ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θέμα: Μελέτη της απόπτωσης σε καρκινώμα στομάχου

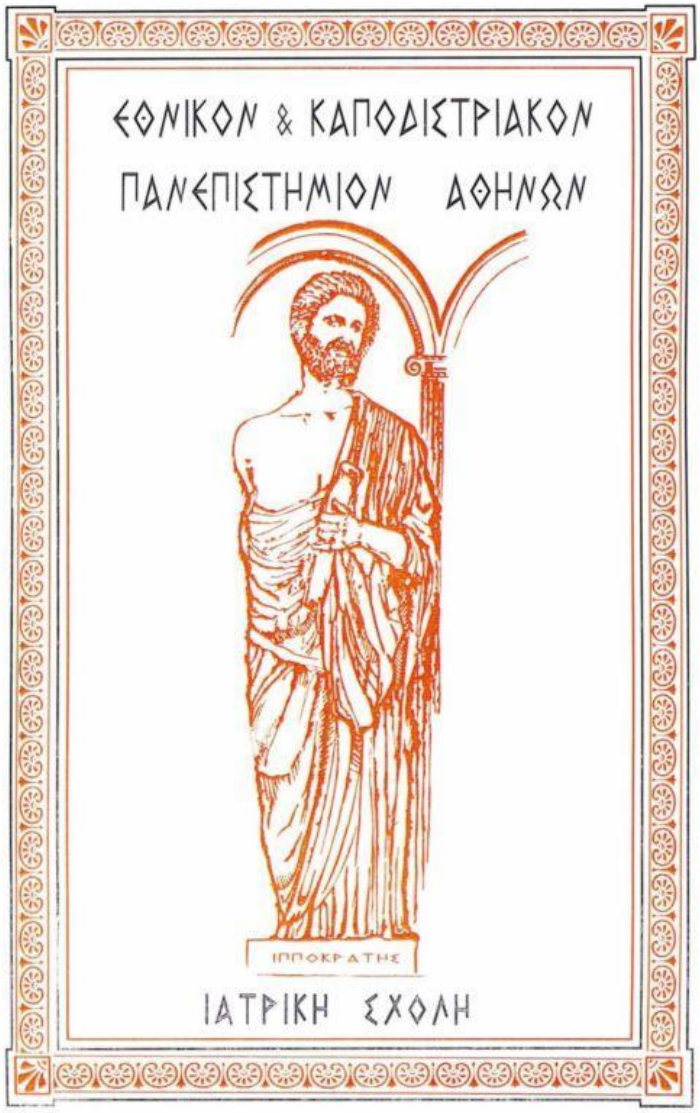
ΑΜΠΤΟΥΛΑΧ ΣΟΥΣΑΝΑ

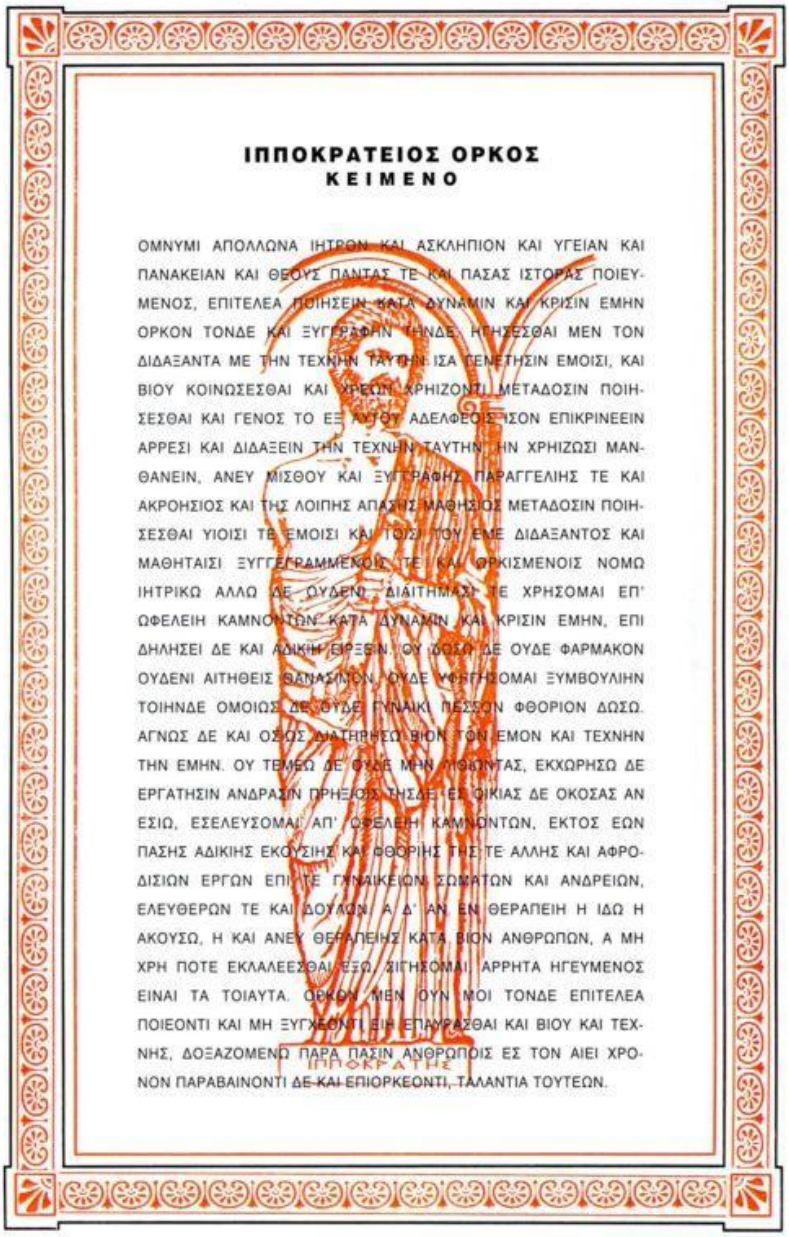
ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ ΟΓΚΟΛΟΓΟΣ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΥ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΑΘΗΝΑ 2014


ΕΘΝΙΚΟΝ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ
ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΙΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠΙ ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΩΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΙΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α, Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ. ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ. ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΑΒΑΡΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
Καθηγητής
Επιβλέπων Καθηγητής

ΠΑΤΣΟΥΡΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ
Καθηγητής

ΚΑΒΑΤΖΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
Αναπληρωτής Καθηγητής

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΑΒΑΡΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
Καθηγητής
Επιβλέπων Καθηγητής

ΠΑΤΣΟΥΡΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ
Καθηγητής

ΚΑΒΑΤΖΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
Αναπληρωτής Καθηγητής

ΚΑΨΕΟΓΙΩΡΓΟΥ ΕΥΣΤΑΘΙΑ
Επίκουρη Καθηγήτρια

ΣΥΨΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ
Αναπληρωτής Καθηγητής

ΣΟΥΓΙΟΥΛΤΖΗΣ ΣΤΑΥΡΟΣ
Επίκουρος Καθηγητής

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή γνώμων του συγγραφέα.

(Νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2)

Αφιερώνεται στους ασθενείς και τις οικογενειές τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες.....9
Συντμήσεις επιστημονικών όρων.....11
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ
Καρκίνος στομάχου.....13
Επιδημιολογία.....14
Αιτιολογικοί και προδιαθεσικοί παράγοντες.....15
Παθολογική ανατομική.....18
Μοριακή παθολογία του γαστρικού καρκινώματος.....24
Σταδιοποίηση.....27
Κλινική εικόνα.....30
Διάγνωση.....31
Προεγχειρητική σταδιοποίηση.....33
Θεραπεία.....34
Πρόγνωση.....36
Απόπτωση.....38
Διαφορές μεταξύ απόπτωσης και νέκρωσης.....39
Μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης.....42
Κασπάσες.....43
Βιοχημικά και μοριακά χαρακτηριστικά απόπτωσης.....46
Απόπτωση και καρκινογένεση.....53
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ
Σκοπός και στόχοι της μελέτης 59
Ασθενείς- Μέθοδος.....59
Στατιστική ανάλυση.....63
Αξιολόγηση αποτελεσμάτων.....64
Συζήτηση.....72
Συμπεράσματα.....75
Βιβλιογραφία.....76
Παράρτημα.....89
Ξενόγλωση δημοσίευση.....90
Βιογραφικό σημείωμα.....99

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή σχεδιάστηκε στο Ογκολογικό τμήμα της Κλινικής της Παθολογικής Φυσιολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λαικό και εκπονήθηκε σε συνεργασία με το 1^{ο} Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η ολοκλήρωση αυτής της εργασίας ήταν για μένα ένας σημαντικός στόχος. Όχι μόνο γιατί ήταν αποτέλεσμα αρκετής δουλειάς αλλά γιατί στη διεκπεραιωσή της με βοήθησαν επιστήμονες που πίστεψαν στις δυνάμεις μου.

Με την ολοκλήρωση αυτής της επιστημονικής προσπάθειας αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όσους με βοήθησαν στην επίτευξη αυτού του στόχου. Πρωτίστως ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Ν. Τσαβαρή τόσο για τις επιστημονικές γνώσεις και εμπειρίες που μετέδωσε όσο για την εμπιστοσύνη, την πολύτιμη καθοδήγηση και το αδειάλειπτο ενδιαφέρον που μου παρείχε καθ΄ όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής μου.

Επίσης τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Ε. Πατσούρη, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Α. Λάζαρη για την άριστη συνεργασία του, τις καίριες παρατηρήσεις και προτάσεις σχετικές με τη πορεία της έρευνας καθώς και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ν. Καβατζά για τις πολύτιμες συμβουλές του, τη συμπαράσταση και υποστήριξη του από την αρχή της διατριβής μου. Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην κα Ι. Γιαννοπούλου για το ενδιαφέρον και τη βοήθεια που μου πρόσφερε με τα σχόλια της για την δημοσίευση του άρθρου της διατριβής μου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Καψεογιώργου Ευσταθία, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σύψα Νικόλαο και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Σουγιουλτζή Νικόλαο για την προθυμία τους να συμμετάσχουν στην αξιολόγηση της παρούσας διατριβής.

Επίσης στη Μαρία Καραδύμα για την φιλία της και την υποστηριξή της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου, τα μέλη του εργαστηρίου της Παθολογικής Ανατομίας για την πολύτιμη βοήθεια τους καθώς και τον κ. Δ. Μπουλαμάτση για τη βοήθεια του στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της διατριβής.

Τέλος ευχαριστώ την οικογενειά μου και κυρίως τον συζυγό μου αφού χωρίς την έμπρακτη, καθημερινή βοήθεια και συμπαράσταση του δεν θα μπορούσε ποτέ να ολοκληρωθεί.

Συντμήσεις επιστημονικών όρων

CRP: C-αντιδρώσα πρωτείνη

DFF45: DNA κατακερματιστικός παράγοντας-45

TUNEL: terminal deoxynoucleotidyl transferase-mediate dUTPnick and labeling

TNF: Tumor necrosis factor- παράγοντας νέκρωσης όγκων

Apaf1: Apoptotic protease activating factor-1(πρωτεΐνη ενεργοποίησης της απόπτωσης 1)

TRAIL: TNF related apoptosis inducing ligand

ATP: Adenosine-5'-triphosphate (τριφωσφορική αδενοσίνη)

Bcl-2: B-cell lymphoma

NFkB: nuclear factor Kb

IAP: Inhibitor of Apoptosis

Hsps: Heat Shock Proteins

ICAD: inhibitor of caspase-activated DNase (αναστολέας της κασπάσης-ενεργού DNAασης)

c-FLIP: Cellular FLICE (FADD-like IL-1β-converting enzyme)-inhibitory protein

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

Η επίπτωση του καρκίνου του στομάχου παρουσιάζει σταθερή μείωση τις τελευταίες δεκαετίες, παρόλαυτά αποτελεί μεγάλο πρόβλημα υγείας σε όλες τις χώρες του κόσμου. Υπολογίζεται ότι περίπου ένα εκατομύριο (989.000 περιπτώσεις, 7,8% όλου του συνόλου) νέες περιπτώσεις καρκίνου του στομάχου, διαγνώστηκαν παγκοσμίως το 2008. Αυτό τοποθετεί το καρκίνο του στομάχου στη τέταρτη θέση σε επίπτωση παγκοσμίως (1), δηλαδή χαμηλότερα σε σχέση με το 1975, οπότε ο καρκίνος αυτός ήταν το πρώτο σε συχνότητα νεόπλασμα παγκοσμίως (2).

Ο καρκίνος του στομάχου αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο και στα δύο φύλλα παγκοσμίως (738.000 θανάτους, 9,7% του συνόλου) (1). Το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας υπολογίζεται στην Ανατολική Ασία (28,1 σε 1000.000 άνδρες, 13,0 σε 1000.000 γυναίκες) και το χαμηλότερο στη Βόρεια Αμερική (2,8 και 1,5 αντίστοιχα). Υψηλή θνησιμότητα παρατηρείται επίσης και στα δύο φύλα στη Κεντρική και Ανατολική Ευρώπη, καθώς και στη Κεντρική και Νότια Αμερική (1).

Παρόλο τις διαγνωστικές και θεραπευτικές εξελίξεις που έχουν σημειωθεί τα τελευταία χρόνια, η πρόγνωση των προχωρημένων σταδίου γαστρικού καρκίνου είναι πτωχή, καθώς και οι υπάρχουσες θεραπείες δεν προσφέρουν πολλά στην επιβίωση (3). Κατά συνέπεια η πρόληψη εξακολουθεί να αποτελεί τη καλύτερη στρατηγική για τον έλεγχο αυτής της νόσου.

Η συνολική επίπτωση του γαστρικού καρκίνου μειώνεται, παρ΄όλα αυτά υπάρχει σχετική αύξηση της επίπτωσης των όγκων της οισοφαγο-γαστρικής συμβολής (4). Αυτή η τάση είναι ανησυχητική διότι αυτοί οι όγκοι έχουν χειρότερη πρόγνωση συγκριτικά στάδιο προς στάδιο με όγκους του στομάχου (5, 6).

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Φύλο

Ο καρκίνος του στομάχου προσβάλλει πιο συχνά τους άνδρες από ότι τις γυναίκες σε αναλογία περίπου 2,3:1 και με συχνότητα θνητότητας διπλάσια στους άνδρες (1).

Ηλικία

Η συχνότητα του καρκίνου του στομάχου αυξάνει με την ηλικία (7). Η νόσος προσβάλλει κυρίως άτομα μεταξύ 65-74 ετών και η αιχμή της συχνοτητάς της παρατηρείται στα 70 έτη για τους άνδρες και τα 74 έτη για τις γυναίκες.

Γεωγραφική κατανομή

Από πλευράς γεωγραφικής κατανομής υπάρχουν μεγάλες διαφορές στην επίπτωση του γαστρικού καρκίνου. Στοιχεία δείχνουν να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της νόσου, του περιβάλλοντος και των διαιτητικών συνηθειών. Χαμηλή επίπτωση της νόσου παρατηρείται στη Βόρεια Αμερική, στο Καναδά σε πολλές χώρες της Ευρώπης και στις χώρες της Μέσης Ανατολής. Αυξημένη επίπτωση της νόσου παρατηρείται στην Ιαπωνία, στα κράτη της πρώην Σοβιετικής Ένωσης, στις περισσότερες χώρες της Άπω Ανατολής και στις χώρες της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής (8).

Επιβίωση

Ο γαστρικός καρκίνος συχνά διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο και μόνο το 23% των ασθενών που διαγιγνώσκεται με καρκίνο του στομάχου έχουν τοπική νόσο (9). Στην Ιαπωνία και σε μικρότερο βαθμό στη Κορέα όπου προσυμπτωματικός έλεγχος (screening) γίνεται ευρέως, είναι δυνατό να γίνει διάγνωση της νόσου σε αρχικά στάδια (7, 10, 11). Η σχετική (relative) 5-ετής επιβίωση για όλα τα στάδια είναι περίπου 20% (9, 12-14) σε διάφορες περιοχές του

κόσμου, εκτός από την Ιαπωνία όπου το σύστημα σταδιοποίησης και η θεραπεία μπορεί να συμβάλλει σε καλύτερη 5-ετής επιβίωση στο 60% (14-16).

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΚΑΙ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι καταστάσεις που προδιαθέτουν για την ανάπτυξη γαστρικού καρκινώματος είναι η χρόνια ατροφική γαστρίτιδα και οι γαστρικοί πολύποδες. Στις ομάδες κινδύνου ανήκουν ασθενείς με χρόνια γαστρίτιδα και εντερική μετάπλαση. Γαστρεκτομηθέντες ασθενείς με επιμένουσα φλεγμονή του γαστρικού βλεννογόνου και ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό καρκινώματος.

Η παθογένεση του γαστρικού καρκινώματος, τόσο στο σώμα όσο και στο άντρο πιστεύεται ότι ακολουθεί τη διαδικασία από φυσιολογικό βλεννογόνο προς χρόνια γαστρίτιδα, εντερική μετάπλαση, δυσπλασία, ενδοβλεννογονικό καρκίνωμα και τέλος διηθητικό καρκίνωμα. Τα καρκινώματα της καρδιακής μοίρας του στομάχου σπανίως συσχετίζονται με χρόνια γαστρίτιδα και για το λόγο αυτό η παθογένεσή τους μπορεί να είναι διαφορετική.

Η εντερική μετάπλαση αναπτύσεται συχνά στο έδαφος της χρόνιας γαστρίτιδας. Το γαστρικό επιθήλιο αντικαθίσταται από δύο τύπους μεταπλασμένου επιθηλίου: Ο ένας τύπος ομοιάζει με το επιθήλιο του πυλωρικού αντρού και ο άλλος με το επιθήλιο του λεπτού εντέρου. Η σημασία της εντερικής μετάπλασης τύπου λεπτού εντέρου βρίσκεται στην προδιαθεσή της να υφίσταται δυσπλασία και ενίοτε καρκινωματώδη εξαλλαγή. Στη παρακολούθηση της χρόνιας γαστρίτιδας συμβάλλουν σημαντικά οι επανειλημένες ενδοσκοπικές βιοψίες με σκοπό την έγκαιρη διάγνωση δυσπλαστικών αλλοιώσεων πριν από την εξέλιξη αυτών προς

κακοήθεια. Η χρόνια γαστρίτιδα μπορεί να συνδυάζεται με την ανάπτυξη πεπτικού έλκους.

Είναι γνωστό ότι όπως για τις περισσότερες κακοήθειες έτσι και στη παθογένεση των γαστρικών καρκίνων παίζουν ρόλο γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Μία μελετη από τη Σκανδιναβία, αποκαλύπτει ότι ο σχετικός κίνδυνος (relative risk) για την ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου είναι 9.9 για τα μονοζυγωτικά δίδυμα και 6.6 για τα διζυγωτικά, γεγονός που υποδηλώνει ότι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται στη παθογένεση του γαστρικού καρκίνου. Η ίδια μελέτη υπολογίζει ότι το 28% των γαστρικών καρκίνων οφείλεται σε κληρονομικούς παράγοντες σε σύγκριση με 10% για τους κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες και 62% για τους μη κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες (17).

Επιδημιολογικές μελέτες σε διαφορετικούς πληθυσμούς έδειξαν ότι οι διατροφικές συνθήκες ενοχοποιούνται για την ανάπτυξη του καρκίνου του στομάχου. Στους διατροφικούς παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνεται η επί μακρόν και συχνή κατανάλωση κρέατος καθώς και τροφών συντηρημένων σε αλάτι, καπνιστών κρεάτων και ψαριών καθώς και αλλαντικών (18, 19). Σε αυτή τη περίπτωση ενοχοποιούνται ενώσεις που σχετίζονται με τα νιτρώδη άλατα και ενώσεις που σχηματίζονται κατά τη διαδικασία του καπνίσματος των τροφών (20). Η αυξημένη πρόσληψη άλατος (χλωριούχου νατρίου) σχετίζεται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του στομάχου (21), καθώς αρκετές μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει θετική συσχέτιση μεταξύ του κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του στομάχου και τη πρόσληψη άλατος (22, 23) και νιτρώδη ενώσεων (20, 24, 25). Η μείωση που παρατηρείται τα τελευταία χρόνια στη συχνότητα του γαστρικού καρκίνου μπορεί να σχετίζεται με τη μειωμένη κατανάλωση διατηρημένων σε άλμη τροφών και σε αυτό το γεγονός συνέβαλε η διατήρηση των τροφών σε ψυγείο (26). Αντίθετα η

κατανάλωση φρέσκων φρούτων και λαχανικών φαίνεται να έχει προστατευτικό αποτέλεσμα κατά του γαστρικού καρκίνου, καθώς και η κατανάλωση τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά, βιταμίνες C και E, καροτενοειδή και φλαβονοειδή μπορεί να έχουν ευργετική δράση (27, 28).

Άτομα που πάσχουν από έλκος στομάχου έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου, ενώ το έλκος δωδεκαδακτύλου σχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο (29).

Το κάπνισμα είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για το γαστρικό καρκίνο. Προοπτικές μελέτες έχουν δείξει μία σημαντική δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του καπνίσματος και του κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του στομάχου (30, 31). Σε μία μεγάλη προοπτική cohort μελέτη σε 10 Ευρωπαικές χώρες, υπολογίστηκε ότι 17,6% των γαστρικών καρκίνων σε αυτόν τον Ευρωπαικό πληθυσμό οφειλόταν στο κάπνισμα (32).

Το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (HP) είναι ένα gram-αρνητικό βακτήριο που αποικίζει το βλεννογόνο του στομάχου και έχει συσχετισθεί αιτιολογικά με το καρκίνο του στομάχου σε πολλές μελέτες (33-35). Ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας (WHO) έχει ταξινομηθεί το H. Pylori ώς κλάσσης I καρκινογόνο (36). Τα ποσοστά του γαστρικού καρκίνου παρουσιάζουν μείωση τα τελευταία 50 χρόνια, κυρίως στις Δυτικές χώρες πιθανότατα εξαιτίας της μείωσης του ποσοστού λοίμωξης από HP (37, 38). Η αυξημένη επίπτωση της λοίμωξης από HP παρατηρείται σε περιοχές όπου υπάρχει υψηλή επίπτωση καρκίνου του στομάχου (39) ακόμη και σε άτομα νεαρής ηλικίας (40, 41). Εχουν προταθεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους το HP προκαλεί γαστρική καρκινογένεση. Ο κυριότερος μηχανισμός φαίνεται να είναι η λοίμωξη από HP που προκαλεί χρόνια ατροφική γαστρίτιδα και φλεγμονή. Η χρόνια φλεγμονή οδηγεί στην αύξηση του οξειδωτικού stress (oxidative stress), με το

σχηματισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου (oxygen-free radicals) οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στο DNA και να αυξήσουν τη παραγωγή κυτοκινών γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη διόρθωση του DNA (42). Η χρόνια φλεγμονή με HP οδηγεί σε χρόνια ατροφική γαστρίτιδα , εντερική μεταπλασία , δυσπλασία και τελικά διηθητικό καρκίνωμα (43). Ένα μεγάλο ποσοστό του ενήλικου πλυθησμού των αναπτυσσόμενων χωρών εμφανίζει χρόνια λοίμωξη από HP, όμως ένα μόνο μικρό ποσοστό αυτών, περίπου το 5% θα αναπτύξει καρκίνο του στομάχου κατά τη διάρκεια 10 ετών (44). Ένας αριθμός μελετών αναφέρουν ότι ο τύπος του HP από τον οποίο έχει προκληθεί η λοίμωξη φαίνεται να παίζει ρόλο στη καρκινογένεση και συγκεκριμένα το στέλεχος cagA του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού αποτελεί παράγοντα κινδύνου γιατί προκαλεί μεγαλύτερη γαστρική φλεγμονή και συσχετίζεται με γαστρικό καρκίνο (45, 46). Από μια τυχαιοποιημένη μελέτη (ramdomized controlled trial), όπου έγινε θεραπεία εκρίζωσης σε άτομα σε περιοχές υψηλού κινδύνου με προκαρκινικές βλάβες, δεν έδειξε μείωση στην ολική επίπτωση του γαστρικού καρκίνου σε σύγκριση με τα άτομα που δεν έλαβαν θεραπεία εκρίζωσης (47). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι και άλλοι παράγοντες, εκτός το HP παίζουν σημαντικό ρόλο στη καρκινογένεση του στομάχου.

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ

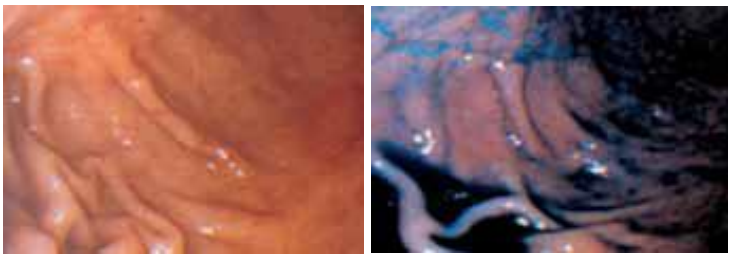
Το αδενοκαρκίνωμα του στομάχου είναι ένα κακόηθες νεόπλασμα με επιθηλιακή προέλευση και αντιπροσωπεύει το 90% όλων των κακοήθων όγκων αυτού, το υπόλοιπο 10% αφορά σε λεμφώματα (4%), καρκινοειδή (3%) και σαρκώματα (2%) . Το αδενοκαρκίνωμα του στομάχου ταξινομείται με βάση την εντόπιση, τη μακροσκοπική εικόνα και τον ιστολογικό τύπο του.

Ο καρκίνος του στομάχου μπορεί να αναπτυχθεί σε οποιαδήποτε μοίρα του, στην καρδία, στο πυλωρικό άντρο, στο σώμα ή στη ΓΕΑ. Σε ποσοστό ~10% μπορεί να αναπτυχθεί σε όλο το τοίχωμα του στομάχου (πλαστική λινίτις).

Μακροσκοπική εικόνα

Η μακροσκοπική εικόνα του γαστρικού καρκίνου ποικίλει. Στα αρχικά του στάδια, μπορεί να εμφανίζεται με ελαφρά μόνον παραλλαγμένης όψης βλεννογόνο (κόκκινο ή αποχρωματισμένο ή ελαφρώς ανώμαλο). Μπορεί ακόμη να προκαλεί εκσεσημασμένη πάχυνση του γαστρικού τοιχώματος, χωρίς ογκόμορφη βλάβη (πλαστική λινίτις). Το 1962 δίδεται ο ορισμός του αρχόμενου γαστρικού καρκίνωματος από την Ιαπωνική Εταιρεία Γαστροσκοπικής Ενδοσκόπησης. Ο όρος αναφέρεται σε καρκινώματα, η ανάπτυξη των οποίων περιορίζεται στο βλεννογόνο ή επεκτείνεται διαμέσου της βλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας στον υποβλεννογόνιο χιτώνα άσχετα από την κατ΄επιφάνεια επεκτασή του και από την ύπαρξη ή όχι μεταστάσεων στους επιχώριους λεμφαδένες. Ο όρος ‘αρχόμενο’ ίσως είναι αποπροσανατολιστικός, διότι και στις περιπτώσεις αυτές μπορεί να υπάρχουν μεταστάσεις. Συνήθως πρόκειται για πολυποειδή καρκινώματα, η πρόγνωση των οποίων είναι καλύτερη. Η μακροσκοπική εικόνα του πρώιμου γαστρικού καρκίνου ταξινομείται χρησιμοποιώντας κριτήρια παρόμοια με αυτά της ενδοσκόπισης (48) (εικόνα 1).

Εικόνα 1. Ενδοσκοπικές εικόνες γαστρικού καρκίνου.



Α Β

Γ Δ

Α,Β καταδυόμενοι γαστρικοί καρκίνοι.

Γ,Δ ελκωτικές βλάβες περιβαλλόμενες από πρώιμο γαστρικό καρκίνο.

Για την μακροσκοπική διάκριση του προχωρημένου καρκίνου του στομάχου χρησιμοποιείται η ταξινόμηση σύμφωνα με το σύστημα Boorman (εικόνα 2) ως εξής:

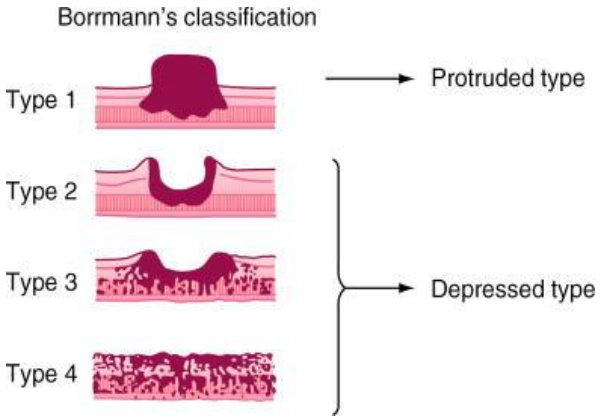
Τύπος Ι: Οζώδης, πολυποειδής βλάβη, χωρίς εξέλκωση, συνήθως με ευρεία βάση.

Τύπος ΙΙ: Εξελκωμένη βλάβη που περιβάλλεται από περιγεγραμμένα ανυψωμένα χείλη.

Τύπος ΙΙΙ: Ακανόνιστος εξελκωμένη βλάβη που διηθεί το τοίχωμα του στομάχου.

Τύπος IV: Διάχυτο διηθητικό καρκίνωμα συνήθως χωρίς σχηματισμό μάζας ή εξέλκωσης (πλαστική λινίτης).

Εικόνα 2.

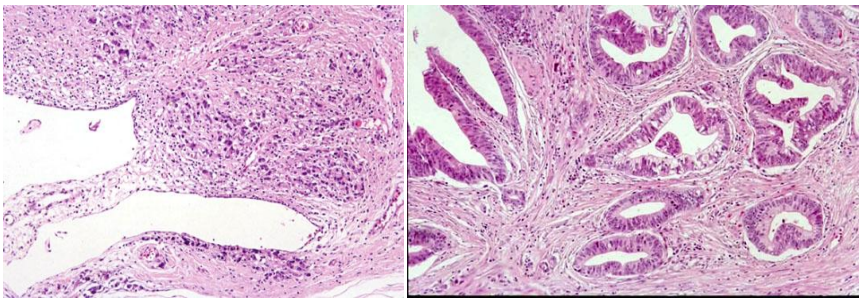


Οι ελκωτικοί τύποι ΙΙ και ΙΙΙ είναι οι πιο συνήθεις. Ο τύπος IV εξαπλώνεται επιφανειακά στο βλεννογόνο και υποβλεννογόνιο χιτώνα δημιουργώντας επίπεδη βλάβη με ή χωρίς εξελκώσεις. Στις περιπτώσεις εκτεταμένης διήθησης προκύπτει η εικόνα πλαστικής λινίτιδας.

Μικροσκοπική εικόνα

Πολλές ιστολογικές ταξινομήσεις έχουν προταθεί για τον ιστολογικό τύπο του γαστρικού αδενοκαρκινώματος (Lauren (49), Ming (50), Goseki (51) και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [WHO]). Η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη ιστολογική ταξινόμηση του στομάχου είναι η κατά Lauren που διακρίνει 2 βασικούς τύπους, τον εντερικό και τον διάχυτο (εικόνα 3) καθώς και την κατηγορία των δυσταξινόμητων/ μεικτών, για όσους όγκους δεν εμπίπτουν σαφώς στους δύο κύριους τύπους.

Εικόνα 3



Διάχυτου τύπου Εντερικού τύπου

Αυτοί οι δύο τύποι διαφέρουν τόσο όσο αφορά την επιδημιολογία και τα κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά τους αλλά και όσο αφορά την εμπλοκή συγκεκριμένων μοριακών οδών στην ανάπτυξη τους (52). Ο εντερικός τύπος προκύπτει από προκαρκινικές βλάβες που προκαλούνται από βλάβες μετά από λοίμωξη απο HP όπως χρόνια γαστρίτιδα, γαστρική ατροφία, εντερική μεταπλασία, δυσπλασία και τελικά ανάπτυξη γαστρικού αδενοκαρκινώματος (53). Συμβαίνει πιο συχνά στους άνδρες από ότι στις γυναίκες και κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα (54). Αποτελεί τον κύριο ιστολογικό τύπο γαστρικού καρκινώματος σε περιοχές όπου το γαστρικό καρκίνωμα είναι ενδημικό, γεγονός που υποδηλώνει ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται στην αιτιολογία. Ο διάχυτος τύπος τυπικά δεν προκύπτει από προκαρκινικές βλάβες (55). Είναι πιο συχνός σε περιοχές με χαμηλή επίπτωση γαστρικού καρκίνου,είναι συχνότερος σε γυναίκες, σε νέα άτομα και έχει μεγαλύτερη συσχέτιση με κληρονομικότητα, γεγονός που υποδηλώνει γενετική αιτιολογία (55). Σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση σε σύγκριση με τον εντερικό τύπο, αλλά στη μελέτη του Kattan et. al. οι παράμετροι που φαίνεται να επηρεάζουν την πρόγνωση δεν είναι ο ιστολογικός τύπος του γαστρικού καρκινώματος (56) παρ΄όλα αυτά στον διάχυτο τύπο παρατηρείται πιο συχνά μεγαλύτερο βάθος διήθησης καθώς και διήθηση των λεμφαδένων.

Σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO), η ταξινόμηση των επιθηλιακών όγκων του στομάχου βασίζεται σε κυτταρο-αρχιτεκτονικούς μορφολογικούς χαρακτήρες (πίνακας 2).

Πίνακας 2. World Health Organization histological classification of gastric tumours

Επιθηλιακοί όγκοι
Ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία
Καρκίνωμα
Αδενοκαρκίνωμα
Αδενοκαρκίνωμα εντερικού τύπου
Αδενοκαρκίνωμα διάχυτου τύπου
Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα
Σωληνώδες αδενοκαρκίνωμα
Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα
Καρκίνωμα από κύτταρα τύπου σφραγιστήρος δακτυλίου
Αδενοπλακώδες καρκίνωμα
Πλακώδες καρκίνωμα
Μικροκυτταρικό καρκίνωμα
Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα
Άλλο καρκίνωμα

Τα γαστρικά καρκινώματα μπορούν να επεκταθούν κατά συνέχεια ιστού σε γειτονικά όργανα όπως το ήπαρ, ο σπλήνας, το πάγκρεας, το εγκάρσιο κόλον, το επιπλούν και το διάφραγμα (57). Οι λεμφογενείς μεταστάσεις είναι συχνές και οι λεμφαδένες που προσβάλλονται, είναι οι επιχώριοι λεμφαδένες του ελλάσονος και μείζονος τόξου, οι πυλαίοι και οι παγρεατικοί. Οι αριστεροί υπερκλείδιοι λεμφαδένες ή ‘αδένες του Virchow’ παρουσιάζουν μεταστάσεις όταν τα καρκινωματώδη κύτταρα

εισέλθουν στο θωρακικό πόρο. Αιματογενώς ο γαστρικός καρκίνος δίνει μεταστάσεις στο ήπαρ, στους πνεύμονες και στα οστά (58). Συχνές είναι οι περιτοναϊκές μεταστάσεις (59). Τα αμετάπλαστα αδενοκαρκινώματα του στομάχου από κύτταρα σφραγιστήρα δακτυλίου μπορεί να χορηγήσουν μεταστάσεις αμφοτερόπλευρα στις ωοθήκες. Οι μεταστατικοί αυτοί όγκοι των ωοθηκών καλούνται και όγκοι Krukenberg.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ

Σποραδικά γαστρικά αδενοκαρκινώματα προκύπτουν μέσα από μια πολυσταδιακή διαδικασία κατά την οποία συσσωρεύονται επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες επηρεάζουν σημαντικές βιολογικές διαδικασίες όπως τον πολλαπλασιασμό, την απόπτωση, τον κυτταρικό κύκλο που τελικά οδηγεί σε διηθητικό καρκίνο. Προκειμένου να προκύψουν οι αναγκαίες γενετικές αλλαγές πρέπει να συμβεί κάποιας μορφής γονιδιακή αστάθεια (αστάθεια του γονιδιώματος). Αυτές μπορεί να αφορούν γονιδιακή αστάθεια στο επίπεδο του DNA, όπως αποτυχία επιδιόρθωσης του DNA οδηγεί σε μικροδορυφορική αστάθεια, παρ΄όλα αυτα τα περισσότερα γαστρικά καρκινώματα παρουσίαζουν γονιδιακή αστάθεια σε επίπεδο χρωμοσωμάτων (60). Μικροδορυφορική αστάθεια σε συνδιασμό με αλλαγές στον TGF-β II υποδοχέα, IGFRII, BAX, E2F-4, hMSH3 και hMSH3 γονίδιο έχουν ανευρεθεί σε έναν αριθμό γαστρικών καρκινωμάτων (61-64). Η μικροδορυφορική αστάθεια έχει βρεθεί στο 13% με 44% των σποραδικών γαστρικών καρινωμάτων (65). Υψηλού βαθμού μικροδορυφορική αστάθεια συμβαίνει σε εντερικού τύπου γαστρικά καρκινώματα με μικρή συμμετοχή των επιχώριων λενφαδένων και καλύτερη πρόγνωση (66).

Η πλειοψηφία των γαστρικών καρκίνων είναι σποραδικά ενώ περίπου στο 10% υπάρχει οικογενή προδιάθεση (67). Για τα γαστρικά καρκινώματα με οικογενή προδιάθεση έχουν εν μέρει ενοχοποιηθεί περιβαλλοντικοί παράγοντες, αλλά και γενετικές μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονιδία έχουν συσχετιστεί με κληρονομικό γαστρικό καρκίνο. Αν το ένα αλλήλιο λείπει ή δυσλειτουργεί από τη γέννηση, δευτεροπαθής απώλεια ή υπερμεθυλίωση του άλλου αλληλίου έχει ως αποτέλεσμα τη γονιδιακή σιγή στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα, οδηγώντας σε καρκίνο νωρίς κατά τη διάρκεια της ζωής. Σε διάφορες, κυρίως, case-controls μελέτες έχει παρατηρηθεί αυξημένος κίνδυνος έως και 3 φορές στην εμφάνιση γαστρικού καρκίνου μεταξύ των συγγενών, ατόμων που έχουν διαγνωσθεί με γαστρικό καρκίνο (68, 69). Διάγνωση διάχυτου τύπου γαστρικού καρκίνου σε νέα άτομα έχουν περιγραφθεί και συσχετισθεί με μεταλλάξεις στο γονίδιο E-cadeherine (70). Η E-cadeherine (CDH1) είναι μία πρωτείνη που εμπλέκεται στη κυτταρική πρσκόλληση. Απώλεια της λειτουργίας αυτού του γονιδίου έχει ως αποτέλεσμα τα επιθηλιακά κύτταρα να χάνουν τις ιδιότητες προσκόλλησης και έτσι αυτά μπορούν ευκολότερα να μεθίστανται και να διηθούν άλλους ιστούς. Μεταλλάξεις στο γονίδιο της E-cadeherine υπάρχουν στο 30% των κληρονομικών γαστρικών καρκίνων που οδηγούν σε διάχυτου τύπου γαστρικού καρκίνου (71).

Ένα άλλο γονίδιο το οποίο συχνά εμπλέκεται στη γαστρική καρκινογένεση είναι το p53. Το p53 έχει σημαντικό ρόλο στη κυτταρική ανταπόκριση στις βλάβες του DNA οδηγώντας σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 ή στην απόπτωση. Το 50% των γαστρικών καρκίνων και των δύο τύπων παρουσιάζουν απώλεια αυτού του γονιδίου ή απώλεια του κοντού σκέλους του χρωμοσώματος 17 (72). Μεταλλάξεις του p53 έχουν ανευρεθεί στο 60% στα διαχύτου τύπου γαστρικά

καρκινώματα χωρίς αλλαγές της E-cadeherine (73). Τα εντερικού τύπου γαστρικά καρκινώματα εκφράζουν στο 60% έκφραση του p53 (74).

Ο κληρονομικός μη πολυποδιασικός καρκίνος (HNPCC) του παχέως εντέρου περιλαμβάνει μεταλλάξεις στα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA (75). Γαστρικά αδενοκαρκινώματα μπορούν να παρατηρηθούν σε σε οικογένειες με HNPCC (76) όπως και σε ασθενείς με οικογενή αδενωματώδη πολυποδίαση και Peutz-Jeghers σύνδρομο (77).

Μεταλλάξεις στο APC γονίδιο συσχετίζονται με την ανάπτυξη κολο-ορθικών αδενωμάτων τόσο στην οικογενή αδενωματώδη πολυποδίαση (FAP) όσο και σε σποραδικά αδενώματα, αλλά έχουν μελετηθεί και σε γαστρικά καρκινώματα. Απώλεια έκφρασης του APC υπάρχει στο 80% των γαστρικών αδενοκαρκινωμάτων ανεξαρτήτου τύπου (74).

Το γονίδιο erbB-2 είναι ένα πρώτο-ογκογονίδιο που βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 17. Η υπερέκφραση και η ενίσχυση του γονιδίου έχει συσχετιστεί με αδενοκαρκινώματα του μαστού και του στομάχου. Η πρωτείνη που κωδικοποιεί είναι μια γλυκοπρωτείνη βάρους 185 kDa και έχει δομή ανάλογη του EGFR. Ο ανθρώπινος επιδερμικός αυξητικός υποδοχέας 2 (HER2) ανήκει στην οικογένεια των ανθρώπινων επιδερμικών αυξητικών παραγόντων (EGFR) και εμπλέκετε στην ανάπτυξη διαφόρων συμπαγών όγκων. Η υπερέκφραση του HER2 στους γαστρικούς καρκίνους κυμαίνεται μεταξύ 9,5%-12% (78, 79). Η υπερέκφραση του HER2 είναι πιο συχνή στου εντερικού τύπου γαστρικά καρκινώματα (78-80). Μια πρόσφατη μεγάλη cohort μελέτη με ασθενείς με γαστρικό καρκίνο έδειξε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του HER2 και της επιβίωσης των ασθενών (80).

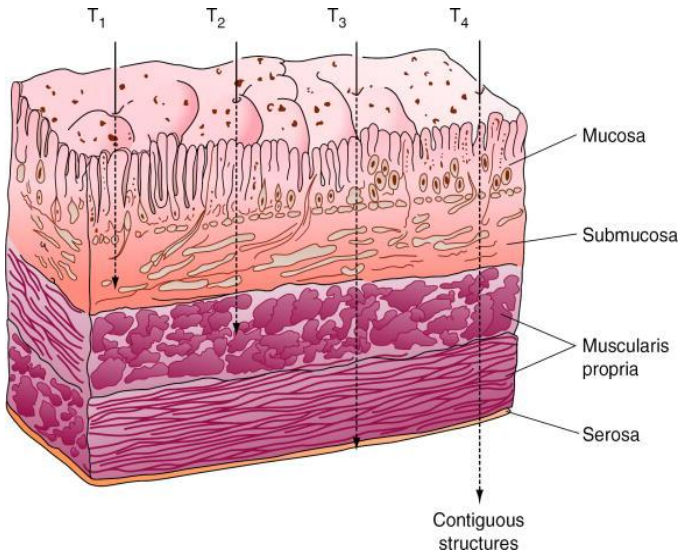
Μεταλλάξεις του K-ras δεν έχει παρατηρηθεί να συμβαίνουν συχνά γαστρικά καρκινώματα. Παρόλαυτά έχει αναφερθεί ότι μεταλλάξεις του K-ras στα γαστρικά αδενοκαρκινώματα σχετίζονται κυρίως με το διάχυτο τύπο (81).

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Για την σταδιοποίηση του καρκίνου του στομάχου χρησιμοποιούνται δύο συστήματα ταξινόμησης (TNM). Το Ιαπωνικό σύστημα (48) το οποίο είναι λεπτομερέστερο και το σύστημα που αναπτύχθηκε από το American Joint Committee on Cancer (AJCC) σε συνεργασία με το International Union against Cancer (UICC) και χρησιμοποιείται στις χώρες του δυτικού ημισφαιρίου (πίνακας 3).

Το σύστημα TNM το οποίο καθορίζει την έκταση της νόσου με τρεις μεταβλητές: 1) το βάθος διήθησης του τοιχώματος του στομάχου από τον πρωτοπαθή όγκο (T), (2) (εικόνα 4) την έκταση των λεμφαδενικών μεταστάσεων (N) και 3) την ύπαρξη ή όχι μεταστάσεων σε απομακρυσμένα όργανα (M).

Εικόνα 4.



Πίνακας 3. TNM σύστημα σταδιοποίησης καρκίνου στομάχου

Πρωτοπαθής όγκος (T)
Tx: Ο αρχικός όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί
T0: Μη ύπαρξη πρωτοπαθούς όγκου
Tis: Καρκίνωμα in situ
T1: Ο όγκος διηθεί τη χοριακή στιβάδα του βλενννογόνου, τη βλεννογόνιο μυική στιβάδα (muscularis mucosae) ή τον υποβλεννογόνιο χιτώνα
T1α: Ο όγκος διηθεί τη lamina propria ή τη βλεννογόνιο μυική στιβάδα
T1β: Ο όγκος διηθεί τον υποβλεννογόνιο χιτώνα
T2: Ο όγκος διηθεί τη μυικό χιτώνα (muscularis propria)
T3: Ο όγκος διηθεί το περιτόναιο (subserosal connective tissue) χωρίς διήθηση του σπλαχνικού περιτόναιου (visceral peritoneum) ή παρακείμενων δομών*, **
T4: Ο όγκος διηθεί τον ορογόνο (σπλαχνικό περιτόναιο) ή διήθηση παρακείμενων δομών
T4α: Ο όγκος διηθεί τον ορογόνο (σπλαχνικό περιτόναιο)
T4β: Ο όγκος διηθεί τις παρακείμενες δομές

Περιοχικοί λεμφαδένες (N)
N0: Όχι λεμφαδενική διήθηση
N1: Μετάσταση σε 1-2 περιοχικών λεμφαδένων
N2: Μετάσταση σε 3-6 περιοχικών λεμφαδένων
N3: Μετάσταση σε 7 ή περισσότερους περιοχικούς λεμφαδένες
N3α: Μετάσταση σε 7-15 περιοχικών λεμφαδένων
N3b: Μετάσταση σε 16 ή περισσότερους περιοχικούς λεμφαδένες

Απομακρυσμένες μεταστάσεις (M)
M0: Μη ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων
M1: Ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων

*Οι παρακείμενες στο στόμαχο δομές περιλαμβάνουν το σπλήνα, το εγκάρσιο κόλον, το ήπαρ, το διάφραγμα, το πάγκρεας, το κοιλιακό τοίχωμα, τα επινεφρίδια, τους νεφρούς, το λεπτό έντερο και το οπισθοπεριτόναιο.

**Η διατοιχωματική επέκταση της νόσου στο δωδεκαδάκτυλο ή στον οισοφάγο κατηγοριοποιείται με βάση το βάθος της μεγαλύτερης διήθησης σε οποιαδήποτε από τις παραπάνω θέσεις, συμπεριλαμβανομένου του στομάχου.

Σταδιοποίηση του καρκίνου του στομάχου σύμφωνα με AJCC (American Joint Commitee on Cancer) 7η έκδοση 2010

Στάδιο 0	Tis	N0	M0
Στάδιο IA	T1	N0	M0
Στάδιο IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
Στάδιο IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
Στάδιο IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
Στάδιο IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
Στάδιο IIIB	T4b	N0	M0
	T4b	N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
Στάδιο IIIC	T4b	N2	M0
	T4b	N3	M0
	T4a	N3	M0
Στάδιο IV	T (όποιο)	N (όποιο)	M1

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ο πρώιμος γαστρικός καρκίνος συνήθως δε προκαλεί συμπτώματα, παρ΄όλα αυτά ένα ποσοστό ασθενών περίπου το 50% μπορεί να παρουσιάζουν μη ειδικά συμπτώματα όπως δυσπεπτικά ενοχλήματα ή συμπτωματολογία που ομοιάζει με αυτή του πεπτικού έλκους (82). Μεταξύ των ασθενών Δυτικών χωρών που κάνουν ενδοσκοπικό έλεγχο για δυσπεπτικά ενοχλήματα, γαστρικός καρκίνος ανευρίσκεται στο 1-3% των περιπτώσεων (κυρίως σε άρρενες άνω των 45 ετών) (83-85). Άλλα λιγότερα συχνά συμπτώματα περιλαμβάνουν την τάση προς έμετο, έμετο, ανορεξία, δυσφαγία, μελένα, αίσθημα πληρότητας, συμπτωματολογία πεπτικού έλκους (86, 87). Η απουσία συμπτωμάτων συνήθως καθυστερεί τη διάγνωση του γαστρικού καρκίνου με αποτέλεσμα ένας σημαντικό ποσοστό των ασθενών να παρουσίαζονται στον ιατρό όταν η νόσος βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο. Τη στιγμή της διάγνωσης η κύρια συμπτωματολογία είναι η απώλια βάρους που συμβαίνει στο 62% των ασθενών και το κοιλιακό άλγος στο 52% των ασθενών και υποδηλώνουν συνήθως προχωρημένη νόσο (82). Η συμπτωματολογία προχωρημένου καρκίνου του στομάχου, περιλαμβάνει κοιλιακό άλγος το οποίο είναι συνήθως συνεχές και δεν υφίεται με τη λήψη τροφής. Ελκωτικοί όγκοι μπορεί να προκαλέσουν αιμορραγία και αιματέμεση, ενώ όγκοι που προκαλούν απόφραξη μπορεί να προκαλέσουν εμέτους. Όγκοι του άντρου/πυλωρικής μοίρας μπορούν να οδηγήσουν σε πυλωρική στένωση με εμέτους, γαστρική διάταση και αίσθημα πληρότητας έστω και μετά τη λήψη μικρής ποσότητας φαγητού, ενώ όγκοι της καρδιακής μοίρας μπορεί να προκαλέσουν δυσφαγία λόγω απόφραξης της καρδιοισοαφγικής συμβολής. Μερικές φορές μπορεί ο όγκος να διηθήσει προς το εγκάρσιο και να προκαλέσει γαστροκολικό συρίγγιο, που προκαλεί διάρροιες και κοπρανώδεις εμέτους (88).

Σπάνια μπορεί να εκδηλωθούν παρανεοπλασματικά σύνδρομα. Έχει αναφερθεί θρομβοφλεβίτιδα (Trousseau's sign) (89), νευροπάθεια (90), νεφρωτικό σύνδρομο (91) και διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (92) . Δερματολογικά παρανεοπλασματικά σύνδρομα είναι σπάνια και περιλαμβάνουν την μελάγχρωση δερματικών πτυχών (acanthosis nigricans), τη ξαφνική εμφάνιση σμηγματορροική δερματίτιδα (seborrheic dermatosis) και επίμονο κνησμό (σύνδρομο Leser- Trelat) (93).

Η φυσική εξέταση μπορεί να είναι φυσιολογική, αλλά μπορεί να ανευρεθεί επιγαστρική μάζα, ηπατομεγαλία, ασκίτης. Σημεία μεταστατικής εξάπλωσης περιλαμβάνουν το ομφαλικό οζίδιο (Sister Joseph's nodule), μεταστάσεις στις ωοθήκες (Krukenberg's tumor), ή διήθηση του Δουγλάσειου (παγωμένη πύελος/ Blumer's shelf), μετάθεση στον αρ. υπερκλείδιο λεμφαδένα (Virchow's node).

Ο γαστρικός καρκίνος συχνά μεθίσταται στο ήπαρ (40%), πνεύμονες, περιτόναιο και οστά. Μπορεί όμως να δώσει μεταστάσεις στα νεφρά, ουροδόχο κύστη, εγκέφαλο, επινεφρίδια και το δέρμα.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Γαστροσκόπηση, είναι η εξέταση εκλογής για τη διάγνωση του καρκίνου του στομάχου δίοτι επιτρέπει την άμεση επισκόπηση του βλεννογόνου και τη λήψη βιοψιών (94).

Ενδοσκοπικός υπέρηχος (EUS) είναι σημαντικός για την αρχική κλινική σταδιοποίηση του γαστρικού καρκίνου (95) πριν από οποιαδήποτε θεραπεία. Προσφέρει πληροφορίες για το βάθος της διήθησης (Τ-στάδιο), τη παρουσία

παθολογικών λεμφαδένων (N-αξιολόγηση), καθώς και σημεία μεταστατικών εστιών στα γειτονικά όργανα(M-στάδιο), τη παρουσία ασκίτη (96). Η ακρίβεια του EUS για το T-στάδιο κυμαίνεται μεταξύ 65-92% και 50%-95% για το N-στάδιο και εξαρτάται από τον χειριστή (97, 98).

Αξονική τομογραφία (CT scan) χρησιμοποιείται ευρέως για τη σταδιοποίηση του γαστρικού καρκίνου. Έχει συνολική ακρίβεια 43%-82% για το T-στάδιο. Το PET- CT έχει χαμηλότερη ακρίβεια ανίχνευσης κύριως στους διάχυτους και βλεννώδεις τύπους γαστρικού καρκίνου (99). Έχει σημαντικά χαμηλότερη ευαισθησία συγκριτικά με το CT στην ανίχνευση διηθημένων λεμφαδένων (56% v.s 78%) παρ΄όλα αυτά έχει καλή ειδικότητα (92% v.s 62%) (100). Ο συνδιασμός PET-CT έχει αρκετά πλεονεκτήματα έναντι μόνο του PET (101). Το PET- CT έχει σημαντικά υψηλότερη ακρίβεια στη προεγχειρητική σταδιοποίηση (68%) από το PET (47%) ή το CT (53%) μόνα. Πρόσφατες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι το PET μόνο του δεν είναι επαρκή διαγνωστική διαδικασία στην ανίχνευση και στη προεγχειρητική σταδιοποίηση του γαστρικού καρκίνου αλλά είναι βοηθητικό όταν χρησιμοποιείται μαζί το CT (102, 103).

Λαπαροσκόπηση, χρησιμοποιείται προεγχειρητικά για τον εντοπισμό μεταστάσεων μικρού όγκου. Η λαπαροσκόπηση επιτρέπει την άμεση επισκόπηση βλαβών που εντοπίζονται στο περιτόναιο ή στη σπλαχνική επιφάνεια. Επιπλέον εντοπίζει τις κρυφές μετάστασεις που καθιστούν τη νόσο μη ιάσιμη και επιτρέπει σε αυτούς τους ασθενείς να αποφύγουν ένα περιττό χειρουργείο (104). Κατά τη λαπαροσκόπηση γίνεται και η λήψη κυτταρολογικού υλικού από περιτοναϊκές πλύσεις για την αναζήτηση καρκινικών κυττάρων για τον αποκλεισμό μεταστατικών εστιών.

Καρκινικοί δείκτες, όπως το καρκινοεμβρυικό αντιγόνο (CEA) όπου παρουσιάζει αυξημένα επίπεδα περίπου στο 1/3 των πρωτοπαθών γαστρικών καρκινωμάτων (105). Η ευαισθησία του CEA ως καρκινικού δείκτη στα γαστρικά καρκινώματα είναι χαμηλή, αλλά όταν ανιχνεύεται σε υψηλά επιπέδα τότε σχετίζεται με το στάδιο της νόσου. Ο συνδιασμός του CEA με άλλους καρκινικούς δείκτες όπως το καρκινικό αντιγόνο CA 19-9 ή CEA 50 μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία σε σύγκριση με το CEA μόνο (106-108).

ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η προεγχειρητική σταδιοποίηση του ασθενούς είναι απαραίτητη για να προσδιοριστεί αν πρόκειται για προχωρημένη νόσο. Η κλινική εξέταση, η ακτινογραφία θώρακος και οι ηπατικές δοκιμασίες δίνουν αρκετές πληροφορίες, αλλά η εξέταση εκλογής, κυρίως για την ανεύρεση απομακρυσμένων μεταστάσεων, είναι η αξονική τομογραφία κοιλίας και θώρακος. Η αξονική τομογραφία βοηθάει στη σταδιοποίηση της νόσου γιατί δίνει πληροφορίες για το βάθος της τοιχωματικής διείσδυσης του νεοπλάσματος και των προσβεβλημένων λεμφαδένων καθώς και την ύπαρξη ή μη απομακρυσμένων μεταστάσεων. Το ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα πλεονεκτεί της αξονικής τομογραφίας στο καθορισμό του βάθους της τοιχωματικής προσβολής και διαθέτει 90% ειδικότητα στη διάγνωση πρώιμης από προχωρημένης νόσου (97, 98). Επίσης υπάρχει και η δυνατότητα λήψεως βιοψιών από ύποπτους λεμφαδένες. Χρήσιμος είναι και ο ρόλος του PET scan στην προεγχειρητική σταδιοποίηση της νόσου, κυρίως αν η αξονική τομογραφία είναι αρνητική. Με τη εξέταση αυτή λόγω της μεγάλης ευαισθησίας στην αναγνώριση μη ανιχνεύσιμων

μικρομεταστατικών εστιών από την αξονική, μπορεί πολλές φορές να τροποποιηθεί η στρατηγική της θεραπευτικής αντιμετώπισης.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι ασθενείς με γαστρικό καρκίνο πρέπει να αντιμετωπίζονται από ομάδα ιατρών με διαφορετικές ειδικότητες, χειρουργούς, ογκολόγους, ακτινοθεραπευτές, παθολογοανατόμους, ακτινολόγους και γαστρεντερολόγους.

Θεραπεία τοπικής νόσου

Η χειρουργική εκτομή του όγκου είναι ο μόνος δυνητικά θεραπευτικός χειρισμός που μπορεί να επιφέρει την ίαση. Η έκταση της εκτομής καθορίζεται από το προεγχειρητικό στάδιο. Στο πρώιμο γαστρικό καρκίνο που περιορίζεται στο βλεννογόνο, είναι καλά διαφοροποιημένος, δεν παρουσιάζει εξέλκωση και είναι μικρότερος <2cm τότε μπορεί να γίνει ενδοσκοπική εκτομή (109).

Ολική γαστρεκτομή ενδείκνυται σε νόσο σταδίου Ib-III. Υφολική γαστρεκτομή γίνεται αν μπορούν να επιτευθούν μακροσκοπικά καθαρά όρια 5 εκ. από τη οισοφαγογαστρική συμβολή. Αλλίως γίνεται ολική γαστρεκτομή. Το λιγότερο 15 λεμφαδένες πρέπει να αφαιρεθούν κατά την χειρουργική εκτομή για τη σωστή σταδιοποίηση της νόσου (109).

Χημειοθεραπεία και χημειοακτινοθεραπεία

Στην Αγγλία αλλά και σε πολλές χώρες κυρίως της Ευρώπης γίνεται περιεγχειρητική χημειοθεραπεία σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο που θεωρείται εξαιρέσιμος ή δυνητικά εξαιρέσιμος, μετά τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων μίας

μελέτης φάσης III (MAGIC trial). Σε αυτή τη μελέτη χορηγήθηκαν 3 κύκλοι χημειοθεραπείας με ECF [epirubicin (E) 50mg/m2, cisplatin (C) 60mg/m2 και συνεχιζόμενη ενδοφλέβια έγχυση 5-fluorouracil (F) 200mg/m2/ημέρα] προ του χειρουργείου και 3 κύκλοι μετά με σημαντική βελτίωση της 5-ετούς επιβίωσης από 23% σε αυτούς που έκανα μόνο χειρουργείο σε σχέση με 36,3% με αυτούς που έλαβαν περιεγχειρητική χημειοθεραπεία (110). Στις Ηνωμένες Πολιτείες χρησιμοποιείται σαν θεραπεία πρώτης εκλογής ο συνδιασμός μετεγχειρητικής χημειο-ακτινοθεραπείας, μετά τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων μιας τυχαιοποιημένης μελέτης του North American Intergroup. Σε αυτή τη μελέτη χορηγήθηκαν 5 κύκλοι μετεγχειρητικής χημειοθεραπείας με 5-fluorouracil/leukovorin, πριν κατά τη διάρκεια και μετά το πέρας ακτινοθεραπείας με 45 Gy σε 25 συνεδρείες και έδειξε ένα ποσοστό 15% βελτίωση στη 5ετή επιβίωση (109).

Θεραπεία προχωρημένου ή μεταστατικού γαστρικού καρκίνου

Η χημειοθεραπεία σε ασθενείς με προχωρημένο ή μεταστατικό γαστρικό καρκίνο μπορεί να προσφέρει ανακούφιση από τα συμπτώματα της νόσου αλλά και βελτιώνει την επιβίωση και τη ποιότητα ζωής σε σύγκριση με τη βέλτιστη υποστηρικτική φροντίδα (best supportive care) (111, 112). Χημειοθεραπευτικά όπως mitomycin, 5-fluorouracil, cisplatin και etoposide έχουν δείξει δραστικότητα σε ασθενείς με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο (113-117). Νεότερα χημειοθεραπευτικά φάρμακα όπως irrinotecan (118), από του στόματος etoposide (119, 120), paclitaxel (121, 122), docetaxel (123, 124), λιποσωμιακή doxorubicin (125), capecitabine (126-128) έχουν δείξει δραστικότητα όταν χορηγούνται ως μονοθεραπεία αλλά και σε συνδιαστικά σχήματα σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο.

Στοχευμένες θεραπείες

Η υπερέκφραση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGFR) και του HER2, έχουν συσχετισθεί με πτωχή πρόγνωση σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (78, 129). Σε κλινικές μελέτες, το trastuzumab (αντί-HER2 αντίσωμα), bevacizumab (αντί-VEGFR αντίσωμα) cetuximab (αντί-EGFR αντίσωμα) έχουν αξιολογηθεί σε συνδιασμό με χημειοθεραπεία σε ασθενείς με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο. Η μελέτη ToGA είναι η πρώτη τυχαιοποιημένη, προοπτική, πολυκεντρική, φάσεως III μελέτη που μελέτησε τη δραστικότητα και την ασφάλεια του trastuzumab σε ασθενείς γαστρικούς όγκους με HER2 έκφραση. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι το trastuzumab σε συνδιασμό με χημειοθεραπεία έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τη χημειοθεραπεία μόνο, με σημαντική βελτίωση του μέσου όρου επιβίωσης 13.5 μήνες v.s 11.1 μήνες αντίστοιχα (130).

Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του bevacizumab (131), erlotinib (132), sorafenib (133) και του cetuximab (134, 135) έχει ελεγχεί σε μελέτες φάσεως II. Συνεχιζόμενες μελέτες φάσεως III βρίσκονται αυτή τη στιγμή σε εξέλιξη για να επιβεβαιώσουν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των παραπάνω θεραπευτικών παραγόντων σε συνδιασμό με χημειοθεραπεία σε ασθενείς με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο.

ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Γενικά ο καρκίνος του στομάχου έχει πτωχή πρόγνωση. Το σχετικό ποσοστό 5-ετούς επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του στομάχου είναι περίπου 20% (9, 12-14). Τα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών με γαστρικό καρκίνο εξαρτώνται από το

στάδιο στο οποίο βρίσκονται κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Το 33% των ασθενών που διαγιγνώσκονται με καρκίνο του στομάχου έχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις ενώ το 32% έχει τοπικοπεριοχική επέκταση και μόνο στο 23% η νόσος είναι εντοπισμένη (9). Ο Kattan et. al. (56) έχει αναπτύξει ένα προβλεπτικό εργαλείο (www.nomograms.org) με τη βοήθεια του οποίου μπορεί να γίνει υπολογισμός της 5-ετούς επιβίωσης ασθενών που έχουν χειρουργηθεί για γαστρικό καρκίνωμα (με εκτομή R0- δηλαδή μακροσκοπικά και μικροσκοπικά μη ανιχνεύσιμη υπολειπόμενη νόσο στα χειρουργικά όρια). Όπως και στα περισσότερα καρκινώματα έτσι και στη περίπτωση του καρκίνου του στομάχου οι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη είναι:

- η ηλικία του ασθενούς
- το μέγεθος του όγκου
- το φύλο (άνδρας/γυναίκα)
- τη θέση του όγκου στο στόμαχο (γαστρο-οισοφαγική συμβολή, σώμα, άνδρο)
- ο ιστοπαθολογικός τύπος του όγκου (εντερικός ή διάχυτος)
- το βάθος διήθησης στο τοίχωμα του στομάχου
- το ποσοστό των διηθημένων λεμφαδένων που βρέθηκαν κατά τη βιοψία
- το ποσοστό των μη διηθημένων λεμφαδένων που βρέθηκαν κατά τη βιοψία

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση είναι:

- απώλεια βάρους > 10% (136)
- ύπαρξη μεταστάσεων(137)
- ο βαθμός διαφοροποίησης (138)
- η γενική κατάσταση του ασθενούς (138)

Ασθενείς με καρκίνο του στομάχου οι οποίοι έχουν χειρουργηθεί με R0 εκτομή θα παρουσίασουν κάποια στιγμή υποτροπή της νόσου (139). Σύμφωνα με τον Ikeda et.

al. σε μία μελέτη 1172 ασθενών, το 42% αυτών παρουσίασε υποτροπή της νόσου και μάλιστα το 79% παρουσίασε την υποτροπή του στα πρώτα 2 χρόνια από το χειρουργείο (140). Οι υποτροπές ήταν τοπικές στο 54%, απομακρυσμένες στο 51% και περιτοναϊκές στο 29%. Ο μέσος χρόνος επιβίωσης μετά την υποτροπή ήταν 6 μήνες (140).

ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Η απόπτωση ή αλλιώς προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι η μορφή του κυτταρικού θανάτου που παρατηρείται όταν ο θάνατος είναι επιθυμητό η προγραμματισμένο γεγονός. Πρόκειται για φυσιολογική διαδικασία που παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο του αριθμού των κυττάρων κατά την ανάπτυξη και κατά τη διάρκεια της ζωής των πολυκύτταρων οργανισμών (141-144) απομακρύνοντας τα κύτταρα τα οποία έχουν ολοκληρώσει το ρόλο τους, βρίσκονται σε περίσσεια ή αποτελούν απειλή για τον οργανισμό. Ο ρόλος του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου είναι σημαντικός κατά τη διάρκεια της μορφογένεσης, της οργανογένεσης, της επούλωσης πληγών, καθώς και για την άμυνα του οργανισμού ενάντια ιών, σε καρκινικά κύτταρα καθώς και σε άλλες φυσιολογικές διαδικασίες (145). Αποτυχία ελέγχου της διαδικασίας απόπτωσης οφειλόμενη σε γενετικές μεταλλάξεις ή ανώμαλη έκφραση των πρωτεϊνών που συνδέονται με την απόπτωση (apoptosis related proteins) μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση σοβαρών ασθενειών (142, 146) . Για παράδειγμα υπο-ενεργοποίηση του αποπτωτικού μηχανισμού συχνά συνδέεται με καρκίνο, αυτοάνοσες διαταραχές και εμμένουσες ιογενείς λοιμώξεις, ενώ η ύπερ-ενεργοποίηση συνδέεται με πολλές μορφές νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως είναι η νόσος Alzheimer και ισχαιμικές εγκεφαλικές βλάβες (147-150).

Η απόπτωση περιγράφηκε αρχικά το 1965 από τον Kerr (151) ο οποίος παρατήρησε το θάνατο των ηπατοκυττάρων μετά την απολίνωση πυλαίων αγγείων σε αρουραίους. Αρχικά διέκρινε εστίες νέκρωσεις αλλά στη συνέχεια παρατήρησε σε διάσπαρτα μονήρη ηπατοκύτταρα συρρίκνωση του πυρήνα τους χωρίς ενδείξεις λυτικής ρήξης ή φλεγμονής. Ο Kerr ονόμασε το φαινόμενο αυτό απόπτωση για να δείξει την ομοιότητα των κυττάρων αυτών με τα φύλλα των δέντρων που πέφτουν το φθινόπωρο (144).

ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΝΕΚΡΩΣΗΣ

Στα ευκαριωτικά κύτταρα έχουν περιγραφεί δύο μορφές κυτταρικού θανάτου η απόπτωση και η νέκρωση. Η νέκρωση είναι η μορφή κυτταρικού θανάτου που έχει σαν αποτέλεσμα την προοδευτική διάλυση των κυτταρικών δομών. Το αίτιο της νέκρωσης συνήθως επιδρά σε μεγάλους αριθμούς ομόρων κυττάρων. Αυτό μπορεί να συμβεί μετά από μία μη αναστρέψιμη βλάβη που οφείλεται σε περιβαλλοντικές αλλαγές όπως η ισχαιμία, η υποξία, ακραίες θερμοκρασίες (υπερθερμία, ή υποθερμία) και μηχανικοί ή χημικοί τραυματισμοί. Μορφολογικά η νέκρωση χαρακτηρίζεται από οίδημα του κυτταροπλάσματος και των μιτοχονδρίων, ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης, διαρροή κυτταροπλασματικού περιεχομένου και πλήρη λύση του κυττάρου (152). Η νέκρωση, σε αντίθεση με την απόπτωση, οδηγεί συχνά σε οξεία φλεγμονώδη αντίδραση (153).

Η απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι φυσιολογική μορφή ‘αυτοκτονίας’ του κυττάρου (154) που εμφανίζεται κατά την εμβρυική ανάπτυξη και την εξέλιξη των οργάνων (155, 156) και σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα ερεθισμάτων φυσιολογικών και παθολογικών. Στα φυσιολογικά ερεθίσματα

εντάσσονται η επίδραση ορμονών ή άλλων παραγόντων (π.χ. αυξητικοί παράγοντες, νευροδιαβιβαστές, ουσίες συνδετικού υποστρώματος, TNF). Στην απόπτωση, το αρχικό ερέθισμα δεν είναι το ίδιο θανατηφόρο, αλλά θέτει σε κίνηση μία αλληλουχία κυτταρικών γεγονότων που καταλήγουν στον κυτταρικό θάνατο. Η απόπτωση αφορά ένα συγκεκριμένο κύτταρο ανεξάρτητα τους γειτονές του. Εικόνα 5

Εικόνα 5. Νέκρωση- απόπτωση

Νέκρωση (παθητικός κυτταρικός θάνατος που αφορά ομάδα κυττάρων)

Εξάντληση οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών ⇨ Εξάντληση του ATP ⇨ Βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης ⇨ Έκλυση ενζύμων ⇨ Φλεγμονώδης αντίδραση

Απόπτωση (αυτοκαταστροφή μονήρων κυττάρων)

Σήματα θανάτου ⇨ Ενδοκυττάρια αγωγή μυνήματος (κασπάσες) ⇨ Διάσπαση του κυττάρου σε σωμάτια ⇨ Φαγοκυττάρωση από γειτονικά κύτταρα

Το αποπτωτικό κύτταρο διαφέρει σε πολύ μεγάλο βαθμό από το νεκρωτικό (πίνακας 4), καθότι υφίσταται έναν ενεργό (με κατανάλωση ATP) και προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο που υπόκειται σε αυστηρή ρύθμιση, ενώ στο τελικό του στάδιο υπόκειται σε φαγοκυττάρωση από τα γειτονικά κύτταρα χωρίς να προκαλείται φλεγμονή (157). Σε αντίθεση με τη νέκρωση, η οποία θεωρείται πάντα παθολογική διαδικασία, η απόπτωση αποτελεί τμήμα πολλών βασικών λειτουργιών του ανθρώπινου οργανισμού, όπως είναι η ανάπλαση των ιστών κατά την ανάπτυξη και μετά από τραυματική βλάβη (φυσιολογική απόπτωση). Σε αυτή τη διαδικασία παίζει σημαντικό ρόλο η ισορροπία ανάμεσα στην απόπτωση και τον πολλαπλασιασμό. Όταν ο ρυθμός απόπτωσης στους ιστούς υπερτερεί σε σχέση με τον

πολλαπλασιασμό, το αποτέλεσμα είναι συνολική απώλεια κυττάρων, όπως παρατηρείται στην αρνητική επιλογή Τ-λεμφοκυττάρων στον θύμο αδένα των βρεφών. Αντιθέτως, αν ο πολλαπλασιασμός υπερτερεί της απόπτωσης υπάρχει συνολική αύξηση στον αριθμό των κυττάρων, όπως παρατηρείται στην αποκατάσταση των ιστών μετά από τραύμα αλλά και στις νεοπλασματικές νόσους (158).

Πίνακας 4. Μορφολογικές διαφορές μεταξύ απόπτωσης και νέκρωσης Cummings MC et al 1997 (159)

Μορφολογικά χαρακτηριστικά	Απόπτωση	Νέκρωση
Προσβολή	Μονήρη κύτταρα	Ομάδες κυττάρων
Συνδέσεις κυττάρων μεταξύ τους και με τη βασική μενβράνη	Απώλεια στα αρχικά στάδια	Απώλεια στα τελικά στάδια
Κυτταροπλάσματική μεμβράνη	Δημιουργία προεξοχών, Διατήρηση ακεραιότητας	Λύση μεμβράνης και απελευθέρωση κυτταρικών συστατικών
Θανάτωση κυττάρου	Συρρίκνωση-σχηματισμός αποπτωσωματίων	Διόγκωση και διάσπαση
Πυρήνας	Συρρίκνωση-Αποδόμηση	Αποδόμηση-διάρρηξη του πυρηνικού περιβλήματος
Χρωματίνη	Συμπήκνωση σε μάζες ομογενούς πυκνότητας	Συγκέντρωση σε μάζες ασαφούς περιγράμματος
Λυσοσώματα	Άθικτα	Διαρροή λυσοσωμικών ενζύμων
Κυτταροπλασματικά οργανίδια	Διογκώνονται στα τελικά στάδια	Διογκώνονται στα αρχικά στάδια
Εξιδρωματική φλεγμονή	Δεν παρατηρείται	Έντονη
Σχηματισμός ουλής	Όχι	Ναι
Φαγοκυττάρωση	Από γειτονικά κύτταρα	Όχι
Ερεθίσματα	Φυσιολογικά	Παθολογική βλάβη
Αντιστρέψιμη	Όχι	Ναι (μέχρι ενός σημείου)
Ρύθμιση	Αυστηρή με συνθετικά στάδια και στάδια δράσης	Καθόλου ή μικρή
Απαιτήσεις σε ενέργεια	Απαραίτητο ATP	Όχι
Αποδόμηση DNA	Διανουκλεοσωματική, κομμάτια μήκους 180-200bp(κατακερματισμός DNA)	Τυχαίας κατανομής
Ενεργοποίηση	Ναι	Όχι

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Οι πρώτες ενδείξεις που χαρακτηρίζουν την απόπτωση είναι η απώλεια των κυτταρικών συνδέσεων και εξειδικευμένων δομών της κυτταρικής μεμβράνης, η δημιουργία ακανόνιστων κυτταροπλασματικών προεκβολών (bleebs), και η εξαφάνιση μικρολαχνών (160-162). Στη συνέχεια, παρατηρούνται μεταβολές στο πυρηνικό περίβλημα, συμπύκνωση της χρωματίνης εντός του πυρήνα σε περιοχές όπου ομοιόμορφες λεπτές μάζες χρωματίνης εφάπτονται στο πυρηνικό περίβλημα με παράλληλη συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος. Προοδευτικά επέρχεται παραμόρφωση του σχήματος του πυρήνα και πιο γενικευμένη συρρίκνωση του κυττάρου, αποδιοργανώνεται ο κυτταροσκελετός ενώ συχνά ο πυρήνας κατατεμαχίζεται σε ευδιάκριτες υποπεριοχές (163). Οι προεξοχές της κυτταρικής μεμβράνης καταλήγουν σε διαφόρου μεγέθους ΄΄αποπτωτικά σωματίδια΄΄ που εγκλείουν θραύσματα της χρωματίνης, αρχικού μεγέθους 300-500 kbp και τελικού μεγέθους 180-200 bp, αλλά συχνά και άθικτα κυτταρικά οργανίδια (162). Αναμφισβήτητα το πρώτο κύριο μορφολογικό γνώρισμα της απόπτωσης είναι ο κατακερματισμός του πυρήνα αλλά και οι μεταβολές των μιτοχονδρίων είναι σημαντικής σημασίας. Δεν συνοδεύονται όμως από εκτεταμένη καταστροφή οργανιδίων.

Φαγοκυττάρωση

Τη φαγοκυττάρωση αναλαμβάνουν τα μακροφάγα ή τα γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα. Η απόπτωση των κυττάρων στον επιθηλιακό ιστό περιλαμβάνει: προσυμπυκνωση, δηλαδή απώλεια των κυτταρικών συνδέσεων και δεσμοσωματίων και συμπύκνωση, όπου το κυτταρόπλασμα συρρικνώνεται, τα κύτταρα αποκολλώνται

μεταξύ τους, και το δίκτυο του κυτταροσκελετού αποκολλάται. Βασικό χαρακτηριστικό των αποπτωτικών κυττάρων, το οποίο συνιστά το σήμα αναγνώρισης τους από τα μακροφάγα αποτελεί η απώλεια της ασυμμετρίας της κυτταρικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα, η μετακίνηση της φωσφατιδυλοσερίνης από την εσωτερική στην εξωτερική πλευρά της μεμβράνης. Η φωσφατιδυλοσερίνη αποτελεί το πρόσδεμα για συγκεκριμένους υποδοχείς της επιφάνειας των φαγοκυττάρων (164). Πιθανόν, να υπάρχουν και άλλοι υποδοχείς που μεσολαβούν στην αναγνώριση αποπτωτικών κυττάρων από τα φαγοκύτταρα, χωρίς να σχετίζονται με τα μόρια της φωσφατιδυλοσερίνης που υπάρχουν στην εξωτερική επιφάνεια (165).

ΚΑΣΠΑΣΕΣ

Οι κασπάσες (Cysteine Aspartate Specific Proteases, Caspases), είναι μία ομάδα πρωτεασών που έχουν ένα κατάλοιπο κυστεΐνης στο ενεργό κέντρο τους και υδρολύουν πεπτιδικούς δεσμούς μετά από κατάλοιπο ασπαραγινικού οξέος και εμπλέκονται στην απόπτωση, τη νέκρωση και τη φλεγμονή. Η δραστηριοτητά τους ρυθμίζεται στενά κατά την ανάπτυξη, την διαφοροποίηση και την ομοιόσταση των ιστών (166, 167).

Έχουν αναγνωριστεί 14 κασπάσες οι οποίες με βάση τις ομοιότητες στην αμινοξική τους ακολουθία, τη δομή και την ειδικότητα του υποστρώματος που καταλύουν διακρίνονται σε 3 κατηγορίες: η πρώτη (I) περιλαμβάνει τις κασπάσες εναρκτές της απόπτωσης (κασπάση -2, -8, -9 και 10), η δεύτερη (II) περλαμβάνει τις κασπάσες τελεστές της απόπτωσης (κασπάση -3, -6 και -7) και η τρίτη (III) περιλαμβάνει τις κασπάσες διαμεσολαβητές της φλεγμονής (κασπάση -1, -4, -5, -11, -12, -13, -14) (168).

Σχεδόν όλα τα κύτταρα περιέχουν στο κυτταρόπλασμα κασπάσες ανενεργές υπό μορφή προενζύμων (30-50kDa) που ονομάζονται ζυμογόνα και περιέχουν τρεις περιοχές: μία αμινοτελική πρόδρομη περιοχή (prodomain), μία μεγάλη υπομονάδα (περίπου 20kDa) που περιέχει το ενεργό κέντρο κυστεΐνης μέσα στο συντηρημένο μοτίβο αμινοξέων QACXG και μία μικρή καρβοξυτελική υπομονάδα (περίπου 10kDa) (169). Η ενεργοποίηση των κασπασών γίνεται μόλις δεχθούν ένα αποπτωτικό σήμα οπότε και υφίστανται πρωτεολυτική διάσπαση του εσωτερικού κατάλοιπου ασπαρτικού οξέος και έτσι προκύπτει μια ανενεργή αμινοτελική υπομονάδα και δύο καταλυτικές υπομονάδες οι οποίες σχηματίζουν ετεροδιμερές (168, 170, 171). Οι κασπάσες εκκινητές της απόπτωσης έχουν επίσης έναν τομέα (prodomain) στην αμινοτελική υπομονάδα τους η οποία διευκολύνει τις κασπάσες -8 και -9 να αλληλεπιδρούν με μεγάλα πολυπρωτεινικά σύμπλοκα που ρυθμίζουν τη δράση των κασπάσων.

Στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου οι κασπάσες λειτουργούν είτε ως εκκινητές ή τελεστές (167). Οι κασπάσες εκκινητές της απόπτωσης (όπως κασπάση -8, -9 και -10) αυτοενεργοποιούνται και ξεκινούν τη πρωτεολυτική δράση των κασπάσων τελεστών της απόπτωσης (όπως είναι η κασπάση -3) οι οποίες διασπούν άλλα πρωτεϊνικά υποστρώματα για να προκαλέσουν απόπτωση (167).

Οι κασπάσες αλληλεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες κυρίως μέσω των επιτόπιων DED (death effector domain) και CARD (caspase-recruitment domain) (172, 173) που φέρουν στο αμινοτελικό άκρο τους. Οι κασπάσες ενεργοποιούνται μετά από πέψη από άλλες κασπάσες, ενώ έχουν και τη δυνατότητα αυτοπρωτεολυτικής ενεργοποίησης. Κατ’αυτόν τον τρόπο, η ενεργοποίηση μιας κασπάσης έχει ως

αποτέλεσμα την ενεργοποίηση άλλων κασπασών και την σταδιακή ενίσχυση του σήματος μέσω πρωτεολυτικού καταρράκτη (174).

Η κασπάση-1 ρυθμίζει την έκκριση των προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β και IL -18 μέσου της διάσπασης των αντίστοιχων πρόδρομων μορφών αυτών των κυτοκινών, προ -IL-1β και προ- IL-18. Επιπλέον η κασπάση -1 μπορεί να διασπάσει και άλλα πρωτεϊνικά υποστρώματα, συμπεριλαμβανομένου και της προ-κασπάσης -7, μεσολαβεί στην έκκριση πρωτεϊνών καθώς και στην επισκευή της κυτταρικής μεμβράνης συμβάλλοντας στην κυτταρική επιβίωση μετά από την επίδραση βακτηριακών τοξίνων (175). Εκτός από τη κασπάση-1, τέσσερις επιπλέον κασπάσες που φυλλογενετικά σχετίζονται με τη κασπάση-1, εμπλέκονται στη ρύθμιση της φλεγμονής και γι'αυτό ονομάζονται κασπάσες διαμεσολαβητές της φλεγμονής . Αυτές είναι η κασπάση -1, η κασπάση -4 και η κασπάση -5 στον άνθρωπο και η κασπάση -1, η κασπάση -11 και η κασπάση -12 στο ποντικό (175). Η κασπάση -1 ενεργοποιείται με τη πρόσληψη σε μια μοριακή πλατφόρμα που ονομάζεται φλεγμονώσωμα (inflammasone).

Η κασπάση -2 είναι η πλέον συντηρημένη εξελικτικά όλων των κασπασών, παρόλα αυτά ο ρόλος της στην απόπτωση αποτελεί ζήτημα συζήτησης. Η κασπάση -2 είναι μοναδική στην οικογένεια των κασπάσων διότι έχει χαρακτηριστικά τόσο των εκκινητών όσο και των τελεστών της απόπτωσης και αυτό υποδηλώνει ότι αυτή η κασπάση μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στο προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Η κασπάση -2 έχει παρόμοια δομή με τις κασπάσες εκκινητές της απόπτωσης, κασπάση -8 και κασπάση -9. Περιέχει ένα προ-τομέα (prodomain) και μια μακριά και μια μικρή καταλυτική υπο-ομάδα. Ο προ-τομέας περιέχει ένα μοτίβο αλληλεπίδρασης

πρωτεΐνη-πρωτεΐνη που ονομάζεται τομέας πρόσληψης (recruitment domain) (CARD).

Η κασπάση-3 (CASPA3) είναι μέλος της οικογένειας των πρωτεασών κυστείνης-ασπαρτικού οξέως/ μετατρεπτικό ένζυμο της ιντερλευκίνης 1β. Η κασπάση-3 ενεργοποιείται απευθείας από την κασπάση -8, -9, και -10 στο αποπτωτικό κύταρο στο ενδογενές και εξωγενές μονοπάτι για την έναρξη της απόπτωσης. Η κασπάση-3 αρχικά παράγεται ως απενεργοποιημένο 32k Da προένζυμο, το οποίο κατά την διάρκεια της απόπτωσης ενεργοποιείται και απαρτίζεται από δύο υπο-ομάδες , p17-20 και p10-12. Η ενεργοποιειμένη κασπάση-3 είναι υπεύθυνη για τον κατακερματισμό της πολυ (ADP-ribose) πολυμεράσης (PARP). Η ενεργοποίηση της κασπάσης-3 οδηγεί επίσης σε διάσπαση του DNA μέσω απενεργοποίησης ενός αναστολέα του παράγοντα κατακερματισμού του DNA (DNA fragmentation), την ενδονουκλεάση υπεύθυνη για την μεσονουκλεοσωμική διάσπαση της χρωματίνης (176).

ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Ένας καθοριστικός παράγοντας στην επιλογή ενός κυττάρου για απόπτωση είναι η κατάσταση στην οποία βρίσκεται το DNA του. Έτσι, ένα κύτταρο που έχει υποστεί σημαντικές βλάβες στο γονιδίωμα έχει μεγάλες πιθανότητες να υποστεί απόπτωση. Κατά αυτή την έννοια, η απόπτωση παίζει σημαντικό ρόλο στην επιλεγμένη καταστροφή κυττάρων με γονιδιακές βλάβες. Επακόλουθο είναι ότι μείωση της απόπτωσης ευνοεί την επιβίωση μεταλλαγμένων κυττάρων.

Βιοχημικές μελέτες έδειξαν πως στα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την απόπτωση περιλαμβάνονται η κατάτμηση του DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων που οδηγεί σε ολιγονουκλεοσωμική κλίμακα (laddering) (177) η μερική αναστροφή της κυτταρικής μεμβράνης με την εμφάνιση του φωσφολιπιδίου φωσφατιδυλοσερίνη (PS), (178), και η πρωτεολυτική κατάτμηση ενός αριθμού ενδοκυτταρικών υποστρωμάτων (179). Ως αποτέλεσμα των αλλαγών της πλασματικής μεμβράνης, τα αποπτωτικά κύτταρα γρήγορα φαγοκυτταρώνονται, πριν την απελευθέρωση του ενδοκυτταρικού περιεχομένου και χωρίς την επαγωγή φλεγμονώδους απόκρισης.

Τα κύτταρα που υφίστανται αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο παρουσιάζουν διαδοχικές μεταβολές στον πυρήνα, στο κυτταρόπλασμα και στην κυτταρική μεμβράνη. Ο χρόνος που μεσολαβεί από την επίδραση του προ-αποπτωτικού ερεθίσματος έως την έναρξη της απόπτωσης ποικίλει, όμως οι μεταβολές συμβαίνουν εντός ολίγων λεπτών: αρχικά, τα αποπτωτικά κύτταρα χάνουν την επαφή με τα γειτονικά τους κύτταρα; στη συνέχεια πραγματοποιείται “διαστολή” του ενδοπλασματικού δικτύου και εξοίδηση της δεξαμενής του που σχηματίζει κυστίδια. Η απώλεια ύδατος και ιόντων έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του κυτταρικού όγκου και αύξηση της πυκνότητος του κυττάρου. Ο πυρήνας συμπυκνώνεται και η χρωματίνη σχηματίζει συμπυκνωμένες-συμπαγείς δομές κάτω από την, προς το παρόν, άθικτη πυρηνική μεμβράνη, ενώ ενδονουκλεάσες την αποδομούν. Στην επιφάνεια του κυττάρου οι κυτταρικές συνδέσεις καταργούνται, ενώ η κυτταροπλασματική μεμβράνη ‘‘συσπειρώνεται’’ και αποκτά φυσαλιδώδη εμφάνιση. Σε όλη αυτή τη διάρκεια, τα μιτοχόνδρια και τα ριβοσώματα διατηρούν αδρά τη δομή τους κι εν μέρει τη λειτουργικότητά τους. Προοδευτικά, καταστρέφεται ο κυτταροσκελετός και το κύτταρο συρρικνώνεται. Τελικά, ο πυρήνας κατακερματίζεται σε πολλαπλά τμήματα που περιβάλλονται από πυρηνική μεμβράνη.

Ακολουθεί η διάσπαση του κυττάρου στα περίφημα “αποπτωτικά σωμάτια” που επίσης περιβάλλονται από κυτταροπλασματική μεμβράνη και κάποια από τα οποία εμπεριέχουν πυρηνικά θραύσματα (Εικόνα 3β). Τα αποπτωτικά σωμάτια φαγοκυτταρώνονται ταχέως από τα γειτονικά κύτταρα και μακροφάγα, χωρίς την ανάπτυξη φλεγμονώδους αντίδρασης και παραμένουν εντός των φαγοσωμάτων ορατά στο οπτικό μικροσκόπιο για λίγες ώρες (180, 181). Ειδικό μορφολογικό χαρακτηριστικό της απόπτωσης αποτελεί ο κατακερματισμός του DNA από ενδονουκλεάσες. Αρχικά ανιχνεύονται μεγάλου μεγέθους θραύσματα DNA, 50 έως 300 kbp, που είναι παροδικά και πιθανά αποτελούν ροζέτες και αγκύλες χρωματίνης που απελευθερώνονται από την καθηλωμένη πυρηνική μήτρα. Ταχέως, περαιτέρω κατακερματισμός του DNA στις ενδονουκλεοσωμικές συνδετικές περιοχές λαμβάνει χώρα δημιουργώντας πολλαπλά ολιγονουκλεοτίδια 180-200 bp (ένα νουκλεόσωμα = 180 bp). Τα θραύσματα αυτά του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος απεικονίζονται χαρακτηριστικά ως “DNA ladder” κατά την ηλεκτροφόρηση σε γέλη αγαρόζης. Πρέπει να σημειωθεί ότι το μιτοχονδριακό DNA δεν καταστρέφεται κατά τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο, υποδηλώνοντας ότι ο κατακερματισμός του DNA αποτελεί ειδικό πυρηνικό συμβάν (180).

Η διαδικασία της απόπτωσης είναι δυνατό να διαιρεθεί, προς ανάλυση, σε τρία στάδια: επαγωγή-εκκίνηση, δέσμευση και εκτέλεση.

- Επαγωγή-εκκίνηση: Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος επάγεται από την επίδραση διαφόρων ερεθισμάτων, όπως κυτταροτοξικά φάρμακα, υπεριώδη ή γ-ακτινοβολία, ανασταλτικές κυτοκίνες (TNFα, lymphotoxin-β, Fas-Ligand, TGF-β), κυτταροτοξικά Τ-κύτταρα, στέρηση αυξητικών παραγόντων, ιούς, ερεθίσματα που προκαλούν οξειδωτικό stress. Οι διάφοροι

αυτοί επιβλαβείς παράγοντες πυροδοτούν την απόπτωση είτε μέσω ενός ενδοκυττάριου καταρράκτη αντιδράσεων (‘‘ενδογενής οδός’’), που τροφοδοτεί με σήματα θανάτου το μιτοχόνδριο, είτε μέσω της ‘‘εξωγενούς οδού’’, που μεταβιβάζει, μέσω ενεργοποίησης των υποδοχέων θανάτου (Fas/CD95, TNFR), σήματα από τους εξωκυττάριους ‘‘συνδέτες θανάτου’’ στο εσωτερικό του κυττάρου (FasLigand, TNFα, TRAIL/Apo2L, Apo3L) (Εικόνα 4). Υπάρχουν δύο σχετικά διακριτοί τύποι κυττάρων: τα κύτταρα τύπου Ι όπου η απόπτωση κυρίως πυροδοτείται μέσω της ‘‘εξωγενούς’’ οδού, χωρίς τη συμμετοχή των μιτοχονδρίων, και τα κύτταρα τύπου ΙΙ, όπου για την εκκίνηση της απόπτωσης απαιτείται η απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια. Παρ’όλ’αυτά, σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων υφίσταται διασύνδεση μεταξύ των δύο οδών με κυρίαρχο μόριο το BID, έτσι ώστε οι δύο μηχανισμοί να είναι αλληλένδετοι και όχι ανεξάρτητοι (182, 183).

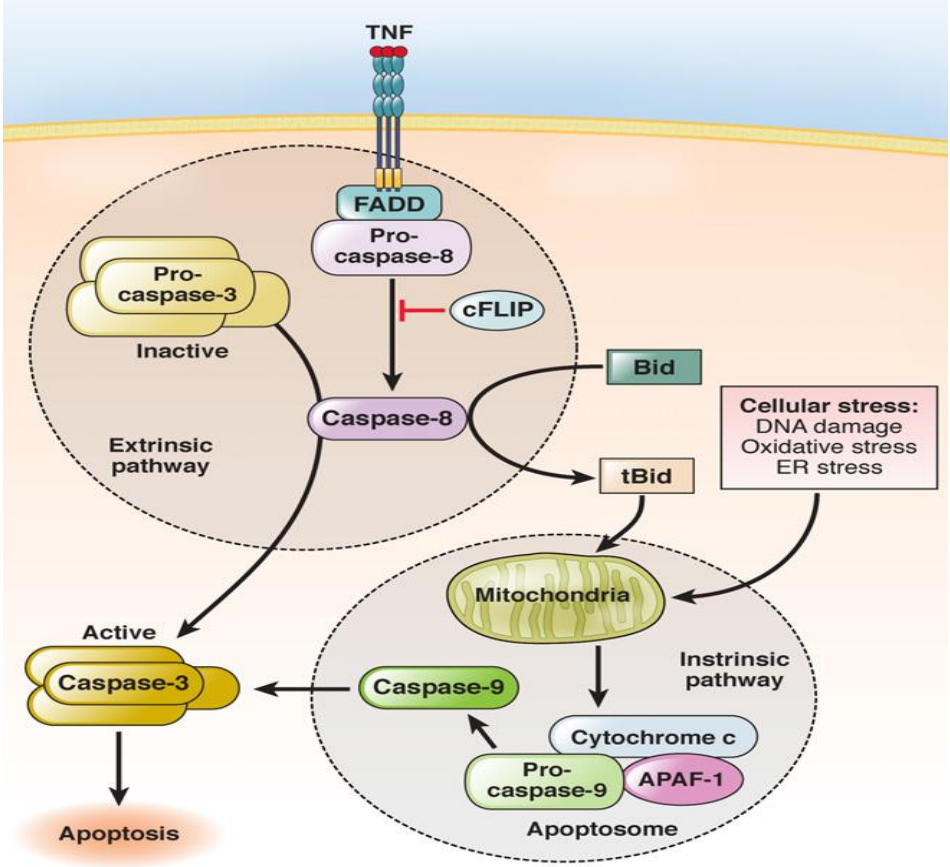
- Δέσμευση: Το στάδιο της δέσμευσης, όπου διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο τα μιτοχόνδρια και τα μέλη της οικογένειας Bcl-2 (προ- και αντι-αποπτωτικά), καταλήγει στην ενεργοποίηση των κασπασών, μιας οικογένειας κυστεϊν-ασπαρτικού οξέος πρωτεασών, που χαρακτηρίζονται ως εκτελεστικά μόρια του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Οι πρωτεΐνες αυτές υπάρχουν σε ανενεργό μορφή (ως προ-κασπάσες) στο κυτταρόπλασμα και κατά την πρόοδο της αποπτωτικής διεργασίας ενεργοποιούνται μέσω πρωτεόλυσης και σε έναν καταρράκτη αντιδράσεων ενεργοποιούν η καθεμία την επόμενη. Οι ενεργοποιημένες κασπάσες προκαλούν σταδιακή και εκλεκτική αποδόμηση-πρωτεόλυση των κυτταρικών συστατικών.

- Εκτέλεση: Τα επακόλουθα της ενεργοποίησης των κασπασών συνιστούν ουσιαστικά το εκτελεστικό μέρος της αποπτωτικής διαδικασίας. Πρέπει, πάντως, να σημειωθεί ότι το παλαιότερο δόγμα για μη αναστρέψιμη δέσμευση του κυττάρου στο θάνατο μετά την ενεργοποίηση του καταρράκτη των κασπασών δεν ισχύει πλέον, μετά την ανάδειξη οικογένειας πρωτεϊνών που αναστέλλουν τις κασπάσες ακόμη και σε προχωρημένο στάδιο της απόπτωσης: πρόκειται για τους αναστολείς της απόπτωσης (Inhibitors of Apoptosis Proteins ή IAPs) καθώς και μέλη της οικογένειας των Heat Shock Proteins (Hsps). Τουλάχιστον πέντε διαφορετικές IAPs επιδεικνύουν αντι-αποπτωτική δραστηριότητα σε κυτταροκαλλιέργειες: X-linked ınhibitor of apoptosis (XIAP, hILP), c-IAP1 (HIAP2), c-IAP2 (HIAP1), neuronal IAP, και η survivin. Όλες συνδέονται και αναστέλλουν την ενεργό κασπάση-3 και -7, καθώς και την προκασπάση-9, όχι όμως τις κασπάσες-1, -6, -8 ή -10 (184).

Υπάρχουν δύο αποπτωτικοί μηχανισμοί οι οποίοι είναι εν μέρη συνδεδεμένοι μεταξύ τους: η κλασσική απόπτωση η οποία εξαρτάται από τις κασπάσες και ο μη εξαρτώμενος από τις κασπάσες προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, ο οποίος μερικές φορές ονομάζεται νεκρόπτωση (185, 186). Και οι δύο μορφές κυτταρικού θανάτου μπορεί να αλληλοσυνδέονται καθώς οι κασπάσες μπορεί να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση μη- κασπασικών πρωτεασών (non-caspase proteases) και το αντίστροφο.

Υπάρχουν δύο διαφορετικές οδοί που μπορεί να ακολουθήσουν οι κασπάσες εκκινητές της απόπτωσης οι οποίες διαφέρουν ανάλογα με το αποπτωτικό ερέθισμα (Εικόνα 6).

Εικόνα 6 (187)



Η ενδογενής οδός, που ονομάζεται και μιτοχονδριακό μονοπάτι διότι ξεκινάει μέσα στο μιτοχόνδριο εξαιτίας ενδοκυτταρικού στρές όπως βλάβη του DNA, οξειδωτικού στρες ή στρες του ενδοπλασματικού δικτύου. Το μιτοχονδριακό μονοπάτι ρυθμίζεται από τις πρωτεινές της οικογένειας Bcl2. Αυτές οι πρωτείνες ελέγχουν την διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Μία δομή ανάλογη της αίμης που περιέχει τη πρωτείνη του κυτοχρώματος c βρίσκεται στο εξωτερικό τμήμα της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης και απελευθερώνεται στο κυτταροσόλιο. Η εκκινητής προ-κασπάση -9 σχηματίζει ένα σύμπλεγμα με τη μιτοχονδριακή πρωτείνη του κυτοχρώματος c όπου μαζί με ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη) συνδέεται με τον παράγοντα ενεργοποίησης της αποπτωτικής πρωτεάσης (Apaf1)

σχηματίζοντας έτσι ένα πρωτεινικό σύμπλεγμα γνωστό ως αποπτώσωμα (188). Το αποπτώσωμα ενεργοποιεί τη κασπάση -9 η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τη κασπάση -3. Στη περίπτωση στρες του ενδοπλασματικού δικτύου αρχικά ενεργοποιείται η κασπάση 2 ή -4 οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν σε ενεργοποίηση της κασπάσης 12 όπου με τη σειρά της κινητοποιεί την ενδογενή οδό της απόπτωσης. Παρόλο που το μιτοχονδριακό μονοπάτι περιλαμβάνεται στον εξαρτώμενο από τις κασπάσες αποπτωτικό μηχανισμό, μόλις το κυτόχρωμα c απελευθερωθεί, μπορεί να προκαλέσει την εκκίνηση του μη εξαρτώμενου από τις κασπάσες αποπτωτικού μηχανισμού. Στον εξαρτώμενο από τις κασπάσες αποπτωτικό μηχανισμό, ο παράγοντας πρόκλησης της απόπτωσης (μία φλαβοπρωτείνη) και η ενδονουκλεάση G επίσης απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια και μεταναστεύουν στο πυρήνα για να συμπυκνώσουν τη χρωματίνη (188, 189).

Η εξωγενής οδός που μεταβιβάζει μέσω ενεργοποίησης των διαμεμβρανικών υποδοχέων θανάτου [death receptors όπως CD95/APO-1/Fas, tumor necrosis factor α (TNF)-receptors, ‘TNF related apoptosis inducing ligand’ (TRAIL)-receptors], σήματα από τους εξωκυττάριους ‘συνδέτες θανάτου’ (ligand) [APO-1/Fas, TNF, TRAIL] στο εσωτερικό του κυττάρου. Οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς προσελκύουν μόρια (adaptor molecules) όπως το FADD και αυτή η αλληλεπίδραση κινητοποιεί την προ-κασπάση -8 οδηγώντας στην αυτοκαταλυτική της διάσπαση και ενεργοποίηση. Υπάρχουν διάφορα ζευγάρια υποδοχέων/συνδετών (receptor/ligand) δηλαδή Fas/FasL και TNF/TNFR1 TRAIL/DRs, τα οποία όλα οδηγούν στην ενεργοποίηση της κασπάσης-8. Η ενεργοποιημένη κασπάση -8 ενεργοποιεί τη κασπάση -3 καθώς και άλλες τελεστές κασπάσες που μεσολαβούν στο μονοπάτι του κυτταρικού θανάτου (188, 190).

Καθένα από τα δύο μονοπάτια οδηγεί στην ενεργοποίηση της κασπάσης- 9 και κασπάσης- 8 αντίστοιχα και στη συνέχεια στην ενεργοποίηση των κασπάσων τελεστών της απόπτωσης (κασπάση- 3, -6 και -7). Η αλληλουχία ενεργοποίησης των κασπασών επιτρέπει ταχεία ενίσχυση του αποπτωτικού σήματος διότι η ενεργοποίηση της κασπάσης εκκινητή μπορεί να διασπάσει πολλά μόρια τελεστών κασπασών τα οποία με τη σειρά τους διασπούν πολυάριθμους πρωτεινικούς στόχους (187).

ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Η απόπτωση είναι αναγνωρισμένη ως ένα σημαντικό εμπόδιο που πρέπει να παρακάψουν τα καρκινικά κύτταρα για να μπορέσουν να επιβιώσουν και να πολλαπλασιαστούν σε τέτοιες αγχωτικές για αυτά συνθήκες. Έχει αναγνωριστεί ότι διάφορες πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου. Επίσης η υπερ-έκφραση ή η υπο-έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων έχει βρεθεί ότι συμβάλλουν στη καρκινογένεση μειώνοντας την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων (191). Οι όγκοι αποκτούν αντίσταση στην απόπτωση μέσω διαφόρων στρατηγικών μεθόδων.

Ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53

Απώλεια της λειτουργίας ή μεταλλάξεις της πρωτεΐνης p53 (καρκινικού καταστολέα) παρατηρείται συχνά για παράδειγμα. Επειδή η πρωτείνη p53 μπορεί να προωθήσει την απόπτωση ενεργοποιώντας τη μεταγραφή των προ-αποπτωτικών Bcl-2 πρωτεϊνών στο πλαίσιο βλαβών του DNA (192), μη λειτουργικές πρωτείνες p53

μπορούν άμεσα να συνδεθούν με αποτυχία να επάγουν την απόπτωση μετά από κυτταρικό στρες. Επιπλέον, ποντίκια με ανεπάρκεια της p53 είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στην ανάπτυξη όγκων.

Η οικογένεια πρωτεϊνών Bcl-2

Άλλες αντι-αποπτωτικές τροποποιήσεις που παρατηρούνται σε ανθρώπινους όγκους εμπλέκουν την οικογένεια πρωτεϊνών Bcl-2, όπως η απώλεια των λειτουργικών προ αποπτωτικών Bax και Bak (193, 194), ή η υψηλή έκφραση των αντί-αποπτωτικών πρωτεϊνών. Σε ένα υπότυπο λεμφωμάτων από Β -κύτταρα, η πρωτείνη Bcl- 2 έχει υψηλή έκφραση ως συνέπεια της μετάθεσης ενός γονιδίου της Bcl- 2 δίπλα σε ένα γονίδιο ανοσοσφαιρίνης (195). Σε συμφωνία με την υπόθεση ότι η αντίσταση στην απόπτωση ευνοεί τον σχηματισμό όγκων, αυτή η μετάθεση αυξάνει τη συχνότητα εμφάνισης όγκων από Β -κύτταρα σε ποντίκια (196). Επιπλέον, οι τροποποιήσεις στα μονοπάτια των υποδοχέων θανάτου μπορούν επίσης να διαδραματίσουν ένα ρόλο στην αντίσταση στην απόπτωση. Για παράδειγμα, η έκφραση του υποδοχέα Fas είναι υψηλή στο φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου, αλλά μειώνεται ή ακόμα και χάνεται σε καρκινώματα του εντέρου (197). Απουσία του υποδοχέα Fas επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να αποφύγουν την καταστροφή τους από το ανοσοποιητικό σύστημα που προκαλείται από τα κυτταροτοξικά λεμφοκυττάρα μέσω αυτής της οδού. Επιπλέον, το c- FLIP {πρόκειται για έναν κύριο αντι-αποπτωτικό και ρυθμιστικό παράγοντα που καταστέλλει τον TNF-α, Fas-L και TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)}- υπερεκφράζεται σε καρκίνους του παχέος εντέρου , το οποίο έχει αποδειχθεί ότι προστατεύει τα καρκινικά κύτταρα από την επαγόμενη απόπτωση από τα κυτταροτοξικά κύτταρα T in vivo (198, 199).

Αναστολείς των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών (IAPs)

Οι αναστολείς των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών είναι ομάδα πρωτεϊνών όπου δομικά και λειτουργικά μοιάζουν με τις πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την απόπτωση την κυτταροκίνηση και τη μεταγωγή σήματος. Χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός βακουλοϊό (baculovirus) IAP όπου περιέχουν μία BIR πρωτεϊνική περιοχή (η περιοχή αυτή έχει ένα αριθμό αμινοξέων συμπεριλαμβανομένου τριών κυστεϊνών και μία ιστιδίνη η οποία συντονίζει ένα ιόν ψευδαργύρου) (200). Έχουν προσδιοριστεί οχτώ αντι-αποπτωτικών πρωτεΐνες: NAIP (BIRC1), c-IAP1 (BIRC2), c-IAP2 (BIRC3), X-linked IAP (XIAP, BIRC4), Survinin (BIRC5), Apollon (BRUCE, BIRC6), Livin/ML-IAP (BIR7) and IAP-like protein 2 (BIRC8) (201). Οι αναστολείς των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών είναι ενδογενείς καταστολείς των κασπασών και μπορούν να αναστείλουν την δραστικότητα των κασπασών με τη σύνδεση της BIR πρωτεϊνικής περιοχής τους στις ενεργές περιοχές των κασπασών, μέσω της προώθησης της αποδόμησης των ενεργών κασπασών ή διαμέσου της απομάκρυνσης των κασπασών από τα υποστρωματά τους (202). Απορρύθμιση της έκφρασης των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών έχει αναφερθεί σε διάφορους καρκίνους. Σε μελέτη του ο Lopes et.al έδειξε ανώμαλη έκφραση των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών στα παγρεατικά καρκινικά κύτταρα και ότι αυτή η ανώμαλη έκφραση ήταν επίσης υπεύθυνη για την αντοχή στη χημειοθεραπεία (203). Σε άλλη μελέτη έχει βρεθεί υψηλή έκφραση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Livin σε μελανώματα και σε λεμφώματα (204, 205), ενώ η αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνη Apollon έχει βρεθεί να είναι αυξημένη σε γλιώματα και είναι υπεύθυνη για την αντοχή στη σισπλατίνη (206). Επίσης η αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη Survinin έχει βρεθεί ότι υπέρ-εκφράζεται σε αιματολογικές κακοήθειες (207) καθώς και η XIAP σε μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (208).

Μειωμένη δραστικότητα των κασπασών

Οι κασπάσες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη και την επιτέλεση της απόπτωσης. Είναι λοιπόν λογικό να επικρατεί η άποψη ότι χαμηλά επίπεδα κασπασών ή βλάβη στη λειτουργεία τους μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της απόπτωσης και σε καρκινογένεση. Έχει βρεθεί ότι μείωση της ρύθμισης της κασπάσης-9 είναι συχνή σε ασθενής με σταδιού ΙΙ καρκίνου του παχέως εντέρου και συσχετίζεται με φτωχή πρόγνωση (209). Επίσης τα επίπεδα της κασπάσης-3 έχει βρεθεί ότι είναι μη ανιχνεύσιμα σε καρκινώματα του μαστού και του τραχήλου της μήτρας ή σημαντικά μειωμένα σε καρκίνους των ωοθηκών γεγονός που υποδηλώνει ότι η απώλεια της έκφρασης της κασπάσης-3 ή της λειτουργείας της μπορεί να συμβάλλει στην επιβίωση των καρκινικών κυττάρων (191, 210).

Διαταραχή στη σηματοδότηση του υποδοχέα θανάτου

Οι υποδοχείς θανάτου (death receptors)- όπως ο TNFR1(tumor necrosis factor receptor 1 γνωστός και ως DR 1), ο Fas (γνωστός και ως DR 2) ο DR 3, ο DR 4, ο DR 5, ο DR 6, ectodysplasin A receptor και ο νευρικός αυξητικός παράγοντας- καθώς και οι συνδέτες των υποδοχέων θανάτου (ligands of the death receptors) παίζουν σημαντικό ρόλο στο εξωγενές μονοπάτι της απόπτωσης. Αυτοί οι υποδοχείς κατέχουν μία περιοχή θανάτου (FADD) η οποία όταν ενεργοποιείται από κάποιο σήμα θανάτου, έλκει έναν αριθμό μορίων στη περιοχή θανάτου με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του καταρράκτη σηματοδότησης (211). Ανωμαλίες που περιλαμβάνουν επηρεασμό ή βλάβη της λειτουργείας καθώς και μείωση των επιπέδων των υποδοχέων θανάτου συμβάλλουν σε διαταραγμένη σηματοδότηση και ως εκτούτου σε μείωση της απόπτωσης. Η μειωμένη έκφραση του TNFR1 έχει βρεθεί ότι παίζει ρόλο στην ανθεκτική στη χημειοθεραπεία λευχαιμία (212) καθώς και στο

νευροβλάστωμα (213). Μειωμένη μεβρανική έκφραση των υποδοχέων θανάτου έχει επίσης αναφερθεί να παίζει ρόλο στη διαφυγή της σηματοδότησης μονοπατιών θανάτου σε διάφορους καρκίνους (214).

Συμπερασματικά, η αντίσταση στην απόπτωση είναι η κοινή έκβαση όλων των διαφορετικών αντι-αποπτωτικών τροποποιήσεων που βρίσκοται στους ανθρώπινους όγκους (215). Επομένως, η αντίσταση στην απόπτωση παίζει σημαντικό ρόλο στην ογκογένεση.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η εργασία αυτή έχει ως σκοπό να μελετήσει τις κλινικές, εργαστηριακές και θεραπευτικές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων της έκφρασης της κασπάσης-3 καθώς και του κερματισμένου DNA που επηρεάζουν την πορεία ασθενών με μεταστατικό καρκίνο στομάχου, σε σχέση με το χρόνο επιβίωσης αυτών των ασθενών και την ανταπόκρισή τους στη θεραπεία.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΣ

Είναι αναδρομική μελέτη αρχείου κατά την οποία μελετήθηκαν συνολικά 408 φακέλοι ασθενών μεταξύ ιανουαρίου 1991- απριλίου 2011 και τελικά αξιολογήθηκαν και συμπεριελήφθησαν στη μελέτη μας 359 ασθενείς. Η παρούσα μελέτη έγινε σε υλικό αρχείου του Ογκολογικού Ιατρείου του Γ.Ν. «Λαϊκό» . Μελετήσαμε πλακίδια με ιστολογικά δείγματα απο 359 ασθενείς με διάγνωση καρκίνου του στομάχου σταδίου IV. Ασθενείς με όγκους στη γαστροοισοφαγική συμβολή, λέμφωμα και πλακώδες καρκίνωμα αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Όλοι οι ασθενείς που συμπεριελήφθησαν στη μελέτη είχαν ιστολογική διάγνωση γαστρικού αδενοκαρκινώματος και όλα τα δημογραφικά, κλινικά, απεικονιστικά, εργαστηριακά και τα follow up στοιχεία. Η μεταστατική νόσος διαγνώσθηκε με την εφαρμογή διαφόρων απεικονιστικών μεθόδων, συμπεριλαμβανομένου της ακτινογραφίας, υπερηχογραφήματος και της αξονικής τομογραφίας. Η λήψη δειγμάτων ιστού έγινε είτε με γαστροσκόπηση είτε κατά τη διάρκεια χειρουργείου (ολική ή υφολική γαστρεκτομή). Η διάγνωση καρκίνου του στομάχου επιβεβαιώθηκε ιστολογικά στους 251/359 (69.9%) ασθενείς, από χειρουργική λήψη βιοψίας. Στους υπόλοιπους

108/359 (30.1%) η διάγνωση επιβεβαιώθηκε με βιοψία διά βελόνης υπό υπερηχοτομογράφο κυρίως από ηπατικές ή περιτοναϊκές μεταστάσεις.

Η σταδιοποίηση έγινε με το TNM σύστημα και η διαφοροποίηση σύμφωνα με τις οδηγίες του America Joint Committee on Cancer (AJCC, 6th edition).

Οι προϋποθέσεις εισόδου της κάθε περίπτωσης ασθενούς στη μελέτη ήταν οι κάτωθι:

- Παρουσία ιστολογικής ή κυτταρολογικής τεκμηρίωσης της νόσου.
- Ο ασθενής να πάσχει από αποδεδειγμένα ανεγχείρητο (μη ριζικά εξαιρέσιμο) καρκίνο στομάχου.
- Καταγραφή στο φάκελο του ασθενούς όλων των στοιχείων των υπό μελέτη παραμέτρων.
- Ύπαρξη συνεχούς παρακολούθηση της πορείας της νόσου από τη διάγνωση έως το θάνατο.

Κανείς από τους ασθενείς δεν έλαβε προεγχειρητικά ακτινοθεραπεία ή χημειοθεραπεία.

Η επιβίωση των 359 ασθενών που κρίθηκαν ικανοί προς εκτίμηση και περιελήφθησαν στη μελέτη, υπολογίσθηκε σε εβδομάδες, από την ημέρα της διάγνωσης έως το θάνατο. Οι ασθενείς ήταν υπό συνεχή τακτική παρακολούθηση από την διάγνωση έως το θάνατό τους. Κατά την εκτίμηση των δεδομένων της μελέτης, όλοι οι ασθενείς είχαν αποβιώσει και ο θάνατος όλων των ασθενών οφειλόταν αποκλειστικά στην ασθένεια τους.

Επιλογή του υλικού για τον προσδιορισμό των κασπασών και Tunnel

Μονιμοποιημένο υλικό από κύβους παραφίνης συγκεντρώθηκε από όλους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε γαστρεκτομή και εντάχθηκαν στη μελέτη. Σε όλες τις περιπτώσεις, κόπηκαν νέες τομές και χρωματίσθηκαν με αιματοξυλίνη και εωσίνη (H&E), οι οποίες εκτιμήθηκαν και αξιολογήθηκαν από ειδικούς παθολογοανατόμους στο1ο Εργαστήριο Γενικής Παθολογίας και Παθολογικής Ανατομικής του ΕΚΠΑ. Ειδικότερα, αξιολογήθηκε ο τύπος του νεοπλάσματος, η διαφοροποίηση και το ποσοστό του νεοπλάσματος σε σχέση με τον γύρω ιστό.

Ανοσοϊστοχημική ανάλυση

Όλα τα πλακίδια, μετά την ανοσοϊστοχημική χρώση, εκτιμήθηκαν στο κοινό μικροσκόπιο για την ύπαρξη ή όχι χρώσης στο αντίστοιχο αντιγόνο. Η έκφραση της κασπάσης-3 στον αρχικό όγκο προσδιορίστηκε με τη βοήθεια μονοκλωνικού αντισώματος ποντικού έναντι ανασυνδυασμένης ανθρώπινης CPP32 πρωτεΐνης (κασπάσης-3) (Thermo scientific, Caspase 3 (CPP32) Ab-1) σε αραίωση 1:50. Το πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημείας διεξήχθη σε 5-μm πάχος τομές παραφίνης των αντίστοιχων μπλοκ δειγμάτων. Οι τομές του ιστού αρχικά , αποπαραφινώθηκαν σε ξυλόλιο και επανυδατώθηκαν με διαβαθμισμένη αιθανόλη και στη συνέχεια ανοσοχρώση σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (Thermo scientific, Runcom, United Kindom) . Για την αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης , οποιοσδήποτε αριθμός πάνω από το μηδέν θεωρήθηκε ως θετική έκφραση της κασπάσης- 3. Η ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση διεξήχθη από έναν παθολογοανατόμο τυφλό στα

κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των ασθενών και των αποτελεσμάτων τους.

DNA αποπτωτικός δείκτης (κατάτμηση DNA)

Όπως προαναφέρθηκε, χαρακτηριστικό γνώρισμα του αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου είναι η συμπύκνωση της χρωματίνης και ο κατακερματισμός του χρωμοσωμικού DNA σε διαμεσονουκλεοσωματικά θραύσματα της τάξεως των 180-200 ζευγών βάσεων (144, 160). Η μέθοδος ανίχνευσης του κατακερματισμένου DNA (in situ terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling of fragmented DNA, ή TUNEL) διεξήχθη όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί (216). Εν ολίγοις χρησιμοποιήθηκαν μπλοκ παραφίνης από τους αρχικούς όγκους στα οποία αρχικά έγινε αποπαραφίνωση στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε ξυλόλιο και επανυδατώθηκαν σε διαλύματα αλκοόλης (100 % , 95% , 70 %, 50 % και 0 %). Μετά την επανυδάτωση , τα πλακίδια επωάστηκαν με 20 μg / ml πρωτεϊνάσης K σε PBS (phosphate buffer saline) για 15 λεπτά. Η ενδογενής υπεροξειδάση απενεργοποιήθηκε με κατεργασία των πλακιδίων με 3% υπεροξείδιο του υδρογόνου. Οι τομές ιστού βάφτηκαν με τη χρήση του TdT-FragEL DNA Fragmentation Detection Kit (Calbiochem, Cat. No QIA33, United Kindom) για την ανίχνευση των κυττάρων που δείχνουν ενδοπυρηνοσωματική κατάτμηση DNA. Η διαδικασία διεξήχθη σύμφωνα με τις οδηγίες του προμηθευτή. Η μέθοδος βασίζεται στην επιλεκτική σύνδεση της τερματικής δεοξυνουκλεοτιδική τρανσφεράσης (TdT) με τα ελεύθερα 3΄- OH άκρα που προκύπτουν από τον κατακερματισμό του DNA. Για τους αρνητικούς μάρτυρες, απιονισμένο νερό χρησιμοποιήθηκε αντί του TdT. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του TUNEL, οι τομές επωάστηκαν με Dnase I προκειμένου να επιβεβαιωθεί η ακεραιότητα του DNA όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί (217, 218). Μετά από ενζυματική επεξεργασία όλοι οι πυρήνες έγιναν θετικοί υποδεικνύοντας ότι το DNA

δεν ήταν κατακερματισμένο πριν την πέψη. Μετά τη σήμανση (labeling) οι τομές επωάστηκαν με αβιδίνη-βιοτίνη υπεροξειδάση και χρωματίστηκαν με διαμινοβενζιδίνη για να ανιχνεύσει τους σημασμένους με βιοτίνη πυρήνες. Τα αποπτωτικά σώματα ταυτοποιήθηκαν από τη παρουσία καφέ χρώσης. Δέκα τυχαία πεδία ανά τμήμα εξετάστηκαν σε υψηλή μεγένθυση (x 400) για να προσδιοριστεί το ποσοστό των θετικά σημασμένων πυρήνων με κατάτμηση του DNA.

Στατιστική ανάλυση

Περιγραφική στατιστική χρησιμοποιήθηκε για να παρουσιασθούν οι ποσοτικές μεταβλητές της μελέτης (μέση τιμή, διάμεσος, mix, max, τυπική απόκλιση). Πίνακες συχνότητας χρησιμοποιήθηκαν για να παρουσιάσουν τις διακριτές μεταβλητές της μελέτης.

Συσχετίσεις μεταξύ των ποσοτικών παραγόντων και των διακριτών μεταβλητών πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του student t-test. Ο έλεγχος Chi square ή Fisher Exact (για 2x2 πίνακες) χρησιμοποιήθηκαν για να μελετήσουν τη συσχέτιση μεταξύ διακριτών μεταβλητών.

Η τεχνική Kaplan Meier χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστούν οι χρόνοι επιβίωσης. Ο έλεγχος Log rank χρησιμοποιήθηκε για να μελετήσει διαφορές στη συνολική επιβίωση μεταξύ των παραμέτρων.

Πολυμεταβλητή λογιστική παλινδρόμηση (logistic regression) πραγματοποιήθηκε ώστε να μελετηθεί η παράλληλη επίδραση των προγνωστικών παραγόντων στη συνολική απόκριση στην αγωγή. Ένα μοντέλο Cox παλινδρόμησης υλοποιήθηκε επίσης ώστε να μελετήσει την παράλληλη επίδραση των προγνωστικών παραγόντων στη συνολική επιβίωση.

Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS για επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των κασπασών καθώς και του TUNNEL έγινε από τον παθολογοανατόμο, τον αναπληρωτή. Καθηγητή ΕΚΠΑ. κ. Α. Λάζαρη.

Η παθολογοανατομική μελέτη έγινε ανεξάρτητα από τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών και την επιβίωση, όπως συνιστάται διεθνώς.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον πίνακα 6. 232 (64.6%) άτομα ήταν άνδρες και 127 (35.4%) ήταν γυναίκες. Η μέση ηλικία ήταν 60.2 έτη. Η έκφραση της κασπάσης-3 ήταν θετική σε 157/359 ασθενείς με γαστρικό καρκίνο.

Η έκφραση της κασπάσης-3 δεν είχε κάποια σημαντική συσχέτιση με τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης, το στάδιο, την ηλικία, το φύλο,τη κατάσταση ικανότητας (performance status), τη παρουσία (τοπικών ή απομακρυσμένων) μεταστάσεων (πίνακας 7). Παρ΄όλα αυτά η έκφραση της κασπάσης-3 βρέθηκε να συσχετίζεται με την απόπτωση, η οποία εκφράζεται με τον αποπτωτικό δείκτη του DNA ο οποίος υπολογίστηκε με τη μέθοδο TUNEL (πίνακας 7).

Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά των ασθενών (ν=359)

	Χαρακτηριστικά	ν	%
Φύλο	Άρεν	232	64.4
	Θύλη	127	35.4
Σημείο όγκου	Άντρο/Πυλωρός	151	42.1
	Σώμα	208	57.9
Karnofsky PS τιμή	60/100	19	5.3
	70/100	114	31.8
	80/100	129	35.9
	90/100	78	21.7
	100/100	19	5.3
Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης	Grade 1	16	4.5
	Grade 2	197	54.9
	Grade 3	146	40.7
Μεταστάσεις	Λεμφαδενικές	291	81.1
	Ηπατικές	173	48.2
	Πνευμονικές	31	8.6
	Ωοθήκες	30	8.4
	Σκελετικές	8	2.2
	Ενδοκοιλιακές/περιτοναϊκή καρκινωμάτωση	163	45.4
Θεραπεία	FLV	141	40.2
	Συνδιαστικά σχήματα	210	59.8
Εργαστηριακά	Χαμηλή αλβουμίνη ορού (<3.4g/dl)	157	43.7
	Υψηλή Ldh>225U/L	187	52.1
	Υψηλή CRP>5mg/dl	168	46.8
	Hp (θετικό)	109	30.4
Θετική έκφραση κασπάσης-3		157	43.7
CEA	Mean (SD)	17.0 (24.3)	
	Median	5.0	
CA19.9	Mean (SD)	160.0 (297.3)	
	Median	44.0	
CA72.4	Mean (SD)	41.4 (51.7)	
	Median	20.5	
DNA αποπτωτικός δείκτης (Tunnel)	Mean (SD)	6.4 (11.5)	
	Median	2.0	

PS, performance status (κατάσταση ικανότητας); HP, ελικοβακτήριο πυλωρού; CEA, καρκινοεμβρυικό αντιγόνο; CA19.9, καρκινικό αντιγόνο 19-9; CA72.4, καρκινικό αντιγόνο 72.4; SD, standard deviation.

Πίνακας 7. Συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της κασπάσης-3 και τους παράγοντες που διερευνήθηκαν.

	Αρνητική έκφραση κασπάσης-3	Θετική έκφραση κασπάσης-3	p-value
Φύλο (άρεν)	56.5%	43.5%	1.00
PS τιμή (90/100)	60.8%	39.2%	0.34
Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης			0.87
Grade 1	62.5%	37.5%	
Grade 2	56.3%	43.7%	
Grade 3	55.5%	44.5%	
Θέση του όγκου στο σώμα του στομάχου (vs.άνδρο)	58.2%	41.8%	0.45
Τοπικές μεταστάσεις (ναι)	54.3%	45.7%	0.46
Λεμφαδενικές μεταστάσεις (ναι)	55.7%	44.3%	0.69
Ηπατικές μεταστάσεις (ναι)	53.8%	46.2%	0.39
Πνευμονικές μεταστάσεις (ναι)	58.1%	41.9%	0.85
Μεταστάσεις στις ωοθήκες (ναι)	66.7%	33.3%	0.25
Οστικές μεταστάσεις (ναι)	37.5%	62.5%	0.31
Περιτοναϊκές μεταστάσεις (ναι)	55.2%	44.8%	0.75
Ανάγκη μεταγγίσεων (ναι)	50.4%	49.6%	0.08
Χειρουργείο			
-Ολική γαστρεκτομή	62.8%	37.2%	0.20
-Μερική γαστρεκτομή	61.2%	38.8%	0.32
-Παρηγορητικό χειρουργείο	58.7%	41.3%	0.63
Απώλεια βάρους> 5% (ναι)	55.4%	44.6%	0.52
Πόνος (ναι)	55.7%	44.3%	0.83
Χαμηλή αλβουμίνη ορού (ναι)	52.2%	47.8%	0.20
Υψηλή LDH (ναι)	50.8%	49.2	0.03
CRP (ναι)	55.4%	44.6%	0.75
Παρουσία ελικοβακτηρίου του πυλωρού (ναι)	60.6%	39.4%	0.30
Συνδιαστικά χημειοθεραπευτικά σχήματα (ναι)	58.6%	41.4%	0.33
Ηλικία σε έτη (mean), (SD)	59.7 (10.1)	60.8 (8.3)	0.27
CEA τιμή (mean), (SD)	17.9 (26.6)	15.8 (20.9)	0.42
CA19.9 τιμή (mean), (SD)	146.6 (294.5)	177.2 (300.9)	0.34
CA72.4 τιμή (mean), (SD)	40.7 (57.6)	42.2 (43.3)	0.79
DNA αποπτωτικός δείκτης(Tunnel) (mean), (SD)	4.87 (9.1)	8.48 (13.8)	<0.01

PS, performance status(κατάσταση ικανότητας); LDH,γαλακτική αφυδρογονάση; CRP, C-reactive protein (C- αντιδρώσα πρωτείνη); CEA,καρκινοεμβρυικό αντιγόνο; CA19.9, καρκινικό αντιγόνο 19-9; CA72.4, καρκινικό αντιγόνο 72.4; SD,standard deviation.

Ανταπόκριση στη θεραπεία

Το 24% των ασθενών είχαν ολική ή μερική απόκριση στη χημειοθεραπεία, 32% των ασθενών είχαν σταθερή νόσο και 44% παρουσίασαν πρόοδο νόσου.

Μονοπαραγοντική ανάλυση

Στη μονοπαραγοντική ανάλυση οι παράμετροι που βρέθηκαν να συσχετίζονται αρνητικά με την ανταπόκριση στη θεραπεία ήταν η κακή κατάσταση ικανότητας (performance status), η πρόσφατη απώλεια βάρους, χαμηλή αλβουμίνη ορού, η ανάγκη μεταγγίσεων αίματος, η μεγάλη ηλικία, θέση του όγκου στο άνδρο, οι ηπατικές μεταστάσεις, η αυξημένη γαλακτική αφυδρογονάση ορού, υψηλή C-αντιδρώσα πρωτείνη (CRP), ύπαρξη πόνου, υψηλό καρκινικό αντιγόνο Ca-19.9 και θετική έκφραση κασπάσης-3. (πίνακας 8)

Πολυπαραγοντική ανάλυση

Ανεξάρτητοι παράγοντες πτωχής ανταπόκρισης στη θεραπεία βρέθηκαν να είναι η κακή κατάσταση ικανότητας, η πρόσφατη απώλεια βάρους, η ανάγκη μεταγγίσεων αίματος, η μεγάλη ηλικία και η θετική έκφραση κασπάσης-3 (πίνακας 9)

Πίνακας 8. Ανταπόκριση στη θεραπεία μεταξύ των 3 ομάδων (ν=359)

		Ολική ή μερική ανταπόκριση (ν=86)	**Σταθερή νόσο (ν=115)**	**Πρόοδος νόσου (ν=158)**	**p-value**
Karnofsky Κατάσταση ικανότητας	<90	52.3%	74.8%	82.9%	<0.001
Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης	1	4.7%	8.7%	1.3%	
	2	62.8%	49.6%	54.4%	
	3	32.6%	41.7%	44.3%	
Θέση του όγκου στο σώμα του στομάχου	Όχι	53.5%	30.4%	44.3%	<0.01
	Ναι	46.5%	69.6%	55.7%	
Λεμφαδενικές μεταστάσεις	Όχι	9.3%	20.9%	22.8%	0.03
	Ναι	90.7%	79.1%	77.2%	
Ηπατικές μεταστάσεις	Όχι	73.3%	49.6%	41.8%	<0.001
	Ναι	26.7%	50.4%	58.2%	
Κοιλιακές/περιτοναϊκές μεταστάσεις	Όχι	59.3%	65.2%	44.3%	<0.01
	Ναι	40.7%	34.8%	55.7%	
Ανάγκη μεταγγίσεων αίματος	Όχι	93.0%	62.6%	41.8%	<0.001
	Ναι	7.0%	37.4%	58.2%	
Απώλεια βάρους	<5%	38.4%	27.0%	9.5%	<0.001
	6-10%	57.0%	59.1%	44.9%	
	10+%	4.7%	13.9%	45.6%	
Χειρουργείο	Όχι	23.3%	44.3%	62.0%	<0.001
	Ναι	76.7%	55.7%	38.0%	
Αλβουμίνη ορού (φυσιολογική τιμή>3.4g/dl)	Όχι	77.9%	67.8%	36.1%	<0.001
	Ναι	22.1%	32.2%	63.9%	
LDH (φυσιολογική τιμή <225U/L)	Όχι	66.3%	49.6%	36.7%	<0.001
	Ναι	33.7%	50.4%	63.3%	
CRP (φυσιολογική τιμή ≤5mg/dl)	Όχι	73.3%	60.0%	37.3%	<0.001
	Ναι	26.7%	40.0%	62.7%	
Πόνος	Όχι	70.9%	61.7%	32.3%	<0.001
	Ναι	29.1%	38.3%	67.7%	
Έκφραση κασπάσης-3	Όχι	73.3%	58.3%	45.6%	<0.001
	Ναι	26.7%	41.7%	54.4%	
Ηλικία σε έτη (mean,SD)		57.1 (10.3)	62.0(8.8)	60.6 (8.9)	<0.001
CA19-9 (≤30U/ml v.s>30U/ml) (mean, SD)		68.3 (86.3)	223.3(449.0)	162.7(206.5)	<0.001
Tunnel (mean,SD)		3.6 (8.5)	4.2 (8.0)	9.6(14.1)	<0.001

LDH: γαλακτική αφυδρογονάση; CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη;

CA19.9: καρκινικό αντιγόνο 19-9

Πίνακας 9. Multivariate logistic regression analysis for overall response to the treatment in all patients (n=359)

	p-value	Odds ratio (OR)	95% confidence interval	
			Lower	Upper
Karnofsky κατάσταση ικανότητας (εάν: 90-100)	0.003	3.23	1.48	7.07
Θέση του όγκου (εάν στο σώμα του στομάχου)	0.010	2.67	1.26	5.65
Λεμφαδενικές μεταστάσεις (εάν ναι)	0.034	3.47	1.10	11.00
Μεταγγίσεις αίματος (Όχι v.s Ναι)	<0.001	9.48	3.20	28.10
Απώλεια βάρους (<5%)		1		
Απώλεια βάρους (εάν 6-10%)	0.007	0.31	0.13	0.72
Απώλεια βάρους (>10%)	0.053	0.22	0.05	1.02
Χειρουργείο (εάν ναι)	0.002	3.31	1.53	7.16
Κασπάση-3 (εάν θετική έκφραση)	0.009	0.36	0.17	0.78
Ηλικία (σε έτη)	0.005	0.94	0.91	0.98

Ολική ή μερική ανταπόκριση στη θεραπεία (v.s σταθερή ή πρόοδος νόσου) ήταν η ανεξάρτητη μεταβλητή

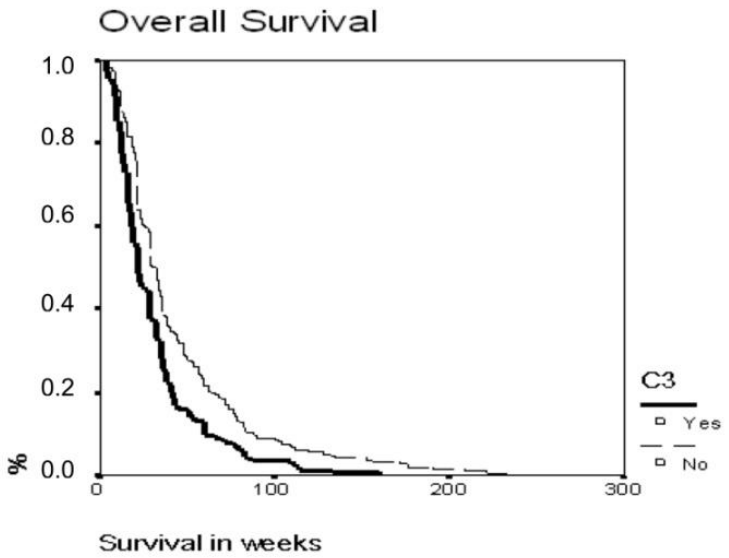
Ολική επιβίωση

Όλοι οι ασθενείς είχαν αποβιώσει κατά τη στιγμή της ανάλυσης. Η μέση επιβίωση ήταν 38.2 εβδομάδες (95% Confidence Interval (CI): 34.5-41.8).

Μονοπαραγοντική μελέτη

Κατά τη μονοπαραγοντική μελέτη οι παράμετροι που βρέθηκαν να σχετίζονται αρνητικά με την επιβίωση ήταν η κακή κατάσταση ικανότητας, οι ηπατικές μεταστάσεις, περιτοναϊκή καρκινωμάτωση, η ανάγκη μεταγγίσεων αίματος, η απώλεια βάρους, η χαμηλή αλβουμίνη ορού, η υψηλή C-αντιδρώσα πρωτείνη, η θετική έκφραση κασπάσης-3 (εικόνα 6), υψηλό καρκινικό αντιγόνο Ca19.9, ύπαρξη πόνου, και ο DNA αποπτωτικός δείκτης ($p<0.001$ για όλα, data not shown).

Εικόνα 6. Ολική επιβίωση ασθενών με θετική έκφραση κασπάσης-3 με vs. αυτούς με αρνητική έκφραση κασπάσης-3 (log-rank test $p<0.001$).



Πολυπαραγοντική μελέτη

Τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής μελέτης παρουσιάζονται στον πίνακα 10. Προγνωστικοί παράγοντες που επηρεάζουν ανεξάρτητα αρνητικά την επιβίωση ήταν η κακή κατάσταση ικανότητας, η απώλεια βάρους, η ύπαρξη ηπατικών μεταστάσεων, η ανάγκη μεταγγίσεων αίματος, η υψηλή C-αντιδρώσα πρωτείνη και η θετική έκφραση κασπάσης-3.

Πίνακας 10. Cox-regression analysis for overall mortality from cancer diagnosis in all patients (n=359)

	p-value	Hazard Ratio (HR)	95% confidence intervall	
			Lower	Upper
Κατάσταση ικανότητας (εάν <90)	0.001	1.60	1.22	2.10
Λεμφαδενικές μεταστάσεις (εάν ναι)	0.007	1.50	1.19	2.02
Ηπατικές μεταστάσεις (εάν ναι)	0.021	1.31	1.04	1.66
Μεταγγίσεις αίματος (εάν ναι)	0.001	1.54	1.20	1.98
Απώλεια βάρους (<5%)		1		
Απώλεια βάρους (εάν 6-10%)	0.324	1.15	0.87	1.52
Απώλεια βάρους(εάν>10%)	<0.001	6.07	4.21	8.73
Χειρουργείο (εάν όχι)	<0.001	1.69	1.33	2.14
CRP>5ng/dL(εάν ναι)	0.017	1.33	1.05	1.69
Κασπάση-3 (εάν θετική έκφραση)	<0.001	1.50	1.20	1.87

CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναγνωριστεί ότι η βιολογική συμπεριφορά του γαστρικού καρκίνου καθορίζεται από τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αποπτωτική δραστηριότητα. Έτσι έχουν γίνει προσπάθιες για τον εντοπισμό δεικτών της απόπτωσης που μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες (219, 220). Σε προηγούμενη μελέτη, σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο όλων των σταδίων, έχει βρεθεί ότι η παρουσία ενεργοποιημένης κασπάσης-3 είναι ευνοϊκή σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (221) . Σύμφωνα με τις γνώσεις μας, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που αξιολογεί την έκφραση της κασπάσης-3 ειδικά σε ασθενείς με προχωρημένο (στάδιο IV) γαστρικό καρκίνο. Βρήκαμε ότι η έκφραση της κασπάσης-3 είναι προγνωστικός δείκτης φτωχής ανταπόκρισης στη θεραπεία και στη συνολική επιβίωση αυτών των ασθενών, ανεξάρτητα από άλλα κλινικά ή ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά όπως το φύλο, η ηλικία, η κατάσταση ικανότητας (performance status), ο ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης, το είδος της χειρουργικής επέμβασης ή η ύπαρξη μεταστάσεων.

Δεδομένου ότι η κασπάση-3 σχετίζεται με την απόπτωση και θεωρείται ένας παράγοντας που έχει αντίκτυπο στην ανταπόκριση στη θεραπεία και στην έκβαση των ασθενών με διάφορους τύπους καρκίνου, υπάρχουν μελέτες που προσπαθούν να περιγράψουν τη σχέση μεταξύ της κασπάσης-3 και την πρόγνωση σε ασθενείς με καρκίνο με κάπως αντιφατικά αποτελέσματα. Στην οξεία λεμφοβλαστική αναιμία, στην οξεία μυελογενή λευχαιμία, στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και στο νευροβλάστωμα έχει αναφερθεί να έχουν καλύτερη πρόγνωση όταν η έκφραση της κασπάσης-3 του όγκου είναι υψηλή (222-226) γεγονός που έχει αποδοθεί σε αυξημένη αποπτωτική δραστηριότητα. Παράλληλα έχει αναφερθεί ότι η επιβίωση

είναι μικρότερη σε ασθενείς με καρκινώματα του ενδομητρίου που εμφανίζουν υψηλά επίπεδα έκφρασης κασπάσης-3 (227), σε μια άλλη μελέτη του Jonges et.al (228) έχει αναφερθεί ότι η υψηλή έκφραση κασπάσης-3 σχετίζεται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής σε καρκινώματα του παχέως εντέρου. Στην παρούσα μελέτη, η έκφραση της κασπάσης-3 του όγκου σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο συσχετίστηκε με φτωχή πρόγνωση, σε συμφωνία με προγενέστερες δημοσιευμένες μελέτες με ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (229, 230). Ωστόσο, δεν υπάρχει ομοφωνία στις δημοσιευμένες μελέτες. Υπάρχουν μελέτες με ασθενείς με γαστρικό καρκίνο όπου έχει αναφερθεί ότι η έκφραση κασπάσης-3 στον όγκο σχετίζεται με καλή πρόγνωση (221). Αυτά τα αντιφατικά ευρήματα, μπορούν να εξηγηθούν από το γεγονός ότι στις περισσότερες προηγούμενες μελέτες έχουν συμπεριληφθεί ασθενείς με διαφορετικά στάδια, στις οποίες μια μειοψηφία μόνο ασθενών είχε προχωρημένο (στάδιο IV) γαστρικό καρκίνο (221, 229, 230), καθώς και στην μη ύπαρξη ισορροπίας μεταξύ της μη δραστικής και της δραστικής κασπάσης-3. Η απόπτωση των καρκινικών κυττάρων μπορεί να καθυστερήσει ή να εμποδιστεί με διάφορους τρόπους συμπεριλαμβανομένων των σωματικών μεταλλάξεων, την απώλεια της έκφρασης των προ-αποπτωτικών και αποπτωτικών- ανασταλτικών μορίων. Κατά την διάρκεια της προόδου της καρκινικής νόσου, τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν την ικανότητα να αποφεύγουν την απόπτωση και προστατεύονται έτσι από τα ποικίλα αποπτωτικά ερεθίσματα (231). Στο γαστρικό καρκίνο, μόρια όπως η οικογένεια πρωτεϊνών αναστολείς της απόπτωσης (IAPs) (232), ο TGF-β1 (233), και ο COX-2 (234), έχουν αναφερθεί ότι αναστέλλουν την ενεργοποίηση της κασπάσης-3 και συσχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση. Σε προηγούμενη μελέτη σχετικά με την έκφραση της κασπάσης-3 σε προχωρημένο γαστρικό καρκίνο, μόνο το ανενεργό προένζυμο μπορούσε να ανιχνευθεί (235), υποδηλώνοντας ότι οι παράγοντες που

αναστέλλουν την μετατροπή της κασπάση-3 σε ενεργό ένζυμο μπορεί να είναι παρόντες σε αυτούς τους ασθενείς. Εντούτοις, στην προαναφερθήσα μελέτη δεν έχει διερευνηθεί η πιθανή σχέση της έκφρασης της κασπάσης-3 με την πρόγνωση (235).

Η κατάτμηση του DNA είναι το βιοχημικό σήμα κατατεθέν της απόπτωσης. Η ενεργοποιημένη κασπάση-3 επάγει την κατάτμηση του πυρηνικού DNA διαμέσου πρωτεολυτικής αδρανοποίησης του DFF45 (DNA κατακερματιστικός παράγοντας-45)/ICAD (αναστολέας της κασπάσης-ενεργού DNAασης) (236). Η κατάτμηση του DNA μπορεί να προσδιοριστεί σε ιστολογικές τομές με τη βοήθεια της μεθόδου TUNEL. Στη μελέτη μας βρήκαμε ότι ασθενείς με θετική έκφραση κασπάσης-3 είχαν αποπτωτικό δείκτη DNA σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με εκείνους τους ασθενείς που δεν είχαν έκφραση της κασπάσης- 3. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν την παρουσία ενεργής κασπάσης-3 στους όγκους των ασθενών της μελέτης μας. Παρόμοια ευρήματα έχουν αναφερθεί από τον Hoshi et.al ο οποίος επίσης παρατήρησε μια συσχέτιση μεταξύ του αποπτωτικού δείκτη DNA που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο TUNEL και της ενεργοποιημένης κασπάσης-3 σε μη επιλεγμένους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (237). Στη μελέτη μας οι ασθενείς που είχαν χειρότερη έκβαση στη θεραπεία παρουσίασαν υψηλή κατάτμηση του DNA και υψηλή έκφραση κασπάσης-3 (πίνακας 8). Εντούτοις η χρώση που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη μας μπορεί να ανιχνεύσει τόσο την ενεργό όσο και την ανενεργό κασπάση-3, και ως εκ τούτου, δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι οι ασθενείς με χειρότερη έκβαση είχαν αυξημένο ποσοστό του ανενεργού ενζύμου συγκριτικά με εκείνους που είχαν καλύτερη έκβαση και θα μπορούσαν να έχουν αυξημένη αναλογία του ενεργού ενζύμου. Μελλοντικές μελέτες που θα διερευνούν το ρόλο της έκφρασης της κασπάσης- 3 σε ασθενείς με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο θα πρέπει να γίνουν και

να προσπαθήσουν να μετρήσουν και της δύο μορφές την ενεργή και την ανενεργή μορφή του ενζύμου.

Οι βασικοί περιορισμοί της παρούσας μελέτης είναι ότι είναι αναδρομική και ότι πραγματοποιήθηκε σε ένα μόνο τριτοβάθμιο κέντρο αναφοράς. Επίσης κάποια από τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της έκφρασης της κασπάσης-3 και του κατακερματισμένου DNA, ήταν εικοσαετίας γεγονός που ίσως θα μπορούσε να επηρεάσει τον κατακερματισμό του DNA. Ωστόσο, προγενέστερες δημοσιευμένες μελέτες έδειξαν ότι η ποσότητα και η ποιότητα του DNA δεν διαφέρει σημαντικά με τη διάρκεια της αποθήκευσης των δειγμάτων φορμόλης (238). Ο ίδιος τύπος δειγμάτων που αποθηκεύονται για πολλά χρόνια έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενη μελέτη για τον υπολογισμό του κατακερματισμένου DNA σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (229). Ωστόσο δε μπορούμε να αποκλείσουμε πλήρως την πιθανή επίδραση της χρονικής διάρκειας της φύλαξης των δειγμάτων στον κατακερματισμό του DNA. Περαιτέρω προοπτικές πολυκεντρικές μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διαλευκανθεί πλήρως ο ρόλος της κασπάσης-3 μαζί με άλλους αποπτωτικούς δείκτες στην πρόβλεψη της έκβασης των ασθενών με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε αυτή τη μελέτη βρήκαμε ότι η αυξημένη έκφραση της κασπάσης-3 στον όγκο είναι προγνωστικός δείκτης κακής ανταπόκρισης στη θεραπεία και την επιβίωση σε ασθενείς με καρκίνο του στομάχου σταδίου IV. Επιπλέον μελέτες είναι απαραίτητες για τη διαλεύκανση του ρόλου της κασπάσης-3 στην απόπτωση του γαστρικού καρκίνου καθώς και της πρόγνωσης σε αυτούς τους ασθενείς.

Βιβλιογραφία

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer. 2010;127(12):2893-917.
2. Parkin DM, Stjernsward J, Muir CS. Estimates of the worldwide frequency of twelve major cancers. Bull World Health Organ. 1984;62(2):163-82.
3. Correa P. Is gastric cancer preventable? Gut. 2004;53(9):1217-9.
4. Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF, Jr. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. JAMA. 1991;265(10):1287-9.
5. Harrison LE, Karpeh MS, Brennan MF. Proximal gastric cancers resected via a transabdominal-only approach. Results and comparisons to distal adenocarcinoma of the stomach. Ann Surg. 1997;225(6):678-83; discussion 83-5.
6. Ohno S, Tomisaki S, Oiwa H, Sakaguchi Y, Ichiyoshi Y, Maehara Y, et al. Clinicopathologic characteristics and outcome of adenocarcinoma of the human gastric cardia in comparison with carcinoma of other regions of the stomach. J Am Coll Surg. 1995;180(5):577-82.
7. Jung KW, Park S, Won YJ, Kong HJ, Lee JY, Park EC, et al. Prediction of cancer incidence and mortality in Korea, 2011. Cancer Res Treat. 2011;43(1):12-8.
8. Corley DA, Buffler PA. Oesophageal and gastric cardia adenocarcinomas: analysis of regional variation using the Cancer Incidence in Five Continents database. Int J Epidemiol. 2001;30(6):1415-25.
9. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin. 2010;60(5):277-300.
10. Gonzalez CA, Agudo A. Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: where we are and where we should go. Int J Cancer. 2012;130(4):745-53.
11. Lee KS, Oh DK, Han MA, Lee HY, Jun JK, Choi KS, et al. Gastric cancer screening in Korea: report on the national cancer screening program in 2008. Cancer Res Treat. 2011;43(2):83-8.
12. Cunningham SC, Kamangar F, Kim MP, Hammoud S, Haque R, Maitra A, et al. Survival after gastric adenocarcinoma resection: eighteen-year experience at a single institution. J Gastrointest Surg. 2005;9(5):718-25.
13. Faycal J, Bessaguet C, Nousbaum JB, Cauvin JM, Cholet F, Bideau K, et al. Epidemiology and long term survival of gastric carcinoma in the French district of Finistere between 1984 and 1995. Gastroenterol Clin Biol. 2005;29(1):23-32.
14. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol. 2006;24(14):2137-50.
15. Tsubono Y, Hisamichi S. Screening for gastric cancer in Japan. Gastric Cancer. 2000;3(1):9-18.
16. Roukos DH, Kappas AM. Perspectives in the treatment of gastric cancer. Nat Clin Pract Oncol. 2005;2(2):98-107.
17. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. N Engl J Med. 2000;343(2):78-85.
18. van den Brandt PA, Botterweck AA, Goldbohm RA. Salt intake, cured meat consumption, refrigerator use and stomach cancer incidence: a prospective cohort study (Netherlands). Cancer Causes Control. 2003;14(5):427-38.
19. Gonzalez CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, et al. Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst. 2006;98(5):345-54.

20. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Processed meat consumption, dietary nitrosamines and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. Int J Cancer. 2006;119(4):915-9.
21. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M, Yonemoto K, Ninomiya T, Shirota T, et al. A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: the Hisayama study. Int J Cancer. 2006;119(1):196-201.
22. Tsugane S. Salt, salted food intake, and risk of gastric cancer: epidemiologic evidence. Cancer Sci. 2005;96(1):1-6.
23. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M, Sasaki S. Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. Br J Cancer. 2004;90(1):128-34.
24. Jakszyn P, Gonzalez CA. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. World J Gastroenterol. 2006;12(27):4296-303.
25. Jakszyn P, Bingham S, Pera G, Agudo A, Luben R, Welch A, et al. Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study. Carcinogenesis. 2006;27(7):1497-501.
26. La Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B, Franceschi S. Electric refrigerator use and gastric cancer risk. Br J Cancer. 1990;62(1):136-7.
27. Gonzalez CA, Lujan-Barroso L, de Mesquita HB, Jenab M, Duell EJ, Agudo A, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of gastric adenocarcinoma: A reanalysis of the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC-EURGAST) study after a longer follow-up. Int J Cancer. 2012.
28. Gonzalez CA, Lopez-Carrillo L. Helicobacter pylori, nutrition and smoking interactions: their impact in gastric carcinogenesis. Scand J Gastroenterol. 2010;45(1):6-14.
29. Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. Semin Radiat Oncol. 2002;12(2):111-27.
30. Nishino Y, Inoue M, Tsuji I, Wakai K, Nagata C, Mizoue T, et al. Tobacco smoking and gastric cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. Jpn J Clin Oncol. 2006;36(12):800-7.
31. Koizumi Y, Tsubono Y, Nakaya N, Kuriyama S, Shibuya D, Matsuoka H, et al. Cigarette smoking and the risk of gastric cancer: a pooled analysis of two prospective studies in Japan. Int J Cancer. 2004;112(6):1049-55.
32. Gonzalez CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, et al. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer. 2003;107(4):629-34.
33. Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, Stacey AR, Wald N, et al. Association between infection with Helicobacter pylori and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. BMJ. 1991;302(6788):1302-5.
34. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med. 1991;325(16):1132-6.
35. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, et al. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med. 1991;325(16):1127-31.
36. IARC. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter pylori. 1994;61 of IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans .(International Agency for Research on Cancer, Lyon).

37. Nakajima S, Nishiyama Y, Yamaoka M, Yasuoka T, Cho E. Changes in the prevalence of Helicobacter pylori infection and gastrointestinal diseases in the past 17 years. J Gastroenterol Hepatol. 2010;25 Suppl 1:S99-S110.
38. Herrera V, Parsonnet J. Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma. Clin Microbiol Infect. 2009;15(11):971-6.
39. Moayyedi P, Axon AT, Feltbower R, Duffett S, Crocombe W, Braunholtz D, et al. Relation of adult lifestyle and socioeconomic factors to the prevalence of Helicobacter pylori infection. Int J Epidemiol. 2002;31(3):624-31.
40. Fox JG, Correa P, Taylor NS, Zavala D, Fontham E, Janney F, et al. Campylobacter pylori-associated gastritis and immune response in a population at increased risk of gastric carcinoma. Am J Gastroenterol. 1989;84(7):775-81.
41. Forman D, Sitas F, Newell DG, Stacey AR, Boreham J, Peto R, et al. Geographic association of Helicobacter pylori antibody prevalence and gastric cancer mortality in rural China. Int J Cancer. 1990;46(4):608-11.
42. Blanchard TG, Czinn SJ. Review article: Immunological determinants that may affect the Helicobacter pylori cancer risk. Aliment Pharmacol Ther. 1998;12 Suppl 1:83-90.
43. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res. 1992;52(24):6735-40.
44. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med. 2001;345(11):784-9.
45. Enroth H, Kraaz W, Engstrand L, Nyren O, Rohan T. Helicobacter pylori strain types and risk of gastric cancer: a case-control study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2000;9(9):981-5.
46. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelman H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative Helicobacter pylori infection. Gut. 1997;40(3):297-301.
47. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al. Helicobacter pylori eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. JAMA. 2004;291(2):187-94.
48. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. Gastric Cancer. 2011;14(2):101-12.
49. Lauren P. The Two Histological Main Types of Gastric Carcinoma: Diffuse and So-Called Intestinal-Type Carcinoma. An Attempt at a Histo-Clinical Classification. Acta Pathol Microbiol Scand. 1965;64:31-49.
50. Ming SC. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. Cancer. 1977;39(6):2475-85.
51. Goseki N, Takizawa T, Koike M. Differences in the mode of the extension of gastric cancer classified by histological type: new histological classification of gastric carcinoma. Gut. 1992;33(5):606-12.
52. Carvalho B, Buffart TE, Reis RM, Mons T, Moutinho C, Silva P, et al. Mixed gastric carcinomas show similar chromosomal aberrations in both their diffuse and glandular components. Cell Oncol. 2006;28(5-6):283-94.
53. Zhang C, Yamada N, Wu YL, Wen M, Matsuhisa T, Matsukura N. Helicobacter pylori infection, glandular atrophy and intestinal metaplasia in superficial gastritis, gastric erosion, erosive gastritis, gastric ulcer and early gastric cancer. World J Gastroenterol. 2005;11(6):791-6.
54. Correa P, Cuello C, Duque E, Burbano LC, Garcia FT, Bolanos O, et al. Gastric cancer in Colombia. III. Natural history of precursor lesions. J Natl Cancer Inst. 1976;57(5):1027-35.

55. Carneiro F, Huntsman DG, Smyrk TC, Owen DA, Seruca R, Pharoah P, et al. Model of the early development of diffuse gastric cancer in E-cadherin mutation carriers and its implications for patient screening. J Pathol. 2004;203(2):681-7.
56. Kattan MW, Karpeh MS, Mazumdar M, Brennan MF**.** Postoperative nomogram for disease-specific survival after an R0 resection for gastric carcinoma. J Clin Oncol. 2003;21(19):3647-50.
57. Esaki Y, Hirayama R, Hirokawa K**.** A comparison of patterns of metastasis in gastric cancer by histologic type and age. Cancer. 1990;65(9):2086-90.
58. Kong JH, Lee J, Yi CA, Park SH, Park JO, Park YS, et al. Lung metastases in metastatic gastric cancer: pattern of lung metastases and clinical outcome. Gastric Cancer. 2011.
59. Maehara Y, Tomisaki S, Oda S, Sakaguchi Y, Ichiyoshi Y, Sugimachi K**.** Lymphatic advancement to peritoneal dissemination and liver metastasis in gastric cancer patients. Anticancer Res. 1994;14(6B):2755-7.
60. Vauhkonen M, Vauhkonen H, Sajantila A, Sipponen P**.** Differences in genomic instability between intestinal- and diffuse-type gastric cancer. Gastric Cancer. 2005;8(4):238-44.
61. Park K, Kim SJ, Bang YJ, Park JG, Kim NK, Roberts AB, et al. Genetic changes in the transforming growth factor beta (TGF-beta) type II receptor gene in human gastric cancer cells: correlation with sensitivity to growth inhibition by TGF-beta. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91(19):8772-6.
62. Yamamoto H, Sawai H, Perucho M**.** Frameshift somatic mutations in gastrointestinal cancer of the microsatellite mutator phenotype. Cancer Res. 1997;57(19):4420-6.
63. Yin J, Kong D, Wang S, Zou TT, Souza RF, Smolinski KN, et al. Mutation of hMSH3 and hMSH6 mismatch repair genes in genetically unstable human colorectal and gastric carcinomas. Hum Mutat. 1997;10(6):474-8.
64. Souza RF, Appel R, Yin J, Wang S, Smolinski KN, Abraham JM, et al. Microsatellite instability in the insulin-like growth factor II receptor gene in gastrointestinal tumours. Nat Genet. 1996;14(3):255-7.
65. Seruca R, Santos NR, David L, Constancia M, Barroca H, Carneiro F, et al. Sporadic gastric carcinomas with microsatellite instability display a particular clinicopathologic profile. Int J Cancer. 1995;64(1):32-6.
66. dos Santos NR, Seruca R, Constancia M, Seixas M, Sobrinho-Simoes M**.** Microsatellite instability at multiple loci in gastric carcinoma: clinicopathologic implications and prognosis. Gastroenterology. 1996;110(1):38-44.
67. Lynch HT, Grady W, Suriano G, Huntsman D**.** Gastric cancer: new genetic developments. J Surg Oncol. 2005;90(3):114-33; discussion 33.
68. Zanghieri G, Di Gregorio C, Sacchetti C, Fante R, Sassatelli R, Cannizzo G, et al. Familial occurrence of gastric cancer in the 2-year experience of a population-based registry. Cancer. 1990;66(9):2047-51.
69. Mecklin JP, Nordling S, Saario I**.** Carcinoma of the stomach and its heredity in young patients. Scand J Gastroenterol. 1988;23(3):307-11.
70. Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P, et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. Nature. 1998;392(6674):402-5.
71. Richards FM, McKee SA, Rajpar MH, Cole TR, Evans DG, Jankowski JA, et al. Germline E-cadherin gene (CDH1) mutations predispose to familial gastric cancer and colorectal cancer. Hum Mol Genet. 1999;8(4):607-10.
72. van Grieken NC, Weiss MM, Meijer GA, Hermsen MA, Scholte GH, Lindeman J, et al. Helicobacter pylori-related and -non-related gastric cancers do not differ with respect to chromosomal aberrations. J Pathol. 2000;192(3):301-6.

73. Fricke E, Keller G, Becker I, Rosivatz E, Schott C, Plaschke S, et al. Relationship between E-cadherin gene mutation and p53 gene mutation, p53 accumulation, Bcl-2 expression and Ki-67 staining in diffuse-type gastric carcinoma. Int J Cancer. 2003;104(1):60-5.
74. Vollmers HP, Dammrich J, Hensel F, Ribbert H, Meyer-Bahlburg A, Ufken-Gaul T, et al. Differential expression of apoptosis receptors on diffuse and intestinal type stomach carcinoma. Cancer. 1997;79(3):433-40.
75. Chung DC, Rustgi AK**.** The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. Ann Intern Med. 2003;138(7):560-70.
76. Aarnio M, Salovaara R, Aaltonen LA, Mecklin JP, Jarvinen HJ**.** Features of gastric cancer in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome. Int J Cancer. 1997;74(5):551-5.
77. Lindor NM, Greene MH**.** The concise handbook of family cancer syndromes. Mayo Familial Cancer Program. J Natl Cancer Inst. 1998;90(14):1039-71.
78. Gravalos C, Jimeno A**.** HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. Ann Oncol. 2008;19(9):1523-9.
79. Tanner M, Hollmen M, Junttila TT, Kapanen AI, Tommola S, Soini Y, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. Ann Oncol. 2005;16(2):273-8.
80. Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Muller W**.** HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclusions from 924 cases of two independent series. Cell Oncol. 2010;32(1-2):57-65.
81. Arber N, Shapira I, Ratan J, Stern B, Hibshoosh H, Moshkowitz M, et al. Activation of c-K-ras mutations in human gastrointestinal tumors. Gastroenterology. 2000;118(6):1045-50.
82. Wanebo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, Steele G, Jr., Winchester D, Osteen R**.** Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons. Ann Surg. 1993;218(5):583-92.
83. Wallace MB, Durkalski VL, Vaughan J, Palesch YY, Libby ED, Jowell PS, et al. Age and alarm symptoms do not predict endoscopic findings among patients with dyspepsia: a multicentre database study. Gut. 2001;49(1):29-34.
84. Fransen GA, Janssen MJ, Muris JW, Laheij RJ, Jansen JB**.** Meta-analysis: the diagnostic value of alarm symptoms for upper gastrointestinal malignancy. Aliment Pharmacol Ther. 2004;20(10):1045-52.
85. Salo M, Collin P, Kyronpalo S, Rasmussen M, Huhtala H, Kaukinen K**.** Age, symptoms and upper gastrointestinal malignancy in primary care endoscopy. Scand J Gastroenterol. 2008;43(1):122-7.
86. Talley NJ, Vakil N**.** Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol. 2005;100(10):2324-37.
87. Boldys H, Marek TA, Wanczura P, Matusik P, Nowak A**.** Even young patients with no alarm symptoms should undergo endoscopy for earlier diagnosis of gastric cancer. Endoscopy. 2003;35(1):61-7.
88. Mallaiah L, Brozinsky S, Fruchter G, Siraj Uddin M**.** Malignant gastrocolic fistula case report and review of the literature. Am J Proctol Gastroenterol Colon Rectal Surg. 1980;31(11):12, 7.
89. Thrumurthy SG, Anuruddha AH, De Zoysa MI, Samarasekera DN**.** Unexpected outcome from Trousseau syndrome. BMC Surg. 2011;11:1.
90. Croft PB, Wilkinson M**.** The incidence of carcinomatous neuromyopathy in patients with various types of carcinoma. Brain. 1965;88(3):427-34.

91. Wakashin M, Wakashin Y, Iesato K, Ueda S, Mori Y, Tsuchida H, et al. Association of gastric cancer and nephrotic syndrome. An immunologic study in three patients. Gastroenterology. 1980;78(4):749-56.
92. Tokar M, Bobilev D, Ariad S, Geffen DB. Disseminated intravascular coagulation at presentation of advanced gastric cancer. Isr Med Assoc J. 2006;8(12):853-5.
93. Yeh JS, Munn SE, Plunkett TA, Harper PG, Hopster DJ, du Vivier AW. Coexistence of acanthosis nigricans and the sign of Leser-Trelat in a patient with gastric adenocarcinoma: a case report and literature review. J Am Acad Dermatol. 2000;42(2 Pt 2):357-62.
94. Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, van de Velde CJ. Gastric cancer. Lancet. 2009;374(9688):477-90.
95. Botet JF, Lightdale CJ, Zauber AG, Gerdes H, Winawer SJ, Urmacher C, et al. Preoperative staging of gastric cancer: comparison of endoscopic US and dynamic CT. Radiology. 1991;181(2):426-32.
96. Bentrem D, Gerdes H, Tang L, Brennan M, Coit D. Clinical correlation of endoscopic ultrasonography with pathologic stage and outcome in patients undergoing curative resection for gastric cancer. Ann Surg Oncol. 2007;14(6):1853-9.
97. Dittler HJ, Siewert JR. Role of endoscopic ultrasonography in gastric carcinoma. Endoscopy. 1993;25(2):162-6.
98. Matsumoto Y, Yanai H, Tokiyama H, Nishiaki M, Higaki S, Okita K. Endoscopic ultrasonography for diagnosis of submucosal invasion in early gastric cancer. J Gastroenterol. 2000;35(5):326-31.
99. Stahl A, Ott K, Weber WA, Becker K, Link T, Siewert JR, et al. FDG PET imaging of locally advanced gastric carcinomas: correlation with endoscopic and histopathological findings. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003;30(2):288-95.
100. Chen J, Cheong JH, Yun MJ, Kim J, Lim JS, Hyung WJ, et al. Improvement in preoperative staging of gastric adenocarcinoma with positron emission tomography. Cancer. 2005;103(11):2383-90.
101. Rosenbaum SJ, Stergar H, Antoch G, Veit P, Bockisch A, Kuhl H. Staging and follow-up of gastrointestinal tumors with PET/CT. Abdom Imaging. 2006;31(1):25-35.
102. Dassen AE, Lips DJ, Hoekstra CJ, Pruijt JF, Bosscha K. FDG-PET has no definite role in preoperative imaging in gastric cancer. Eur J Surg Oncol. 2009;35(5):449-55.
103. Lim JS, Yun MJ, Kim MJ, Hyung WJ, Park MS, Choi JY, et al. CT and PET in stomach cancer: preoperative staging and monitoring of response to therapy. Radiographics. 2006;26(1):143-56.
104. Asencio F, Aguilo J, Salvador JL, Villar A, De la Morena E, Ahamad M, et al. Video-laparoscopic staging of gastric cancer. A prospective multicenter comparison with noninvasive techniques. Surg Endosc. 1997;11(12):1153-8.
105. Nakane Y, Okamura S, Akehira K, Boku T, Okusa T, Tanaka K, et al. Correlation of preoperative carcinoembryonic antigen levels and prognosis of gastric cancer patients. Cancer. 1994;73(11):2703-8.
106. Ikeda Y, Oomori H, Koyanagi N, Mori M, Kamakura T, Minagawa S, et al. Prognostic value of combination assays for CEA and CA 19-9 in gastric cancer. Oncology. 1995;52(6):483-6.
107. Kodera Y, Yamamura Y, Torii A, Uesaka K, Hirai T, Yasui K, et al. The prognostic value of preoperative serum levels of CEA and CA19-9 in patients with gastric cancer. Am J Gastroenterol. 1996;91(1):49-53.
108. Pectasides D, Mylonakis A, Kostopoulou M, Papadopoulou M, Triantafillis D, Varthalitis J, et al. CEA, CA 19-9, and CA-50 in monitoring gastric carcinoma. Am J Clin Oncol. 1997;20(4):348-53.

109. Okines A, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2010;21 Suppl 5:v50-4.
110. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. N Engl J Med. 2006;355(1):11-20.
111. Glimelius B, Hoffman K, Haglund U, Nyren O, Sjoden PO. Initial or delayed chemotherapy with best supportive care in advanced gastric cancer. Ann Oncol. 1994;5(2):189-90.
112. Pyrhonen S, Kuitunen T, Nyandoto P, Kouri M. Randomised comparison of fluorouracil, epidoxorubicin and methotrexate (FEMTX) plus supportive care with supportive care alone in patients with non-resectable gastric cancer. Br J Cancer. 1995;71(3):587-91.
113. Hartmann JT, Quietzsch D, Daikeler T, Kollmannsberger C, Mayer F, Kanz L, et al. Mitomycin C continuous infusion as salvage chemotherapy in pretreated patients with advanced gastric cancer. Anticancer Drugs. 1999;10(8):729-33.
114. Hofheinz RD, Hartung G, Samel S, Hochhaus A, Pichlmeier U, Post S, et al. High-dose 5-fluorouracil / folinic acid in combination with three-weekly mitomycin C in the treatment of advanced gastric cancer. A phase II study. Onkologie. 2002;25(3):255-60.
115. Ohtsu A, Shimada Y, Shirao K, Boku N, Hyodo I, Saito H, et al. Randomized phase III trial of fluorouracil alone versus fluorouracil plus cisplatin versus uracil and tegafur plus mitomycin in patients with unresectable, advanced gastric cancer: The Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG9205). J Clin Oncol. 2003;21(1):54-9.
116. Ajani JA. Evolving chemotherapy for advanced gastric cancer. Oncologist. 2005;10 Suppl 3:49-58.
117. Shah MA, Schwartz GK. Treatment of metastatic esophagus and gastric cancer. Semin Oncol. 2004;31(4):574-87.
118. Bugat R. Irinotecan in the treatment of gastric cancer. Ann Oncol. 2003;14 Suppl 2:ii37-40.
119. Ajani JA, Mansfield PF, Dumas P. Oral etoposide for patients with metastatic gastric adenocarcinoma. Cancer J Sci Am. 1999;5(2):112-4.
120. Taal BG, Teller FG, ten Bokkel Huinink WW, Boot H, Beijnen JH, Dubbelman R. Etoposide, leucovorin, 5-fluorouracil (ELF) combination chemotherapy for advanced gastric cancer: experience with two treatment schedules incorporating intravenous or oral etoposide. Ann Oncol. 1994;5(1):90-2.
121. Ohtsu A, Boku N, Tamura F, Muro K, Shimada Y, Saigenji K, et al. An early phase II study of a 3-hour infusion of paclitaxel for advanced gastric cancer. Am J Clin Oncol. 1998;21(4):416-9.
122. Gadgeel SM, Shields AF, Heilbrun LK, Labadidi S, Zalupski M, Chaplen R, et al. Phase II study of paclitaxel and carboplatin in patients with advanced gastric cancer. Am J Clin Oncol. 2003;26(1):37-41.
123. Roth AD, Maibach R, Martinelli G, Fazio N, Aapro MS, Pagani O, et al. Docetaxel (Taxotere)-cisplatin (TC): an effective drug combination in gastric carcinoma. Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK), and the European Institute of Oncology (EIO). Ann Oncol. 2000;11(3):301-6.
124. Bang YJ, Kang WK, Kang YK, Kim HC, Jacques C, Zuber E, et al. Docetaxel 75 mg/m(2) is active and well tolerated in patients with metastatic or recurrent gastric cancer: a phase II trial. Jpn J Clin Oncol. 2002;32(7):248-54.
125. Cascinu S, Galizia E, Labianca R, Ferrau F, Pucci F, Silva RR, et al. Pegylated liposomal doxorubicin, 5-fluorouracil and cisplatin versus mitomycin-C, 5-fluorouracil and

cisplatin for advanced gastric cancer: a randomized phase II trial. Cancer Chemother Pharmacol. 2011;68(1):37-43.
126. Hong YS, Song SY, Lee SI, Chung HC, Choi SH, Noh SH, et al. A phase II trial of capecitabine in previously untreated patients with advanced and/or metastatic gastric cancer. Ann Oncol. 2004;15(9):1344-7.
127. Park YH, Lee JL, Ryoo BY, Ryu MH, Yang SH, Kim BS, et al. Capecitabine in combination with Oxaliplatin (XELOX) as a first-line therapy for advanced gastric cancer. Cancer Chemother Pharmacol. 2008;61(4):623-9.
128. Cunningham D, Starling N, Rao S, Iveson T, Nicolson M, Coxon F, et al. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. N Engl J Med. 2008;358(1):36-46.
129. Wagner AD, Moehler M**.** Development of targeted therapies in advanced gastric cancer: promising exploratory steps in a new era. Curr Opin Oncol. 2009;21(4):381-5.
130. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. Lancet. 2010;376(9742):687-97.
131. El-Rayes BF, Zalupski M, Bekai-Saab T, Heilbrun LK, Hammad N, Patel B, et al. A phase II study of bevacizumab, oxaliplatin, and docetaxel in locally advanced and metastatic gastric and gastroesophageal junction cancers. Ann Oncol. 2010;21(10):1999-2004.
132. Dragovich T, McCoy S, Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Benedetti JK, Baker AF, et al. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. J Clin Oncol. 2006;24(30):4922-7.
133. Sun W, Powell M, O'Dwyer PJ, Catalano P, Ansari RH, Benson AB, 3rd**.** Phase II study of sorafenib in combination with docetaxel and cisplatin in the treatment of metastatic or advanced gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: ECOG 5203. J Clin Oncol. 2010;28(18):2947-51.
134. Pinto C, Di Fabio F, Siena S, Cascinu S, Rojas Llimpe FL, Ceccarelli C, et al. Phase II study of cetuximab in combination with FOLFIRI in patients with untreated advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma (FOLCETUX study). Ann Oncol. 2007;18(3):510-7.
135. Pinto C, Di Fabio F, Barone C, Siena S, Falcone A, Cascinu S, et al. Phase II study of cetuximab in combination with cisplatin and docetaxel in patients with untreated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (DOCETUX study). Br J Cancer. 2009;101(8):1261-8.
136. Dewys WD, Begg C, Lavin PT, Band PR, Bennett JM, Bertino JR, et al. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Med. 1980;69(4):491-7.
137. Shiraishi N, Sato K, Yasuda K, Inomata M, Kitano S**.** Multivariate prognostic study on large gastric cancer. J Surg Oncol. 2007;96(1):14-8.
138. Buonadonna A, Lombardi D, De Paoli A, Bidoli E, Frustaci S**.** Adenocarcinoma of the stomach: univariate and multivariate analyses of factors associated with survival. Suppl Tumori. 2003;2(5):S31-4.
139. Wu B, Wu D, Wang M, Wang G**.** Recurrence in patients following curative resection of early gastric carcinoma. J Surg Oncol. 2008;98(6):411-4.
140. Ikeda Y, Saku M, Kishihara F, Maehara Y**.** Effective follow-up for recurrence or a second primary cancer in patients with early gastric cancer. Br J Surg. 2005;92(2):235-9.

141. Yeh WC, Pompa JL, McCurrach ME, Shu HB, Elia AJ, Shahinian A, et al. FADD: essential for embryo development and signaling from some, but not all, inducers of apoptosis. Science. 1998;279(5358):1954-8.
142. Rathmell JC, Thompson CB. Pathways of apoptosis in lymphocyte development, homeostasis, and disease. Cell. 2002;109 Suppl:S97-107.
143. Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. Immunity. 2009;30(2):180-92.
144. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26(4):239-57.
145. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. Cell. 1999;96(2):245-54.
146. Rieux-Laucat F, Fischer A, Deist FL. Cell-death signaling and human disease. Curr Opin Immunol. 2003;15(3):325-31.
147. Oliveira JB, Gupta S. Disorders of apoptosis: mechanisms for autoimmunity in primary immunodeficiency diseases. J Clin Immunol. 2008;28 Suppl 1:S20-8.
148. Pawlowski K, Pio F, Chu Z, Reed JC, Godzik A. PAAD - a new protein domain associated with apoptosis, cancer and autoimmune diseases. Trends Biochem Sci. 2001;26(2):85-7.
149. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. Nat Med. 1997;3(8):917-21.
150. Logue SE, Gustafsson AB, Samali A, Gottlieb RA. Ischemia/reperfusion injury at the intersection with cell death. J Mol Cell Cardiol. 2005;38(1):21-33.
151. Kerr JF. A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. J Pathol Bacteriol. 1965;90(2):419-35.
152. Chaabane W, User SD, El-Gazzah M, Jaksik R, Sajjadi E, Rzeszowska-Wolny J, et al. Autophagy, apoptosis, mitoptosis and necrosis: interdependence between those pathways and effects on cancer. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2013;61(1):43-58.
153. Ameisen JC. The origin of programmed cell death. Science. 1996;272(5266):1278-9.
154. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science. 1995;267(5203):1456-62.
155. Amsterdam A, Dantes A, Selvaraj N, Aharoni D. Apoptosis in steroidogenic cells: structure-function analysis. Steroids. 1997;62(1):207-11.
156. Atwood CS, Ikeda M, Vonderhaar BK. Involution of mouse mammary glands in whole organ culture: a model for studying programmed cell death. Biochem Biophys Res Commun. 1995;207(2):860-7.
157. Wyllie AH. Apoptosis: an overview. Br Med Bull. 1997;53(3):451-65.
158. Que FG, Gores GJ. Cell death by apoptosis: basic concepts and disease relevance for the gastroenterologist. Gastroenterology. 1996;110(4):1238-43.
159. Cummings MC, Winterford CM, Walker NI. Apoptosis. Am J Surg Pathol. 1997;21(1):88-101.
160. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. Int Rev Cytol. 1980;68:251-306.
161. Duke RC, Chervenak R, Cohen JJ. Endogenous endonuclease-induced DNA fragmentation: an early event in cell-mediated cytolysis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1983;80(20):6361-5.
162. Oberhammer F, Wilson JW, Dive C, Morris ID, Hickman JA, Wakeling AE, et al. Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation. EMBO J. 1993;12(9):3679-84.
163. Kerr JF, Gobe GC, Winterford CM, Harmon BV. Anatomical methods in cell death. Methods Cell Biol. 1995;46:1-27.

164. Platt N, da Silva RP, Gordon S. Recognizing death: the phagocytosis of apoptotic cells. Trends Cell Biol. 1998;8(9):365-72.
165. Fadok VA, de Cathelineau A, Daleke DL, Henson PM, Bratton DL. Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts. J Biol Chem. 2001;276(2):1071-7.
166. Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease. Cell. 2011;147(4):742-58.
167. Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008;9(3):231-41.
168. Creagh EM, Martin SJ. Caspases: cellular demolition experts. Biochem Soc Trans. 2001;29(Pt 6):696-702.
169. Wang ZB, Liu YQ, Cui YF. Pathways to caspase activation. Cell Biol Int. 2005;29(7):489-96.
170. Fuentes-Prior P, Salvesen GS. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. Biochem J. 2004;384(Pt 2):201-32.
171. Degterev A, Boyce M, Yuan J. A decade of caspases. Oncogene. 2003;22(53):8543-67.
172. Ashkenazi A, Dixit VM. Apoptosis control by death and decoy receptors. Curr Opin Cell Biol. 1999;11(2):255-60.
173. Hofmann K, Bucher P, Tschopp J. The CARD domain: a new apoptotic signalling motif. Trends Biochem Sci. 1997;22(5):155-6.
174. Salvesen GS, Dixit VM. Caspases: intracellular signaling by proteolysis. Cell. 1997;91(4):443-6.
175. Franchi L, Eigenbrod T, Munoz-Planillo R, Nunez G. The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis. Nat Immunol. 2009;10(3):241-7.
176. Wickremasinghe RG, Hoffbrand AV. Biochemical and genetic control of apoptosis: relevance to normal hematopoiesis and hematological malignancies. Blood. 1999;93(11):3587-600.
177. Cohen GM, Sun XM, Fearnhead H, MacFarlane M, Brown DG, Snowden RT, et al. Formation of large molecular weight fragments of DNA is a key committed step of apoptosis in thymocytes. J Immunol. 1994;153(2):507-16.
178. Martin SJ, Reutelingsperger CP, McGahon AJ, Rader JA, van Schie RC, LaFace DM, et al. Early redistribution of plasma membrane phosphatidylserine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus: inhibition by overexpression of Bcl-2 and Abl. J Exp Med. 1995;182(5):1545-56.
179. Martin SJ, Green DR. Protease activation during apoptosis: death by a thousand cuts? Cell. 1995;82(3):349-52.
180. Bellamy CO, Malcomson RD, Harrison DJ, Wyllie AH. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. Semin Cancer Biol. 1995;6(1):3-16.
181. Israels LG, Israels ED. Apoptosis. Oncologist. 1999;4(4):332-9.
182. Davis RE, Greenberg PL. Bcl-2 expression by myeloid precursors in myelodysplastic syndromes: relation to disease progression. Leuk Res. 1998;22(9):767-77.
183. Roy S, Nicholson DW. Cross-talk in cell death signaling. J Exp Med. 2000;192(8):21-6.
184. Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. Pharmacol Ther. 2001;92(1):57-70.
185. Kinnally KW, Peixoto PM, Ryu SY, Dejean LM. Is mPTP the gatekeeper for necrosis, apoptosis, or both? Biochim Biophys Acta. 2011;1813(4):616-22.
186. Smith CC, Yellon DM. Necroptosis, necrostatins and tissue injury. J Cell Mol Med. 2011;15(9):1797-806.

187. Becker C, Watson AJ, Neurath MF. Complex Roles of Caspases in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterology. 2012.
188. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007;35(4):495-516.
189. Saelens X, Festjens N, Vande Walle L, van Gurp M, van Loo G, Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. Oncogene. 2004;23(16):2861-74.
190. Los M, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. The role of caspases in development, immunity, and apoptotic signal transduction: lessons from knockout mice. Immunity. 1999;10(6):629-39.
191. Wong RS. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. J Exp Clin Cancer Res. 2011;30:87.
192. Vousden KH, Lane DP. p53 in health and disease. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007;8(4):275-83.
193. Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, et al. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. Science. 1997;275(5302):967-9.
194. Kondo S, Shinomura Y, Miyazaki Y, Kiyohara T, Tsutsui S, Kitamura S, et al. Mutations of the bak gene in human gastric and colorectal cancers. Cancer Res. 2000;60(16):4328-30.
195. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. Science. 1984;226(4678):1097-9.
196. McDonnell TJ, Deane N, Platt FM, Nunez G, Jaeger U, McKearn JP, et al. bcl-2-immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. Cell. 1989;57(1):79-88.
197. Moller P, Koretz K, Leithauser F, Bruderlein S, Henne C, Quentmeier A, et al. Expression of APO-1 (CD95), a member of the NGF/TNF receptor superfamily, in normal and neoplastic colon epithelium. Int J Cancer. 1994;57(3):371-7.
198. Medema JP, de Jong J, van Hall T, Melief CJ, Offringa R. Immune escape of tumors in vivo by expression of cellular FLICE-inhibitory protein. J Exp Med. 1999;190(7):1033-8.
199. Zhou XD, Yu JP, Chen HX, Yu HG, Luo HS. Expression of cellular FLICE-inhibitory protein and its association with p53 mutation in colon cancer. World J Gastroenterol. 2005;11(16):2482-5.
200. LaCasse EC, Mahoney DJ, Cheung HH, Plenchette S, Baird S, Korneluk RG. IAP-targeted therapies for cancer. Oncogene. 2008;27(48):6252-75.
201. Vucic D, Fairbrother WJ. The inhibitor of apoptosis proteins as therapeutic targets in cancer. Clin Cancer Res. 2007;13(20):5995-6000.
202. Wei Y, Fan T, Yu M. Inhibitor of apoptosis proteins and apoptosis. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2008;40(4):278-88.
203. Lopes RB, Gangeswaran R, McNeish IA, Wang Y, Lemoine NR. Expression of the IAP protein family is dysregulated in pancreatic cancer cells and is important for resistance to chemotherapy. Int J Cancer. 2007;120(11):2344-52.
204. Vucic D, Stennicke HR, Pisabarro MT, Salvesen GS, Dixit VM. ML-IAP, a novel inhibitor of apoptosis that is preferentially expressed in human melanomas. Curr Biol. 2000;10(21):1359-66.
205. Ashhab Y, Alian A, Polliack A, Panet A, Ben Yehuda D. Two splicing variants of a new inhibitor of apoptosis gene with different biological properties and tissue distribution pattern. FEBS Lett. 2001;495(1-2):56-60.

206. Chen Z, Naito M, Hori S, Mashima T, Yamori T, Tsuruo T. A human IAP-family gene, apollon, expressed in human brain cancer cells. Biochem Biophys Res Commun. 1999;264(3):847-54.
207. Small S, Keerthivasan G, Huang Z, Gurbuxani S, Crispino JD. Overexpression of survivin initiates hematologic malignancies in vivo. Leukemia. 2010;24(11):1920-6.
208. Krepela E, Dankova P, Moravcikova E, Krepelova A, Prochazka J, Cermak J, et al. Increased expression of inhibitor of apoptosis proteins, survivin and XIAP, in non-small cell lung carcinoma. Int J Oncol. 2009;35(6):1449-62.
209. Shen XG, Wang C, Li Y, Wang L, Zhou B, Xu B, et al. Downregulation of caspase-9 is a frequent event in patients with stage II colorectal cancer and correlates with poor clinical outcome. Colorectal Dis. 2010;12(12):1213-8.
210. Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, Krishnamurthy RR, Aggarwal N, Brun AM, et al. Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: a possible mechanism for chemoresistance. Oncogene. 2002;21(57):8843-51.
211. Lavrik I, Golks A, Krammer PH. Death receptor signaling. J Cell Sci. 2005;118(Pt 2):265-7.
212. Friesen C, Fulda S, Debatin KM. Deficient activation of the CD95 (APO-1/Fas) system in drug-resistant cells. Leukemia. 1997;11(11):1833-41.
213. Fulda S, Los M, Friesen C, Debatin KM. Chemosensitivity of solid tumor cells in vitro is related to activation of the CD95 system. Int J Cancer. 1998;76(1):105-14.
214. Fulda S. Evasion of apoptosis as a cellular stress response in cancer. Int J Cell Biol. 2010;2010:370835.
215. Johnstone RW, Ruefli AA, Lowe SW. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. Cell. 2002;108(2):153-64.
216. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. J Cell Biol. 1992;119(3):493-501.
217. Loo DT. TUNEL assay. An overview of techniques. Methods Mol Biol. 2002;203:21-30.
218. Albamonte MI, Albamonte MS, Stella I, Zuccardi L, Vitullo AD. The infant and pubertal human ovary: Balbiani's body-associated VASA expression, immunohistochemical detection of apoptosis-related BCL2 and BAX proteins, and DNA fragmentation. Hum Reprod. 2013;28(3):698-706.
219. Ranzani GN, Pellegata NS, Previdere C, Saragoni A, Vio A, Maltoni M, et al. Heterogeneous protooncogene amplification correlates with tumor progression and presence of metastases in gastric cancer patients. Cancer Res. 1990;50(24):7811-4.
220. Tahara E. Molecular biology of gastric cancer. World J Surg. 1995;19(4):484-8; discussion 9-90.
221. Kim MA, Lee HE, Lee HS, Yang HK, Kim WH. Expression of apoptosis-related proteins and its clinical implication in surgically resected gastric carcinoma. Virchows Arch. 2011;459(5):503-10.
222. Faderl S, Thall PF, Kantarjian HM, Talpaz M, Harris D, Van Q, et al. Caspase 2 and caspase 3 as predictors of complete remission and survival in adults with acute lymphoblastic leukemia. Clin Cancer Res. 1999;5(12):4041-7.
223. Estrov Z, Thall PF, Talpaz M, Estey EH, Kantarjian HM, Andreeff M, et al. Caspase 2 and caspase 3 protein levels as predictors of survival in acute myelogenous leukemia. Blood. 1998;92(9):3090-7.
224. Volm M, Koomagi R. Prognostic relevance of c-Myc and caspase-3 for patients with non-small cell lung cancer. Oncol Rep. 2000;7(1):95-8.
225. Nakagawara A, Nakamura Y, Ikeda H, Hiwasa T, Kuida K, Su MS, et al. High levels of expression and nuclear localization of interleukin-1 beta converting enzyme (ICE) and CPP32 in favorable human neuroblastomas. Cancer Res. 1997;57(20):4578-84.

226. Koomagi R, Volm M. Relationship between the expression of caspase-3 and the clinical outcome of patients with non-small cell lung cancer. Anticancer Res. 2000;20(1B):493-6.
227. Peiro G, Diebold J, Baretton GB, Kimmig R, Lohrs U. Cellular apoptosis susceptibility gene expression in endometrial carcinoma: correlation with Bcl-2, Bax, and caspase-3 expression and outcome. Int J Gynecol Pathol. 2001;20(4):359-67.
228. Jonges LE, Nagelkerke JF, Ensink NG, van der Velde EA, Tollenaar RA, Fleuren GJ, et al. Caspase-3 activity as a prognostic factor in colorectal carcinoma. Lab Invest. 2001;81(5):681-8.
229. Isobe N, Onodera H, Mori A, Shimada Y, Yang W, Yasuda S, et al. Caspase-3 expression in human gastric carcinoma and its clinical significance. Oncology. 2004;66(3):201-9.
230. Xiao LJ, Zhao S, Zhao EH, Zheng X, Gou WF, Takano Y, et al. Clinicopathological and prognostic significance of Ki-67, caspase-3 and p53 expression in gastric carcinomas. Oncol Lett. 2013;6(5):1277-84.
231. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000;100(1):57-70.
232. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins--suppressors of apoptosis. Genes Dev. 1999;13(3):239-52.
233. Zhu Y, Ahlemeyer B, Bauerbach E, Krieglstein J. TGF-beta1 inhibits caspase-3 activation and neuronal apoptosis in rat hippocampal cultures. Neurochem Int. 2001;38(3):227-35.
234. Pang RP, Zhou JG, Zeng ZR, Li XY, Chen W, Chen MH, et al. Celecoxib induces apoptosis in COX-2 deficient human gastric cancer cells through Akt/GSK3beta/NAG-1 pathway. Cancer Lett. 2007;251(2):268-77.
235. Kania J, Konturek SJ, Marlicz K, Hahn EG, Konturek PC. Expression of survivin and caspase-3 in gastric cancer. Dig Dis Sci. 2003;48(2):266-71.
236. Nagata S. Apoptotic DNA fragmentation. Exp Cell Res. 2000;256(1):12-8.
237. Hoshi T, Sasano H, Kato K, Yabuki N, Ohara S, Konno R, et al. Immunohistochemistry of Caspase3/CPP32 in human stomach and its correlation with cell proliferation and apoptosis. Anticancer Res. 1998;18(6A):4347-53.
238. Nam SK, Im J, Kwak Y, Han N, Nam KH, Seo AN, et al. Effects of fixation and storage of human tissue samples on nucleic Acid preservation. Korean J Pathol. 2014;48(1):36-42.

Παράρτημα

Ακολουθεί αντίγραφο δημοσιευμένης εργασίας στο περιοδικό Medical Oncology. Πρόκειται για διεθνή περιοδικό με σύστημα κριτών (cited journal) και η εργασία προέκυψε από την παρούσα διατριβή.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ :

Όνομα : ΑΜΠΤΟΥΛΑΧ ΣΟΥΣΑΝΑ

Ημερομηνία γέννησης: 29 Δεκεμβρίου 1972

Τόπος γέννησης : Αθήνα

E-mail: drsouzana@yahoo.gr

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ :

Απολυτήριο λυκείου, 1^0 Λύκειο Βούλας Αττικής , 1990

Απόφοιτος Ιατρικής Σχολής, Carol Davila Πανεπιστήμιο Βουκουρεστίου

Εισαγωγή : 09/ 1992

Αποφοίτηση : 09/ 1998

Αναγνώριση πτυχίου (ΔΙΚΑΤΣΑ): 09/ 2000

Απόκτηση τίτλου ιατρικής ειδικότητας *Παθολογική Ογκολογία* 5/2010

ΙΑΤΡΙΚΗ ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ ΩΣ ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ:

01/09/2009-03/03/2010: Ειδικευόμενη Παθολογικής Ογκολογίας στην

Αιματολογική Κλινική, Αντικαρκινικό Νοσοκομείο ΜΕΤΑΞΑ (6μηνο “rotation” στην Αιματολογία)

11/03/2007- 22/06/2009 : Ειδικευόμενη Παθολογικής Ογκολογίας στο

Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Sahlgrenska, Göteborg, Σουηδίας (συμπεριλαμβανομένου 3μηνου “rotation” στη Παθολογία στη Παθολογική Κλινική του Νοσοκομείου Östra, Göteborg, Σουηδίας

16/10/2006- 10/03/2007: Ειδικευόμενη Παθολογικής Ογκολογίας στο

Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της πόλης Linköping της Σουηδίας

01/03/2006- 15/10/2006: Ειδικευόμενη Παθολογικής Ογκολογίας στο Κεντρικό Νοσοκομείο της πόλης Karlstad της Σουηδίας

01/10/2004 – 10/08/2006: Εφημερίες στην Α΄ Ακτινοθεραπευτική Κλινική, Αντικαρκινικό Νοσοκομείο ΜΕΤΑΞΑ κατά τη διάρκεια ειδικότητας στην Παθολογία

11/11/2003 – 10/08/2005: Ειδικευόμενη Παθολογίας στην Αιματολογική Κλινική, Αντικαρκινικό Νοσοκομείο ΜΕΤΑΞΑ

01/11/2002 – 31/10/2003: Ιατρός εφημεριών στην Γενική Κλινική Πειραιώς <<ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ>>

06/02/2001 – 12/08/2002: Υποχρεωτική Υπηρεσία Υπαίθρου, Π.Ι. Αυλιωτών, Κέρκυρα, Κάλυψη 3 περιφερικών ιατρείων Εφημερίες στο Κ.Υ. Αγρού, Κέρκυρας

06/11/2000 – 05/02/2001: Ειδικευόμενη τρίμηνης εκπαίδευσης στο Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Κέρκυρας

ΙΑΤΡΙΚΗ ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ ΩΣ ΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ:

Από 17/10/2011 έως σήμερα: Μόνιμη θέση στην Ογκολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Malmö της Σουηδίας

01/06/2010- 14/10/2011: Επιστημονικός συνεργάτης (έμμισθη θέση) στο Ογκολογικό Ιατρείο (Κλινική μιας ημέρας) στην Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας Γ.Ν.Α ΛΑΪΚΟ

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ:

01/12/2012: Υποτροφία Inger Persson για το ερευνητικό project "Colorectal Cancer and liver metastasis"

01/08/2005-31/01/2006: Υπότροφος της Ελληνικής Ογκολογικής Ερευνητικής Ομάδας

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ:

11/03/2007 - 22/06/2009:	Ενεργό μέλος της ομάδας εκπόνησης των κατευθυντήριων γραμμών για την αντιεμετική θεραπεία σε ασθενείς που λαμβάνουν χημειοθεραπεία, Ογκολογική κλινική, Παν/κό νοσοκομείο Sahlgrenska, Göteborg, Σουηδία
01/03/2007-30/06/2009:	25 ενεργείς διδακτικές ώρες σε φοιτητές του μαθήματος "Παθολογική Ογκολογία" της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Sahlgrenska, Göteborg, Σουηδίας (Bedside teaching- problem-based learning teaching)
11/08/2008 - 12/09/2008:	Clinical observer στο τμήμα της Παθολογικής Ογκολογίας, Churchill Hospital, Oxford
2010 έως σήμερα:	Ενεργό μέλος της ομάδας εκπόνησης των εθνικών κατευθυντήριων γραμμών για τον καρκίνο αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας, Σουηδία, http://www.skane.se/sv/Webbplatser/Regionalt-Cancercentrum/Patientprocessarbete/CUP/
05/2013:	Ολοκλήρωση και απόκτηση μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών με τίτλο "Νεοπλασματική νόσος στον άνθρωπο: Σύγχρονη κλινικοπαθολογοανατομική προσέγγιση και έρευνα"

Συμμετοχή στις κάτωθι επιστημονικές εργασίες:

Σε Ελληνικά συνέδρια:

1. Ασφάλεια και ανοχή του αντι-CD 20 μονοκλωνικού αντισώματος (Rituximab) σε υπέργηρους ασθενείς με λεμφικές νεοπλασίες

Ξ. Παπανικολάου, Α. Μεγαλακάκη, Γ. Λεβεντόπουλος, Σ. Αμπτουλάχ, Μ. Δαδακαρίδου, Α. Μπενόπουλος, Π. Ρεπούσης, Χ. Μητσούλη-Μεντζίκωφ (abstract) 16^0 Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο 16-19/11-2005, σελ 402, Θεσσαλονίκη

2. Ένδεια της βιταμινης B12 σε ασθενείς με Πολλαπλούν Μυέλωμα

Π. Ρεπούσης, Μ. Δαδακαρίδου, Κ. Μαρκωμανωλάκη, Α. Μπενόπουλος, Α. Γκούντουβας, Σ. Αμπτουλάχ, Γ. Λεβεντόπουλος, Ι. Δήμα, Ξ. Παπανικολάου, Κ. Μεγαλακάκη, Χ. Μητσούλη-Μεντζίκωφ (abstract) 16^0 Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο 16-19/11-2005, σελ 403, Θεσσαλονίκη

3. Διόγκωση δακρυϊκών και σιελογόνων αδένων (Σ.MIKULICZ) και λεμφαδενοπάθεια σε ασθενή με πολλαπλούν μυέλωμα
Α. Μεγαλακάκη, Ι. Ιακωβίδου, Σ. Αμπτουλάχ, Μ. Δαδακαρίδου, Φ. Πέτρα, Π. Αλεξάκη, Π. Ρεπούσης, Χ. Μητσούλη-Μεντζίκωφ
(abstract) 15°, Πανελλήνιο συνέδριο Αιματολογίας, σελ 273, Αθήνα

4. Αντιμετώπιση Β-λεμφωμάτων υψηλού βαθμού κακοήθειας αποκλειστικά με αντί-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα
Αικ. Μεγαλακάκη, Σ. Αμπτουλάχ, Α. Κεγίογλου, Π. Μεταξόπουλος, Φ. Πέτρα, Γ. Λεβεντόπουλος, Π. Ρεπούσης, Χ. Μητσούλη-Μεντζίκωφ
(abstract) 15° Πανελλήνιο συνέδριο Αιματολογίας 24-28/11-2004, σελ 267, Αθήνα

Σε Διεθνή συνέδρια:

1. **The prognostic influence of BRAF mutation and other molecular, clinical and laboratory parameters in stage IV colorectal cancer**
   Maria L. Karadima, Angelica A. Saetta, Ilenia Chatziandreou, Andreas C. Lazaris, Sousana Amptoulach, Ioannis Syrios, Vassilia Vamvakopoulou, Efstratios Patsouris, Nikolaos Tsavaris[a]
   (abstract). 26th international congress on anticancer treatment, 3-5 /02/2015, σελ 145, Παρίσι

2. **Expression of Caspase-3 predicts prognosis in advanced noncardia gastric cancer**
   Sousana Amptoulach, Andreas Lazaris, Maria Karadima, Boulamatsis Dimitris, Nikolaos Kavatzas, Eustratios Patsouris, Nikolaos Tsavaris
   (abstract). ESMO 26-30/09/2014, Μαδρίτη

3. **Reduced cardiac and pulmonary complication probabilities for breast cancer radiotherapy using respiratory gating**
   Anneli Edvardsson, Martin P Nilsson, Sousana Amptoulach, Sofie Ceberg
   (abstract). ESTRO 19-23 Απριλίου 2013 Γενεύη

4. **Evaluation of predictors of survival in stage IV metastatic colorectal cancer**
   Michail Zacharakis, Ioannis Xynos, Andreas Lazaris, Smaro Tsaousi, Christos Kosmas, Anna Dokou, Evangelos Felekouras, Efstathios Antoniou, Aristeidis Polyzos, John Sarantonis, John Syrios, Georgios Zografos, Alexandros Papalambros, Georgios Kechagias, Maria Karadima, Sousana Amptoulach, Onoufrios Tsavaris, Nikolaos Tsavaris
   (abstract). Excellence in Oncology 18-20/11/2010, σελ 80, Αθήνα

5. **Association of the expression of topoisomerase I and II alpha proteins in primary colorectal cancer and recurrences following 5+fluorouracil+based chemotherapy**
   Nikolaos Tsavaris, Andreas Lazaris, Christos Kosmas, Panagiotis Gouveris, Nikolaos Kavantzas, Petros Kopterides, Thomas Papathomas, Georgios

Agrogiannis, Haralambos Zorzos, Vassiliky Kyriakou, Smaro Tsaousi, Helias Skopelitis, Onoufrios Tsavaris, Maria Karadima, Sousana Amptoulach, Efstratios Patsouris
(abstract). Excellence in Oncology 18-20/11/2010, σελ 81, Αθήνα

6. **Combine treatment with bevacizumab and stardard chemotherapy restores abnormal immune parameters in advanced colorectal cancer patients**
Nikolaos Tsavaris, Ioannis Voutsas, Christos Kosmas, Sousana Amptoulach, Georgios Kechagias, Maria Karadima, Angelos Gritzapis, Constantin Baxevanis
(abstract) σελ 80. Excellence in Oncology 18-20/11/2010, Αθήνα

7. **Combination of paclitaxel+ifosfamide+cisplatin (TIP) in relapsed and/or metastatic cervical cancer**
Christos Kosmas, Georgios Kechagias, Nikolaos Mylonakis, Georgios Tsakonas, Georgios Vorias, Nikolaos Karvounis, Nikolaos Tsavaris, Theodoros Daladimos, Nikolaos Kalinoglou, Nikolaos Malamos, Thrasyvoulos Akrivos, Onoufrios Tsavaris, Sousana Amptoulach, Maria Karadima, Smaro Tsaousi, Athanasios Karabelis
(abstract) σελ 85. Excellence in Oncology 18-20/11/2010, Αθήνα

8. **Safety and efficacy of Palifermin for prevention of oral mucositis after autologous stem cell transplantation**
I.D. Triantafyllopoulou, B. Chatziantoniou, A. Alexopoulos, A. Rekliti, S. Amptoulach, M. Dadakaridou, M.Stamouli, M. Kotsopoulou, C. Megalakaki, P. Repousis, Chr. Mitsouli-Mentzikof
(abstract) Hellenic association of supportive care of the oral cavity in cancer 2nd meeting 12-13/06-2010, σελ 68, Αθήνα

9. **Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: Prognostic factors and survival. The experience of a single hematological clinic**
P. Repousis, M. Dadakaridou, S. Amptoulach, P. Metaxopoulos, A. Gountouvas, A. Markomanolaki, G. Leventopoulos, P. Gouveris, A. Benopoulos, I. Dima, A. Megalakaki, C. Mitsouli-Mentzikof
(abstract) 10th Congress of the European Hematology Association 2-5/06-2005, σελ 38, Στοκχόλμη, Σουηδία

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ:

Σε Ελλάδα:

(1). 1-2/10/2011 — 14η ΕΤΗΣΙΑ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ-**ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΜΑΘΗΜΑ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ «Παρόν & μέλλον»**, Μονάδα Μαστού της Β΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα

(2). 16-18/09/2011 — 2ος Κύκλος Σπουδών, 7ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο: **'Μελάνωμα, Σάρκωμα, Όγκοι ΚΝΣ'** Ελληνική Ακαδημία Ογκολογίας, Αθήνα

(3). 01-03/04/2011	2^{ος} Κύκλος Σπουδών, 5^{ο} Εκπαιδευτικό Σεμινάριο: **'Γυναικολογικός καρκίνος'** Ελληνική Ακαδημία Ογκολογίας, Αθήνα
(4). 18-19/02/2011	"**Εξελίξεις στην Ογκολογία**" ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ, Ογκολογικό Τμήμα Παθολογικής Κλινικής, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Πατρών- ΕΟΓΕ
(5). 22/01/2011	"**Inherited Breast Cancer Syndromes: from bench to bedside"** Ημερίδα, Εταιρία Ογκολόγων Παθολόγων Ελλάδας
(6). 26-28/11-2010	2^{ος} Κύκλος Σπουδών, 4^{ο} Εκπαιδευτικό Σεμινάριο: **« Καρκίνος Ουροποιογεννητικού Συστήματος»** Ελληνική Ακαδημία Ογκολογίας, Αθήνα
(7). 2-3/10- 2010	13^{η} ΕΤΗΣΙΑ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ-**ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΜΑΘΗΜΑ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ «Εξελίξεις & Αναπάντητα Ερωτήματα»**, Μονάδα Μαστού της Β΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα
(8). 3-5/09-2010	2^{ος} Κύκλος Σπουδών, 3^{ο} Εκπαιδευτικό Σεμινάριο: **« Κακοήθη Νεοπλάσματα Γαστρεντερικού Συστήματος»** Ελληνική Ακαδημία Ογκολογίας, Αθήνα
(9). 14-15/05-2010	2^{ος} Κύκλος Σπουδών, 2^{ο} Εκπαιδευτικό Σεμινάριο: **«Καρκίνος Κεφαλής και Τραχήλου, Νεοπλάσματα Θώρακα και Μεσοθωράκιο»** Ελληνική Ακαδημία Ογκολογίας, Αθήνα
(10). 26-27/02-2010	2^{ος} Κύκλος Σπουδών 1^{ο} Εκπαιδευτικό Σεμινάριο: **«Βιολογία του Καρκίνου, Βασικές Αρχές Ογκολογίας»** Ελληνική Ακαδημία Ογκολογίας, Αθήνα
(11). 15-16/01-2010	2^{ο} Σεμινάριο **ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ**, Α' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα
(12). 9-13/03-2009	Εκπαιδευτικό σεμινάριο **«Επισκόπηση στην Αιματολογία»**, Αιματολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Uppsala, Uppsala, Σουηδία

(13). 10-14/02-2004 «**Εκπαιδευτικές Ημερίδες Πρωτοβάθμιας Φροντίδα Υγείας»** ΄Γ. ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ΄, Γ΄ Παθολογικό τμήμα, Γ.Ν.Ν.Π. ΄ Ο ΑΓΙΟΣ ΠΑΝΤΕΛΕΗΜΩΝ’, Αθήνα

(14). 11,16,18/03-2004 «**Ταξινόμηση και σταδιοποίηση νεοπλασμάτων βασικές αρχές θεραπείας»**, Γ Πε.Σ.Υ.Π ΑΤΤΙΚΗΣ, Ειδικό Αντικαρκινικό Νοσοκομείο Πειραιά - ΜΕΤΑΧΑ, Αθήνα

(15). 18/05-18/06-2004 **ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ**, (18 διδακτικές ώρες), Δ΄ Παθολογική κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο ΑΤΤΙΚΟ, Αθήνα

(16). 20/11/2004 Επιστημονική Ημερίδα **«ΚΑΛΟΗΘΕΙΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ»**, ΓΟΝΚ «ΟΙ ΑΓΙΟΙ ΑΝΑΡΓΥΡΟΙ», ΕΑΝΠ «ΜΕΤΑΞΑ», Αθήνα

Στο Εξωτερικό:

(1). 09-10/10-2008 Εκπαιδευτικό σεμινάριο **«Αντιεμετική θεραπεία»**, Swemesis (Swedish Workgroup Emesis), Lund, Σουηδία

(2). 09-12/2008 **«Καρκινικός πόνος»**, 3μηνο εκπαιδευτικό σεμινάριο (εκπαίδευση από απόσταση) Ογκολογική Κλινική της Lund, Ιατρική Σχολή Lund, Göteborg, Σουηδία

(3). 04-08/02-2008 Εκπαιδευτικό σεμινάριο **«Καρκίνος του Πνεύμονα,** Karolinska Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο, Huddinge, Stockholm, Σουηδία

(4). 19-23/11-2007 Εκπαιδευτικό σεμινάριο **«Evidence based medicine»**, Κέντρο Κλινικής Έρευνας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Örebro, Örebro, Σουηδία

(5). 02-2007 Workshop on **«Clinical trials and Good Clinical Practice»** (12 διδακτικές ώρες) Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό νοσοκομείο Karolinska, Linköping, Σουηδία

ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

Ελληνικά:

(1). 26-28/04-2012 **18^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Ογκολογίας**

Εταιρεία Ογκολόγων Παθολόγων Ελλάδας (ΕΟΠΕ)

Αθήνα

(2). 13-15/11-2009 — 15° ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ **«Στοχεύοντας την εξατομικευμένη, πολύπλευρη αντιμετώπιση του ογκολογικού ασθενή»**, Επιστημονικό Συμβούλιο Ε.Α.Ν.Π «ΜΕΤΑΞΑ», Αθήνα

(3). 03-04/09-2005 — **«Ανασκόπηση ASCO 2005»**, Πανεπιστημιακή Παθολογική Ογκολογική Κλινική (Π.Α.Γ.ΝΗ.) Παγκρήτια Ένωση Βιοιατρικής Έρευνας (Π.Ε.Β.Ε), Αθήνα

(4). 21-23/10-2005 — **«4th Symposium on New Molecules in Cancer Therapeutics»**, Πανεπιστημιακή Παθολογική Ογκολογική Κλινική Ηρακλείου, Παγκρήτια Ένωση Βιοιατρικής Έρευνας, Ελληνική Ογκολογική Ερευνητική Ομάδα, Αθήνα

(5). 24-28/11-2004 — **15° ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ**, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία, Αθήνα

Διεθνή:

(1). 26-30/09-2014 — **European Multidisciplinary Cancer Congress (ESMO)**, Madrid, Ισπανία

(2). 23-27/09-2011 — **European Multidisciplinary Cancer Congress (ESMO)**, Stockholm, Σουηδία

(3). 18-20/11-2010 — **Excellence in Oncology**, Αθήνα

(4). 21-22/02-2008 — **2nd State of The Art symposium-Hepatocellular cancer**, Κέντρο Μεταμοσχεύσεων, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Sahlgrenska, Göteborg, Σουηδία

(5). 31/05-4/06-2003 — **9th Biennial Congress of the European Council of Coloproctology**, European Council of Coloproctology, Αθήνα

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ :

(1). Amptoulach S, Kalaitzakis E, Azam F
Adjuvant chemotherapy should be used as the standard of care for resectable pancreatic cancer.
Review article, Cancer Therapy Vol 7, page 227-233, 2009

(2). Amptoulach S, Josefsson A, Kavantzas I, Kalaitzakis E
Adenocarcinoma of the ampula of Vater. Does the histopathologic type matter?
Letter to the Editor, Scand J Gastroenterol Vol 2011

(3). Amptoulach S, Tsavaris N
Neurotoxicity caused by the treatment with platinum analogous
Review article, Chemotherapy Research and Practice Vol 2011 Article ID 843019

(4). Xynos ID, Karadima ML, Voutsas IF, Amptoulach S, Skopelitis E, Kosmas C, Gritzapis AD, Tsavaris N.
Chemotherapy ± cetuximab modulates peripheral immune responses in metastatic colorectal cancer.
Oncology. 2013;84(5):273-83. doi: 10.1159/000343282.

(5). Diamantis N, Xynos ID, Amptoulach S, Karadima M, Skopelitis H, Tsavaris N.
Prognostic significance of smoking in addition to established risk factors in patients with Dukes B and C colorectal cancer: a retrospective analysis.
J BUON. 2013 Jan-Mar;18(1):105-15.

(6). Syrios J, Kechagias G, Agrogiannis G, Xynos ID, Kavantzas N, Lazaris AC, Amptoulach S, Mourati A, Sougioultzis S, Patsouris ES, Tsavaris N.
DNA ploidy: a prognostic factor of response to chemotherapy and survival in metastatic gastric adenocarcinoma.
Anticancer Res. 2013 Mar;33(3):1209-14. Erratum in: Anticancer Res. 2013 Apr;33(4):1783.

(7). Expression of caspase-3 predicts prognosis in advanced noncardia gastric cancer.
Amptoulach S, Lazaris AC, Giannopoulou I, Kavantzas N, Patsouris E, Tsavaris N.
Med Oncol. 2015 Jan;32(1):416. doi: 10.1007/s12032-014-0416-7.