέχεται το αίμα του γαστρεντερικού σωλήνα μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας και αποτελεί την πρώτη και πιο συχνή θέση μετάστασης των καρκίνων που αναπτύσσονται στο γαστρεντερικό σωλήνα [166].

Πέραν των σχετικών με τον καρκίνο του παχέος εντέρου αποτελεσμάτων, τα ευρήματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι η έκφραση της KISS1 είναι κατά πολύ υψηλότερη στο φυσιολογικό βλεννογόνο του στομάχου συγκριτικά με τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό. Επίσης, βρέθηκε ότι οι καρκίνοι στομάχου με πιο προχωρημένο στάδιο (σταδίου III ή IV), διάχυτο ιστολογικό τύπο ή/και αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση παράγουν λιγότερη KISS1 από τους καρκίνους στομάχου με πιο πρώιμο στάδιο (σταδίου I ή II), εντερικό ιστολογικό τύπο ή/και χωρίς αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση. Επιπλέον, οι γαστρικοί καρκίνοι στους γηραιότερους ασθενείς ( $\geq 70$  ετών) φαίνεται να έχουν υψηλότερη έκφραση της KISS1 σε σχέση με τους νεότερους ασθενείς ( $< 70$  ετών).

Λίγες έρευνες έχουν γίνει με αντικείμενο το ρόλο της KISS1 στον καρκίνο του στομάχου. Οι Dhar και συνεργάτες βρήκαν ότι η χαμηλή έκφραση της KISS1 στο γαστρικό καρκίνο συσχετίζεται με διήθηση φλεβών, απομακρυσμένες μεταστάσεις, υποτροπή του όγκου και χειρότερη συνολική και ελεύθερη νόσου επιβίωση [130]. Επίσης, οι Guan-Zhen και συνεργάτες μελέτησαν την ανοσοϊστοχημική χρώση για την KISS1 σε πρωτοπαθείς εστίες γαστρικών καρκίνων και σε μεταστάσεις αυτών



στους λεμφαδένες και στο ήπαρ και ανέφεραν ότι οι μεταστατικές βλάβες παράγουν λιγότερη KISS1 από τις πρωτοπαθείς εστίες [131]. Οι Yao και συνεργάτες χρησιμοποίησαν *in situ* υβριδισμό για την ανίχνευση της έκφρασης της KISS1 στους ιστούς γαστρικών καρκίνων και πέριξ αυτών και παρατήρησαν ότι οι γαστρικοί καρκίνοι έχουν χαμηλότερα επίπεδα KISS1 από τους γειτονικούς ιστούς. Ακόμη, βρήκαν ότι οι κακοήθεις όγκοι με πιο εκτεταμένη διήθηση (σταδίου T3 ή T4), λεμφαδενικές μεταστάσεις δευτέρου ή τρίτου επιπέδου ή/και απομακρυσμένες μεταστάσεις παράγουν λιγότερη KISS1 από τους κακοήθεις όγκους με μικρότερη έκταση διήθησης (σταδίου T1 ή T2), χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις ή με λεμφαδενικές μεταστάσεις πρώτου επιπέδου, και χωρίς απομακρυσμένες μεταστάσεις [167]. Επιπλέον, οι Wang και συνεργάτες ανέφεραν ότι η ανοσοϊστοχημική χρώση για την KISS1 είναι λιγότερο έντονη στους καρκίνους που εντοπίζονται στην καρδιακή μοίρα του στομάχου οι οποίοι έχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις και είναι προχωρημένου σταδίου, χωρίς όμως να υπάρχει συσχέτιση με τη διαφοροποίηση του νεοπλάσματος [168]. Οι Zheng και συνεργάτες επίσης κατέδειξαν διαταραχή της έκφρασης της KISS1 όσον αφορά τις λεμφαδενικές μεταστάσεις [169]. Από την άλλη μεριά, οι Ergen και συνεργάτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της KP-54 είναι υψηλότερα στους ασθενείς με καρκίνου στομάχου σε σύγκριση με τους υγιείς εθελοντές, αλλά χωρίς καμία συσχέτιση με κάποια κλινική ή παθολογοανατομική παράμετρο [170]. Αναφορικά με ορισμένες *in vitro* μελέτες σε κυτταρικές σειρές καρκίνου στομάχου, οι Yamashita και συνεργάτες ανίχνευσαν μεθυλίωση των γονιδίων *KISS1* και *KISS1R* [171], ενώ οι Lee και συνεργάτες και οι Li και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η KISS1 καταστέλλει την έκφραση της μεταλλοπρωτεΐνης-9, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό και το διηθητικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων [172, 173]

μέσω της ενεργοποίησης της οδού της κινάσης p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) [172].

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκε ότι η έκφραση της KISS1 είναι κατά πολύ υψηλότερη στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο συγκριτικά με τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό, υποδεικνύοντας ότι τα φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου παράγουν πολύ περισσότερη KISS1 από τα αντίστοιχα καρκινικά κύτταρα. Συνεπώς, η έκφραση της KISS1 ελαττώνεται κατά πολύ κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του στομάχου. Αυτά τα ευρήματα συνάδουν με τις ήδη γνωστές ογκοκατασταλτικές ιδιότητες των κισσπεπτινών. Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι πιο προχωρημένοι καρκίνοι στομάχου (σταδίου III ή IV) και οι καρκίνοι στομάχου με διάχυτο ιστολογικό τύπο, οι οποίοι έχουν πιο επιθετική συμπεριφορά και χειρότερη πρόγνωση από τους όγκους με εντερικό ιστολογικό τύπο [76, 77], όπως και οι καρκίνοι στομάχου με αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση, οι οποίοι είναι έτοιμοι να μετασταθούν, παράγουν λιγότερη KISS1 από τους υπολοίπους. Αυτά τα ευρήματα προτείνουν ότι όσο ο γαστρικός καρκίνος αναπτύσσεται, και ιδιαίτερα στις πιο επιθετικές μορφές του, η έκφραση της KISS1 μειώνεται, οδηγώντας σε αυξημένο διηθητικό και μεταστατικό των καρκινικών κυττάρων. Τέλος, το γεγονός ότι δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της διαφοράς στην έκφραση της KISS1 ανάμεσα στο φυσιολογικό και τον καρκινικό ιστό και διαφόρων κλινικών και παθολογοανατομικών παραμέτρων πιθανόν σημαίνει ότι τα πρότερα επίπεδα της έκφρασης της KISS1 στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο, από τον οποίο προέρχεται ο γαστρικός καρκίνος, δεν επηρεάζουν την έκφρασή της από τα καρκινικά κύτταρα, καθώς αυτός αναπτύσσεται.

Σε ό,τι αφορά τον KISS1R, δεν ανιχνεύθηκε καθόλου έκφραση στα κακοήθη κύτταρα του καρκίνου του στομάχου, ενώ μόλις ασθενής έκφρασή του βρέθηκε στα

επιθηλιακά κύτταρα του βασικού τμήματος του φυσιολογικού γαστρικού επιθηλίου. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν είτε την παρουσία ενός άλλου, ακόμα άγνωστου, υποδοχέα των κισσπεπτινών στο βλεννογόνο του στομάχου είτε ότι οι κισσπεπτίνες παράγονται στο στόμαχο και δρουν σε απομακρυσμένες θέσεις, όπως το ήπαρ, το οποίο παράγει και KISS1 και KISS1R [110, 119], δέχεται το αίμα του γαστρεντερικού σωλήνα μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας και αποτελεί την πρώτη και πιο συχνή θέση μετάστασης των καρκίνων που αναπτύσσονται στο γαστρεντερικό σωλήνα [166].

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η έκφραση της KISS1 ελαττώνεται κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου, οδηγώντας σε μειωμένα επίπεδα της KISS1 στα καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φυσιολογικά. Ωστόσο, φαίνεται ότι τα καρκινικά κύτταρα στον καρκίνο του παχέος εντέρου παράγουν περισσότερη KISS1 όσο ο όγκος αυξάνεται σε μέγεθος ή/και μεθίσταται στους επιχώριους λεμφαδένες ή σε απομακρυσμένες θέσεις, αλλά χωρίς να μπορούν να φτάσουν τα πρότερα φυσιολογικά επίπεδα. Αυτή η αύξηση στην έκφραση της KISS1 φαίνεται να συσχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση, και ειδικότερα με πρωιμότερη υποτροπή και συντομότερη επιβίωση. Επιπλέον, οι προαναφερθείσες διαφορές ανάμεσα στο δεξιό και το αριστερό τμήμα του παχέος εντέρου σε σχέση με την έκφραση της KISS1 στο φυσιολογικό και τον καρκινικό ιστό πιθανόν υποδηλώνουν μία διαφορά μεταξύ του εγγύς και του άπω τμήματος του παχέος εντέρου σχετικά με τους υποκείμενους μηχανισμούς που ελέγχουν την έκφραση της KISS1. Επίσης, ο υποδοχέας των κισσπεπτινών, KISS1R, δεν ανιχνεύεται ούτε στους φυσιολογικούς ούτε στους καρκινικούς ιστούς του παχέος εντέρου, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι ούτε τα φυσιολογικά ούτε τα καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου παράγουν KISS1R.

Συνεπώς, η έκφραση της KISS1 στην πρωτοπαθή εστία του καρκίνου του παχέος εντέρου θα μπορούσε να αποτελέσει ένα χρήσιμο δείκτη, του οποίου τα αυξημένα επίπεδα υποδεικνύουν προχωρημένη νόσο και χειρότερη πρόγνωση. Η αύξηση της έκφρασης της KISS1 στα προχωρημένα στάδια του καρκίνου του παχέος εντέρου, καθώς τα καρκινικά κύτταρα μεθίστανται, παρά την αρχική μείωση κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου, πιθανόν υποδηλώνουν ότι οι κισσπεπτίνες δεν κατέχουν μόνο ανασταλτικές ιδιότητες που

εμποδίζουν την κυτταρική μετανάστευση και την ανάπτυξη των μεταστάσεων. Αυτό επίσης υποστηρίζεται και από τα ευρήματα άλλων μελετών που δείχνουν αυξημένα επίπεδα της KISS1 στα προχωρημένα στάδια άλλων κακοήθων νόσων όπως ο καρκίνος του μαστού, ο καρκίνος των ωοθηκών και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [110-114, 119, 120]. Οι κισσπεπτίνες είναι πιθανόν να κατέχουν και ιδιότητες που βοηθούν την εξέλιξη του καρκίνου, τουλάχιστον σε συγκεκριμένους τύπους ιστών και υπό συγκεκριμένες συνθήκες, ή να δρουν ως αμυντικός μηχανισμός κατά της κυτταρικής μετανάστευσης, ο οποίος ενεργοποιείται όταν τα καρκινικά κύτταρα επιχειρούν να μετασταθούν.

Όσον αφορά τον καρκίνο του στομάχου, η έκφραση της KISS1 ελαττώνεται κατά πολύ κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του στομάχου, οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή της KISS1 από τα καρκινικά κύτταρα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φυσιολογικά. Επιπλέον, η έκφραση της KISS1 ελαττώνεται περαιτέρω καθώς ο γαστρικός καρκίνος εξελίσσεται, και ιδιαίτερα στους πιο επιθετικούς τύπους του, και για αυτόν το λόγο οι όγκοι πιο προχωρημένου σταδίου και πιο επιθετικού ιστολογικού τύπου παράγουν λιγότερη KISS1 από τους όγκους πιο πρώιμου σταδίου και λιγότερο επιθετικού ιστολογικού τύπου. Συνεπώς, τα μειωμένα επίπεδα της KISS1 θα μπορούσαν να αποτελέσουν δείκτη προχωρημένου ή/και πιο επιθετικού καρκίνου του στομάχου. Αναφορικά με τον KISS1R, δεν παράγεται καθόλου στα κακοήθη κύτταρα του καρκίνου του στομάχου, ενώ μόλις ασθενής έκφρασή του ανευρίσκεται στα επιθηλιακά κύτταρα του βασικού τμήματος του φυσιολογικού γαστρικού επιθηλίου.

Καταλήγοντας, είναι δυνατόν να ειπωθεί ότι η έκφραση της KISS1 στον καρκινικό ιστό μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο δείκτη τόσο στον καρκίνο του παχέος εντέρου όσο και στον καρκίνο του στομάχου. Τα αυξημένα επίπεδα της KISS1 στον καρκίνο

του παχέος εντέρου υποδεικνύουν προχωρημένη νόσο και χειρότερη πρόγνωση, ενώ τα μειωμένα επίπεδα της KISS1 στον καρκίνο του στομάχου υποδεικνύουν προχωρημένη και πιο επιθετική νόσο. Η διαφορά αυτή μεταξύ των δύο κακοήθων νόσων πιθανώς καταδεικνύει εμπλοκή διαφορετικών μηχανισμών ρύθμισης και δράσης της KISS1, και επομένως και των κισσπεπτινών, στα δύο είδη καρκίνων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Οι κισσπεπτίνες (kisspeptins), τα προϊόντα του γονιδίου *KISS1*, αναστέλλουν την κυτταρική μετανάστευση, τη μετάσταση, τη διήθηση των γειτονικών ιστών και την αγγειογένεση και επάγουν την κυτταρική απόπτωση σε διάφορα είδη καρκίνων. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η έκφραση της πρόδρομης των κισσπεπτινών πρωτεΐνης, *KISS1*, και του υποδοχέα τους, *KISS1R*, στον καρκίνο του παχέος εντέρου και στον καρκίνο του στομάχου.

**Μέθοδοι:** Η μελέτη της έκφρασης της *KISS1* και του *KISS1R* έγινε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας μέσω πολυκλωνικών αντισωμάτων εναντίον των συγκεκριμένων πρωτεϊνών και ανάλυσης εικόνας των ιστικών τομών σε δείγματα φυσιολογικού και καρκινικού ιστού 151 ασθενών. Οι 111 ασθενείς είχαν αδenoκαρκίνωμα παχέος εντέρου και οι 40 ασθενείς είχαν αδenoκαρκίνωμα στομάχου. Τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με διάφορες κλινικές και παθολογοανατομικές παραμέτρους.

**Αποτελέσματα:** Όσον αφορά τον καρκίνο του παχέος εντέρου, η έκφραση της *KISS1* ήταν κατά πολύ υψηλότερη στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό. Σε ό,τι αφορά τους καρκινικούς ιστούς, τα επίπεδα της *KISS1* ήταν υψηλότερα στους μεγαλύτερους όγκους (διαμέτρου  $\geq 4$  cm), στους καρκίνους σταδίου III ή IV, στους καρκίνους με λεμφαδενικές μεταστάσεις και στους όγκους που εντοπίζονται στο άπω τμήμα του παχέος εντέρου. Οι ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα της *KISS1* στον καρκίνο του παχέος εντέρου είχαν χειρότερη ειδική για τη νόσο επιβίωση και επιβίωση χωρίς υποτροπή. Η έκφραση της *KISS1* στους φυσιολογικούς ιστούς και η διαφορά της από αυτή των καρκινικών ιστών ήταν μεγαλύτερες στο εγγύς τμήμα του παχέος εντέρου και στους γηραιότερους ασθενείς (ηλικίας  $\geq 70$  ετών). Η διαφορά ανάμεσα στους φυσιολογικούς και τους καρκινικούς ιστούς ήταν επίσης μεγαλύτερη στους όγκους σταδίου T4. Δεν

ανιχνεύθηκε έκφραση του KISS1R στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου, τους καρκινικούς ιστούς ή τις ηπατικές μεταστάσεις. Αναφορικά με τον καρκίνο του στομάχου, η έκφραση της KISS1 ήταν κατά πολύ υψηλότερη στο φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο σε σύγκριση με τον αντίστοιχο καρκινικό ιστό. Τα επίπεδα της KISS1 ήταν υψηλότερα στους καρκίνους σταδίου I ή II, στους όγκους εντερικού ιστολογικού τύπου, στους όγκους χωρίς αγγειακή ή λεμφαγγειακή διήθηση και στους καρκίνους γηραιότερων ασθενών (ηλικίας  $\geq 70$  ετών). Δεν ανιχνεύθηκε έκφραση του KISS1R στους καρκινικούς ιστούς, ενώ μόλις ασθενής έκφραση του KISS1R ανιχνεύθηκε στο φυσιολογικό γαστρικό επιθήλιο.

**Συμπεράσματα:** Η έκφραση της KISS1 ελαττώνεται κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου και του στομάχου. Σε ό,τι αφορά το παχύ έντερο, οι μεγαλύτεροι και πιο προχωρημένοι καρκίνοι παράγουν περισσότερη KISS1, χωρίς όμως να μπορούν να φτάσουν τα πρότερα επίπεδα του φυσιολογικού βλεννογόνου, και τα αυξημένα επίπεδά της συσχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση. Υπάρχει επίσης διαφορά στην έκφραση της KISS1 μεταξύ του εγγύς και του άπω τμήματος του παχέος εντέρου. Ακόμη, ούτε τα φυσιολογικά ούτε τα καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου παράγουν KISS1R. Όσον αφορά το στόμαχο, οι καρκίνοι πιο προχωρημένου σταδίου και πιο επιθετικού ιστολογικού τύπου παράγουν λιγότερη KISS1. Επίσης, τα καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου δεν παράγουν KISS1R, ενώ το φυσιολογικό γαστρικό επιθήλιο έχει ασθενή έκφραση KISS1R. Η διαφορά αυτή μεταξύ των δύο κακοήθων νόσων πιθανώς καταδεικνύει εμπλοκή διαφορετικών μηχανισμών ρύθμισης και δράσης της KISS1, και επομένως και των κισσπεπτινών, στα δύο αυτά είδη καρκίνων.



**Λέξεις κλειδιά:** κισσπεπτίνη, kissreptin, KISS1, KISS1R, καρκίνος παχέος εντέρου, καρκίνος στομάχου, παχύ έντερο, στομάχος, ανοσοϊστοχημεία

## ABSTRACT

**Introduction:** Kisspeptins, the products of the *KISS1* gene, inhibit cellular migration, metastasis, invasion of adjacent tissues and angiogenesis and induce cellular apoptosis in various types of cancers. In this study, the expression of the precursor protein of kisspeptins, KISS1, and their receptor, KISS1R, was studied in colorectal cancer and gastric cancer.

**Methods:** The study of KISS1 and KISS1R expression was done by using immunohistochemistry with polyclonal antibodies against these proteins and image analysis of histological sections in specimens from normal and malignant tissue of 151 patients. 111 patients had colorectal adenocarcinoma and 40 patients had gastric adenocarcinoma. The results were associated with various clinicopathological parameters.

**Results:** Concerning colorectal cancer, KISS1 expression was much higher in the normal mucosa of the large intestine in comparison with the corresponding malignant tissue. In regard to the malignant tissues, KISS1 levels were higher in larger tumors (diameter  $\geq 4$  cm), stage III or IV cancers, cancers with lymph node metastases and tumors located in the distal part of the large intestine. Patients with higher KISS1 levels in colorectal cancer had worse disease-specific survival and progression-free survival. KISS1 expression in normal tissues and its difference from this of malignant tissues were greater in the proximal part of the large intestine and in older patients (age  $\geq 70$  years). The difference between normal and malignant tissues was also greater in T4 tumors. No expression of KISS1R was detected in the normal mucosa of the large intestine, the malignant tissues or the liver metastases. Regarding gastric cancer, KISS1 expression was much higher in the normal gastric mucosa than in the corresponding malignant tissue. KISS1 levels were higher in stage I or II cancers,

tumors with intestinal histological type, tumors without vascular or lymphovascular invasion and cancers of older patients (age  $\geq 70$  years). No expression of KISS1R was detected in the malignant tissues, whereas only weak expression was detected in the normal gastric epithelium.

**Conclusions:** The expression of KISS1 is decreased during the malignant transformation of the mucosa of the large intestine and the stomach. Concerning the large intestine, larger and more advanced cancers produce more KISS1, but without being able to reach the former levels of the normal mucosa, and its increased levels are associated with worse prognosis. There is also difference in KISS1 expression between the proximal and the distal part of the large intestine. Moreover, neither normal nor malignant epithelial cells of the large intestine produce KISS1R. Regarding the stomach, more advanced and with more aggressive histological type cancers produce less KISS1. Furthermore, malignant gastric epithelial cells do not produce KISS1R, whereas normal gastric epithelium has weak KISS1R expression. The discrepancy between these two malignant diseases may imply the involvement of different mechanisms for KISS1 regulation and action, and therefore also for kisspeptins, in these two types of cancers.

**Key words:** kisspeptin, KISS1, KISS1R, colorectal cancer, gastric cancer, large intestine, stomach, immunohistochemistry

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Κατρίτσης Ε, Παπαδόπουλος Ν. Πεπτικό σύστημα. Στο: Ανατομική του ανθρώπου. Τόμος ΙΙΙ. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, Ελλάδα, 2002: 11-114.
2. Vander A, Sherman J, Luciano D, Τσακόπουλος Μ. Πέψη και απορρόφηση των τροφών. Στο: Φυσιολογία του ανθρώπου, 8<sup>η</sup> έκδοση. Τόμος ΙΙ. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 2001: 735-782.
3. Burkitt HG, Young B, Heath JW. Γαστρεντερική οδός. Στο: Wheater's λειτουργική ιστολογία, 3<sup>η</sup> έκδοση. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 2002: 391-428.
4. McPhee S, Μουτσόπουλος Χ. Νοσήματα του γαστρεντερικού συστήματος. Στο: Παθολογική φυσιολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, Ελλάδα, 2000: 451-496.
5. Burkitt HG, Young B, Heath JW. Ήπαρ και πάγκρεας. Στο: Wheater's λειτουργική ιστολογία, 3<sup>η</sup> έκδοση. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 2002: 429-446.
6. McPhee S, Μουτσόπουλος Χ. Διαταραχές της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος. Στο: Παθολογική φυσιολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, Ελλάδα, 2000: 545-570.
7. McPhee S, Μουτσόπουλος Χ. Νοσήματα του ήπατος. Στο: Παθολογική φυσιολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, Ελλάδα, 2000: 497-544.
8. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. Lancet. 2014; 383(9927): 1490-1502.
9. Labianca R, Beretta GD, Kildani B, Milesi L, Merlin F, Mosconi S, Pessi MA, Prochilo T, Quadri A, Gatta G, de Braud F, Wils J. Colon cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2010; 74(2): 106-133.

10. Benson AB 3rd. Epidemiology, disease progression, and economic burden of colorectal cancer. *J Manag Care Pharm.* 2007; 13(6 Suppl C): S5-S18.
11. Boyle P, Leon ME. Epidemiology of colorectal cancer. *Br Med Bull.* 2002; 64: 1-25.
12. Faivre J, Bouvier AM, Bonithon-Kopp C. Epidemiology and screening of colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002; 16(2): 187-199.
13. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol.* 2003; 16(4): 376-388.
14. Ponz de Leon M, Marino M, Benatti P, Rossi G, Menigatti M, Pedroni M, Di Gregorio C, Losi L, Borghi F, Scarselli A, Ponti G, Roncari B, Zangardi G, Abbati G, Ascari E, Roncucci L. Trend of incidence, subsite distribution and staging of colorectal neoplasms in the 15-year experience of a specialised cancer registry. *Ann Oncol.* 2004; 15(6): 940-946.
15. Ghahremani GG, Dowlatshahi K. Colorectal carcinomas: diagnostic implications of their changing frequency and anatomic distribution. *World J Surg.* 1989; 13(3): 321-324.
16. Rougier P, Mitry E. Epidemiology, treatment and chemoprevention in colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2003; 14(Suppl 2): ii3-ii5.
17. Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Biology of colorectal cancer. *Ecancermedicalsecience.* 2015; 9: 520.
18. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. *Ann Gastroenterol.* 2014; 27(1): 9-14.
19. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012; 27(9): 1423-1431.

20. Migliore L, Migheli F, Spisni R, Coppedè F. Genetics, cytogenetics, and epigenetics of colorectal cancer. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 792362.
21. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2009; 361(25): 2449-2460.
22. Rustgi AK. The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev.* 2007; 21(20): 2525-2538.
23. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, Leggett BA. Colorectal carcinogenesis: road maps to cancer. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(28): 3784-3791.
24. Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Dammacco F. Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol.* 2013; 43(4): 973-984.
25. Mansoor S, Dolkar T, El-Fanek H. Polyps and polypoid lesions of the colon. *Int J Surg Pathol.* 2013; 21(3): 215-223.
26. Yamane L, Scapulatempo-Neto C, Reis RM, Guimarães DP. Serrated pathway in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(10): 2634-2640.
27. Szyłberg Ł, Janiczek M, Popiel A, Marszałek A. Serrated polyps and their alternative pathway to the colorectal cancer: a systematic review. *Gastroenterol Res Pract.* 2015; 2015: 573814.
28. Schulmann K, Reiser M, Schmiegel W. Colonic cancer and polyps. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002; 16(1): 91-114.
29. Arends MJ. Pathways of colorectal carcinogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013; 21(2): 97-102.
30. Cardoso J, Boer J, Morreau H, Fodde R. Expression and genomic profiling of colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1775(1): 103-137.
31. Molatore S, Ranzani GN. Genetics of colorectal polyps. *Tech Coloproctol.* 2004; 8(Suppl 2): S240-S242.

32. Κωστάκης ΑΙ. Παθήσεις του παχέος εντέρου. Στο: Σύγχρονη χειρουργική διαγνωστική και θεραπευτική. Τόμος ΙΙ. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 2005: 1041-1088.
33. Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Colon and rectum. In: Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice, 19<sup>th</sup> edition. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, USA, 2012: 1294-1380.
34. Brunickardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RE. Colon, rectum, and anus. In: Schwartz's principles of surgery, 10<sup>th</sup> edition. McGraw-Hill Education, Columbus, OH, USA: 1175-1240.
35. Kekelidze M, D'Errico L, Pansini M, Tyndall A, Hohmann J. Colorectal cancer: current imaging methods and future perspectives for the diagnosis, staging and therapeutic response evaluation. World J Gastroenterol. 2013; 19(46): 8502-8514.
36. Shin SS, Jeong YY, Min JJ, Kim HR, Chung TW, Kang HK. Preoperative staging of colorectal cancer: CT vs. integrated FDG PET/CT. Abdom Imaging. 2008; 33(3): 270-277.
37. Iyer R. Imaging colorectal cancer. Semin Roentgenol. 2006; 41(2): 113-120.
38. Heo SH, Kim JW, Shin SS, Jeong YY, Kang HK. Multimodal imaging evaluation in staging of rectal cancer. World J Gastroenterol. 2014; 20(15): 4244-4255.
39. Raman SP, Chen Y, Fishman EK. Evolution of imaging in rectal cancer: multimodality imaging with MDCT, MRI, and PET. J Gastrointest Oncol. 2015; 6(2): 172-184.
40. Sprouse T, Jensen CT, Vicens R, Ernst R, Bhosale P. Local magnetic resonance imaging staging of rectal adenocarcinoma. J Comput Assist Tomogr. 2014; 38(6): 885-889.

41. Lu YY, Chen JH, Ding HJ, Chien CR, Lin WY, Kao CH. A systematic review and meta-analysis of pretherapeutic lymph node staging of colorectal cancer by 18F-FDG PET or PET/CT. *Nucl Med Commun.* 2012; 33(11): 1127-1133.
42. Lin M, Wong K, Ng WL, Shon IH, Morgan M. Positron emission tomography and colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2011; 77(1): 30-47.
43. Fahy BN. Follow-up after curative resection of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2014; 21(3): 738-746.
44. Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, Nicolini A, Kalousová M, Holubec L, Sturgeon C. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. *Int J Cancer.* 2014; 134(11): 2513-2522.
45. Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, Lamerz R, Peltomaki P, Sturgeon C, Topolcan O. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer.* 2007; 43(9): 1348-1360.
46. Bendardaf R, Lamlum H, Pyrhönen S. Prognostic and predictive molecular markers in colorectal carcinoma. *Anticancer Res.* 2004; 24(4): 2519-2530.
47. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandalà M, Cervantes A, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Early colon cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013; 24(Suppl 6): vi64-vi72.
48. Glimelius B, Tiret E, Cervantes A, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Rectal cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013; 24(Suppl 6): vi81-vi8.



49. NCCN Guidelines Panel. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines), Colon Cancer, Version 3.2015. National Comprehensive Cancer Network. Fort Washington, Pennsylvania, USA, 2015: MS2-MS54.
50. NCCN Guidelines Panel. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines), Rectal Cancer, Version 3.2015. National Comprehensive Cancer Network. Fort Washington, Pennsylvania, USA, 2015: MS2-MS43.
51. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH. Colon and rectum. In: TNM Classification of Malignant Tumours, 7th edition. International Union Against Cancer. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, UK, 2010: 100-105.
52. Van Cutsem E, Nordlinger B, Cervantes A; ESMO Guidelines Working Group. Advanced colorectal cancer: ESMO clinical practice guidelines for treatment. *Ann Oncol.* 2010; 21(Suppl 5): v93-v97.
53. Van Cutsem E, Cervantes A, Nordlinger B, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Metastatic colorectal cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014; 25(Suppl 3): iii1-iii9.
54. González CA, Sala N, Rokkas T. Gastric cancer: epidemiologic aspects. *Helicobacter.* 2013; 18(Suppl 1): 34-38.
55. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2006; 12(3): 354-362.
56. Spolverato G, Ejaz A, Kim Y, Squires MH, Poultides GA, Fields RC, Schmidt C, Weber SM, Votanopoulos K, Maithel SK, Pawlik TM. Rates and patterns of recurrence after curative intent resection for gastric cancer: a United States multi-institutional analysis. *J Am Coll Surg.* 2014; 219(4): 664-675.
57. Fock KM. Review article: the epidemiology and prevention of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014; 40(3): 250-260.

58. Piazuolo MB, Correa P. Gastric cancer: Overview. *Colomb Med (Cali)*. 2013; 44(3): 192-201.
59. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014; 23(5): 700-713.
60. Lee YY, Derakhshan MH. Environmental and lifestyle risk factors of gastric cancer. *Arch Iran Med*. 2013; 16(6): 358-365.
61. Guggenheim DE, Shah MA. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Surg Oncol*. 2013; 107(3): 230-236.
62. Lochhead P, El-Omar EM. Gastric cancer. *Br Med Bull*. 2008; 85: 87-100.
63. Nakanishi Y, Ohara M, Domen H, Shichinohe T, Hirano S, Ishizaka M. Differences in risk factors between patterns of recurrence in patients after curative resection for advanced gastric carcinoma. *World J Surg Oncol*. 2013; 11: 98.
64. Deng J, Liang H, Wang D, Sun D, Pan Y, Liu Y. Investigation of the recurrence patterns of gastric cancer following a curative resection. *Surg Today*. 2011; 41(2): 210-215.
65. D'Angelica M, Gonen M, Brennan MF, Turnbull AD, Bains M, Karpeh MS. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2004; 240(5): 808-816.
66. Yang W, Raufi A, Klempner SJ. Targeted therapy for gastric cancer: molecular pathways and ongoing investigations. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1846(1): 232-237.
67. Grabsch HI, Tan P. Gastric cancer pathology and underlying molecular mechanisms. *Dig Surg*. 2013; 30(2): 150-158.

68. Nobili S, Bruno L, Landini I, Napoli C, Bechi P, Tonelli F, Rubio CA, Mini E, Nesi G. Genomic and genetic alterations influence the progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2011; 17(3): 290-299.
69. Yamashita K, Sakuramoto S, Watanabe M. Genomic and epigenetic profiles of gastric cancer: potential diagnostic and therapeutic applications. *Surg Today*. 2011; 41(1): 24-38.
70. Resende C, Ristimäki A, Machado JC. Genetic and epigenetic alteration in gastric carcinogenesis. *Helicobacter*. 2010; 15(Suppl 1): 34-39.
71. Panani AD. Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer: clinical implications. *Cancer Lett*. 2008; 266(2): 99-115.
72. Vauhkonen M, Vauhkonen H, Sipponen P. Pathology and molecular biology of gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2006; 20(4): 651-674.
73. Pinheiro H, Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Hereditary diffuse gastric cancer - pathophysiology and clinical management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2014; 28(6): 1055-1068.
74. Carneiro F. Hereditary gastric cancer. *Pathologe*. 2012; 33(Suppl 2): 231-234.
75. Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Hereditary gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2009; 23(2): 147-157.
76. Sarbia M, Becker KF, Höfler H. Pathology of upper gastrointestinal malignancies. *Semin Oncol*. 2004; 31(4): 465-475.
77. Berlth F, Bollschweiler E, Drebber U, Hoelscher AH, Moenig S. Pathohistological classification systems in gastric cancer: diagnostic relevance and prognostic value. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(19): 5679-5684.

78. Κωστάκης ΑΙ. Παθήσεις στομάχου - δωδεκαδακτύλου. Στο: Σύγχρονη χειρουργική διαγνωστική και θεραπευτική. Τόμος Π. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 2005: 977-1026.
79. Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Stomach. In: Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice, 19<sup>th</sup> edition. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, USA, 2012: 1182-1226.
80. Brunicaudi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RE. Stomach. In: Schwartz's principles of surgery, 10<sup>th</sup> edition. McGraw-Hill Education, Columbus, OH, USA: 1035-1098.
81. Hallinan JT, Venkatesh SK. Gastric carcinoma: imaging diagnosis, staging and assessment of treatment response. *Cancer Imaging*. 2013; 13: 212-227.
82. Cardoso R, Coburn N, Seevaratnam R, Sutradhar R, Lourenco LG, Mahar A, Law C, Yong E, Tinmouth J. A systematic review and meta-analysis of the utility of EUS for preoperative staging for gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2012; 15(Suppl 1): S19-S26.
83. Polkowski M. Endosonographic staging of upper intestinal malignancy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2009; 23(5): 649-661.
84. Hargunani R, Maclachlan J, Kaniyur S, Power N, Pereira SP, Malhotra A. Cross-sectional imaging of gastric neoplasia. *Clin Radiol*. 2009; 64(4): 420-429.
85. Choi JI, Joo I, Lee JM. State-of-the-art preoperative staging of gastric cancer by MDCT and magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(16): 4546-4557.
86. Ahn HS, Kim SH, Kodera Y, Yang HK. Gastric cancer staging with radiologic imaging modalities and UICC staging system. *Dig Surg*. 2013; 30(2): 142-149.

87. Wu CX, Zhu ZH. Diagnosis and evaluation of gastric cancer by positron emission tomography. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(16): 4574-4585.
88. Yun M. Imaging of Gastric Cancer Metabolism Using 18 F-FDG PET/CT. *J Gastric Cancer.* 2014; 14(1): 1-6.
89. De Andrade JP, Mezhir JJ. The critical role of peritoneal cytology in the staging of gastric cancer: an evidence-based review. *J Surg Oncol.* 2014; 110(3): 291-297.
90. Wong J, Coit D. Detection of gastric cancer peritoneal metastases by peritoneal lavage: Current limitations and future perspectives. *Surgery.* 2012; 152(1): 1-4.
91. Leake PA, Cardoso R, Seevaratnam R, Lourenco L, Helyer L, Mahar A, Law C, Coburn NG. A systematic review of the accuracy and indications for diagnostic laparoscopy prior to curative-intent resection of gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2012; 15(Suppl 1): S38-S47.
92. Chang L, Stefanidis D, Richardson WS, Earle DB, Fanelli RD. The role of staging laparoscopy for intraabdominal cancers: an evidence-based review. *Surg Endosc.* 2009; 23(2): 231-241.
93. Kim HJ, D'Angelica M, Hiotis SP, Shoup M, Weber SM. Laparoscopic staging for liver, biliary, pancreas, and gastric cancer. *Curr Probl Surg.* 2007; 44(4): 228-269.
94. Waddell T, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D; European Society for Medical Oncology (ESMO); European Society of Surgical Oncology (ESSO); European Society of Radiotherapy and Oncology (ESTRO). Gastric cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Eur J Surg Oncol.* 2014; 40(5): 584-591.
95. NCCN Guidelines Panel. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines), Gastric Cancer, Version 3.2015. National Comprehensive Cancer Network. Fort Washington, Pennsylvania, USA, 2015: MS2-MS32.

96. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH. Stomach. In: TNM Classification of Malignant Tumours, 7th edition. International Union Against Cancer. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, UK, 2010: 73-77.
97. Νακοπούλου Α. Γενικές αρχές ανοσοϊστοχημείας. Στο: Ανοσοϊστοχημεία. Μοριακοί δείκτες στη διαγνωστική παθολογική ανατομική και στην πρόγνωση των κακοήθων νεοπλασμάτων. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 1999: 13-30.
98. Böcker HW, Denk H, Heitz PU. Θέματα παθολογικής ανατομικής. Στο: Παθολογική ανατομική. Τόμος Ι. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 2007: 5-50.
99. Kumar V. Immunofluorescence and enzyme immunomicroscopy methods. J Immunoassay. 2000; 21(2-3): 235-253.
100. Aoki V, Sousa JX Jr, Fukumori LM, Périgo AM, Freitas EL, Oliveira ZN. Direct and indirect immunofluorescence. An Bras Dermatol. 2010; 85(4): 490-500.
101. Bratthauer GL. The peroxidase-antiperoxidase (PAP) method and other all-immunologic detection methods. Methods Mol Biol. 1999; 115: 191-201.
102. Bratthauer GL. The avidin-biotin complex (ABC) method and other avidin-biotin binding methods. Methods Mol Biol. 1999; 115: 203-214.
103. Νακοπούλου Α. Γενικές αρχές ανοσοϊστοχημείας. Στο: Ανοσοϊστοχημεία. Μοριακοί δείκτες στη διαγνωστική παθολογική ανατομική και στην πρόγνωση των κακοήθων νεοπλασμάτων. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 1999: 31-68.
104. Lin F, Liu H. Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm/tumor of uncertain origin. Arch Pathol Lab Med. 2014; 138(12): 1583-1610.

105. Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132(3): 326-348.
106. Wick MR. Immunohistochemical approaches to the diagnosis of undifferentiated malignant tumors. *Ann Diagn Pathol.* 2008; 12(1): 72-84.
107. Νακοπούλου Λ. Γενικές αρχές ανοσοϊστοχημείας. Στο: *Ανοσοϊστοχημεία. Μοριακοί δείκτες στη διαγνωστική παθολογική ανατομική και στην πρόγνωση των κακοήθων νεοπλασμάτων.* Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Ελλάδα, 1999: 69-110.
108. Søland TM, Brusevold IJ. Prognostic molecular markers in cancer - quo vadis? *Histopathology.* 2013; 63(3): 297-308.
109. Aftimos PG, Barthelemy P, Awada A. Molecular biology in medical oncology: diagnosis, prognosis, and precision medicine. *Discov Med.* 2014; 17(92): 81-91.
110. Makri A, Pissimissis N, Lembessis P, Polychronakos C, Koutsilieris M. The kisspeptin (KiSS-1)/GPR54 system in cancer biology. *Cancer Treat Rev.* 2008; 34(8): 682-692.
111. Beck BH, Welch DR. The KISS1 metastasis suppressor: a good night kiss for disseminated cancer cells. *Eur J Cancer.* 2010; 46(7): 1283-1289.
112. Cho SG, Li D, Tan K, Siwko SK, Liu M. KiSS1 and its G-protein-coupled receptor GPR54 in cancer development and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2012; 31(3-4): 585-591.
113. Ji K, Ye L, Mason MD, Jiang WG. The Kiss-1/Kiss-1R complex as a negative regulator of cell motility and cancer metastasis (Review). *Int J Mol Med.* 2013; 32(4): 747-754.
114. Cvetković D, Babwah AV, Bhattacharya M. Kisspeptin/KISS1R System in Breast Cancer. *J Cancer.* 2013; 4(8): 653-661.

115. Papaoiconomou E, Msaouel P, Makri A, Diamanti-Kandarakis E, Koutsilieris M. The role of kisspeptin/GPR54 in the reproductive system. *In Vivo*. 2011; 25(3): 343-354.
116. Izzi-Engbeaya C, Meeran K, Dhillon WS. Kisspeptin is providing new insights into the control of reproduction. *Clin Med*. 2013; 13(6): 547-548.
117. Rhie YJ. Kisspeptin/G protein-coupled receptor-54 system as an essential gatekeeper of pubertal development. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2013; 18(2): 55-59.
118. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update*. 2014; 20(4): 485-500.
119. Kirby HR, Maguire JJ, Colledge WH, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXVII. Kisspeptin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol Rev*. 2010; 62(4): 565-578.
120. Prabhu VV, Sakthivel KM, Guruvayoorappan C. Kisspeptins (KiSS-1): essential players in suppressing tumor metastasis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013; 14(11): 6215-6220.
121. Shirasaki F, Takata M, Hatta N, Takehara K. Loss of expression of the metastasis suppressor gene KiSS1 during melanoma progression and its association with LOH of chromosome 6q16.3-q23. *Cancer Res*. 2001; 61(20): 7422-7425.
122. Kostadima L, Pentheroudakis G, Pavlidis N. The missing kiss of life: transcriptional activity of the metastasis suppressor gene KiSS1 in early breast cancer. *Anticancer Res*. 2007; 27(4B): 2499-2504.
123. Stark AM, Tongers K, Maass N, Mehdorn HM, Held-Feindt J. Reduced metastasis-suppressor gene mRNA-expression in breast cancer brain metastases. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005; 131(3): 191-198.



124. Martin TA, Watkins G, Jiang WG. KiSS-1 expression in human breast cancer. *Clin Exp Metastasis*. 2005; 22(6): 503-511.
125. Marot D, Bieche I, Aumas C, Esselin S, Bouquet C, Vacher S, Lazennec G, Perricaudet M, Kuttann F, Lidereau R, de Roux N. High tumoral levels of Kiss1 and G-protein-coupled receptor 54 expression are correlated with poor prognosis of estrogen receptor-positive breast tumors. *Endocr Relat Cancer*. 2007; 14(3): 691-702.
126. Prentice LM, Klausen C, Kalloger S, Köbel M, McKinney S, Santos JL, Kenney C, Mehl E, Gilks CB, Leung P, Swenerton K, Huntsman DG, Aparicio SA. Kisspeptin and GPR54 immunoreactivity in a cohort of 518 patients defines favourable prognosis and clear cell subtype in ovarian carcinoma. *BMC Med*. 2007; 5: 33.
127. Hata K, Dhar DK, Watanabe Y, Nakai H, Hoshiai H. Expression of metastin and a G-protein-coupled receptor (AXOR12) in epithelial ovarian cancer. *Eur J Cancer*. 2007; 43(9): 1452-1459.
128. Jiang T, Zhang SL, Lin B, Meng LR, Gao H. Expression and clinical significance of KISS-1 and GPR54 mRNA in endometrial carcinoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2005; 27(4): 229-231.
129. Ikeguchi M, Yamaguchi K, Kaibara N. Clinical significance of the loss of KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004; 10(4): 1379-1383.
130. Dhar DK, Naora H, Kubota H, Maruyama R, Yoshimura H, Tonomoto Y, Tachibana M, Ono T, Otani H, Nagasue N. Downregulation of KiSS-1 expression is responsible for tumor invasion and worse prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer*. 2004; 111(6): 868-872.

131. Guan-Zhen Y, Ying C, Can-Rong N, Guo-Dong W, Jian-Xin Q, Jie-Jun W. Reduced protein expression of metastasis-related genes (nm23, KISS1, KAI1 and p53) in lymph node and liver metastases of gastric cancer. *Int J Exp Pathol*. 2007; 88(3): 175-183.
132. Masui T, Doi R, Mori T, Toyoda E, Koizumi M, Kami K, Ito D, Peiper SC, Broach JR, Oishi S, Niida A, Fujii N, Imamura M. Metastin and its variant forms suppress migration of pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 315(1): 85-92.
133. Nagai K, Doi R, Katagiri F, Ito T, Kida A, Koizumi M, Masui T, Kawaguchi Y, Tomita K, Oishi S, Fujii N, Uemoto S. Prognostic value of metastin expression in human pancreatic cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009; 28: 9.
134. Ikeguchi M, Fukuda K, Yamaguchi K, Kondo A, Tsujitani S, Kaibara N. Quantitative analysis of heparanase gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10(3): 297-304.
135. Schmid K, Wang X, Haitel A, Sieghart W, Peck-Radosavljevic M, Bodingbauer M, Rasoul-Rockenschaub S, Wrba F. KiSS-1 overexpression as an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study. *Virchows Arch*. 2007; 450(2): 143-149.
136. Sanchez-Carbayo M, Capodici P, Cordon-Cardo C. Tumor suppressor role of KiSS-1 in bladder cancer: loss of KiSS-1 expression is associated with bladder cancer progression and clinical outcome. *Am J Pathol*. 2003; 162(2): 609-617.
137. Nicolle G, Comperat E, Nicolaiew N, Cancel-Tassin G, Cussenot O. Metastin (KISS-1) and metastin-coupled receptor (GPR54) expression in transitional cell carcinoma of the bladder. *Ann Oncol*. 2007; 18(3): 605-607.

138. Ringel MD, Hardy E, Bernet VJ, Burch HB, Schuppert F, Burman KD, Saji M. Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(5): 2399.
139. Cho SG, Wang Y, Rodriguez M, Tan K, Zhang W, Luo J, Li D, Liu M. Haploinsufficiency in the prometastasis Kiss1 receptor Gpr54 delays breast tumor initiation, progression, and lung metastasis. *Cancer Res.* 2011; 71(20): 6535-6546.
140. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. Tumours of the colon and rectum. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 4th edition. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. IARC Press, Lyon, France, 2010: 103-144.
141. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. Tumours of the stomach. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 4th edition. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. IARC Press, Lyon, France, 2010: 37-68.
142. Prasad K, Prabhu GK. Image analysis tools for evaluation of microscopic views of immunohistochemically stained specimen in medical research-a review. *J Med Syst.* 2012; 36: 2621-2631.
143. Wang CJ, Zhou ZG, Holmqvist A, Zhang H, Li Y, Adell G, Sun XF. Survivin expression quantified by Image Pro-Plus compared with visual assessment. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2009; 17: 530-535.
144. Parker AS, Lohse CM, Leibovich BC, Cheville JC, Sheinin YM, Kwon ED. Comparison of digital image analysis versus visual assessment to assess surviving expression as an independent predictor of survival for patients with clear cell renal cell carcinoma. *Hum Pathol.* 2008; 39: 1176-1184.

145. Forrest R, Guthrie GJ, Orange C, Horgan PG, McMillan DC, Roxburgh CS. Comparison of visual and automated assessment of tumour inflammatory infiltrates in patients with colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2014; 50: 544-552.
146. Mohammed ZM, Orange C, McMillan DC, Mallon E, Doughty JC, Edwards J, Going JJ. Comparison of visual and automated assessment of microvessel density and their impact on outcome in primary operable invasive ductal breast cancer. *Hum Pathol*. 2013; 44: 1688-1695.
147. Mohammed ZM, Going JJ, McMillan DC, Orange C, Mallon E, Doughty JC, Edwards J. Comparison of visual and automated assessment of HER2 status and their impact on outcome in primary operable invasive ductal breast cancer. *Histopathology*. 2012; 61: 675-684.
148. Varghese F, Bukhari AB, Malhotra R, De A. IHC Profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples. *PLoS ONE*. 2014; 9: e96801.
149. Liang QL, Chen XD, Wang SM, Li JW, Huang B, Xu YY, Chen XS. Expression of vascular endothelial growth factor and metastin in colorectal carcinoma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2007; 27: 1584-1587.
150. Moya P, Esteban S, Fernandez-Suarez A, Maestro M, Morente M, Sánchez-Carbayo M. KiSS-1 methylation and protein expression patterns contribute to diagnostic and prognostic assessments in tissue specimens for colorectal cancer. *Tumour Biol*. 2013; 34: 471-479.
151. Okugawa Y, Inoue Y, Tanaka K, Toiyama Y, Shimura T, Okigami M, Kawamoto A, Hiro J, Saigusa S, Mohri Y, Uchida K, Kusunoki M. Loss of the metastasis suppressor gene KiSS1 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in human colorectal cancer. *Oncol Rep*. 2013; 30: 1449-1454.

152. Ji K, Ye L, Ruge F, Hargest R, Mason MD, Jiang WG. Implication of metastasis suppressor gene, Kiss-1 and its receptor Kiss-1R in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2014; 14: 723.
153. Chen SQ, Chen ZH, Lin SY, Dai QB, Fu LX, Chen RQ. KISS1 methylation and expression as predictors of disease progression in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(29): 10071-10081.
154. Canbay E, Ergen A, Bugra D, Yamaner S, Eraltan IY, Buyukuncu Y, Bulut T. Kisspeptin-54 Levels are increased in patients with colorectal cancer. *World J Surg*. 2012; 36: 2218-2224.
155. Stathaki M, Armakolas A, Dimakakos A, Kaklamanis L, Vlachos I, Konstantoulakis MM, Zografos G, Koutsilieris M. Kisspeptin effect on endothelial monocyte activating polypeptide II (EMAP-II)-associated lymphocyte cell death and metastases in colorectal cancer patients. *Mol Med*. 2014; 20: 80-92.
156. Chen SQ, Tu MM, Dai QB, Lin SY, Ke CL. Kiss-1 gene expression after radiation and its association with proliferation and apoptosis in colorectal cancer cells. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2012; 15: 508-511.
157. Bretthauer M. Evidence for colorectal cancer screening. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010; 24: 417-425.
158. Jenkinson F, Steele RJ. Colorectal cancer screening - methodology. *Surgeon*. 2010; 8: 164-171.
159. Kapiteijn E, Liefers GJ, Los LC, Kranenbarg EK, Hermans J, Tollenaar RA, Moriya Y, van de Velde CJ, van Krieken JH. Mechanisms of oncogenesis in colon versus rectal cancer. *J Pathol*. 2001; 195: 171-178.

160. Minoo P, Zlobec I, Peterson M, Terracciano L, Lugli A. Characterization of rectal, proximal and distal colon cancers based on clinicopathological, molecular and protein profiles. *Int J Oncol.* 2010; 37: 707-718.
161. Sanz-Pamplona R, Cordero D, Berenguer A, Lejbkowitz F, Rennert H, Salazar R, Biondo S, Sanjuan X, Pujana MA, Rozek L, Giordano TJ, Ben-Izhak O, Cohen HI, Trougouboff P, Bejhar J, Sova Y, Rennert G, Gruber SB, Moreno V. Gene expression differences between colon and rectum tumors. *Clin Cancer Res.* 2011; 17(23): 7303-7312.
162. Li JN, Zhao L, Wu J, Wu B, Yang H, Zhang HH, Qian JM. Differences in gene expression profiles and carcinogenesis pathways between colon and rectal cancer. *J Dig Dis.* 2012; 13: 24-32.
163. Hong TS, Clark JW, Haigis KM. Cancers of the colon and rectum: identical or fraternal twins? *Cancer Discov.* 2012; 2: 117-121.
164. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature.* 2001; 411: 613-617.
165. Clements MK, McDonald TP, Wang R, Xie G, O'Dowd BF, George SR, Austin CP, Liu Q. FMRamide-related neuropeptides are agonists of the orphan G-protein-coupled receptor GPR54. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 284: 1189-1193.
166. Zeuzem S. Gut-liver axis. *Int J Colorectal Dis.* 2000; 15: 59-82.

167. Yao HL, Yang ZL, Li YG, Liu GW. In situ hybridization study on the expression of Kiss-1 and KAI-1 metastasis suppressor genes in gastric cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2007; 10(3): 274-277.
168. Wang ZH, Feng XS, Wang GP, Gao SG, Mi JQ, Sun JT, Qu ZF, Han J, Zhang L. Expression and clinical significance of KiSS-1 and E-cadherin in gastric cardia carcinoma. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2007; 10(4): 380-382.
169. Zheng HC, Yu AM, Xin Y. Aberrant expression of Kiss-1 and matrix metalloproteinase-9 are closely linked to lymph node metastasis of gastric cancer. *Chin Med Sci J*. 2008; 23(1): 63-64.
170. Ergen A, Canbay E, Bugra D, Zeybek U, Yamaner S, Bulut T. Plasma Kisspeptin-54 levels in gastric cancer patients. *Int J Surg*. 2012; 10(9): 551-554.
171. Yamashita S, Tsujino Y, Moriguchi K, Tatematsu M, Ushijima T. Chemical genomic screening for methylation-silenced genes in gastric cancer cell lines using 5-aza-2'-deoxycytidine treatment and oligonucleotide microarray. *Cancer Sci*. 2006; 97(1): 64-71.
172. Lee KH, Kim JR. Kiss-1 suppresses MMP-9 expression by activating p38 MAP kinase in human stomach cancer. *Oncol Res*. 2009; 18(2-3): 107-116.
173. Li N, Wang HX, Zhang J, Ye YP, He GY. KISS-1 inhibits the proliferation and invasion of gastric carcinoma cells. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(15): 1827-1833.