

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Α.Χ ΛΑΖΑΡΗΣ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΠΛΟΕΙΔΙΑΣ ΣΕ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΠΑΧΕΟΣ
ΕΝΤΕΡΟΥ

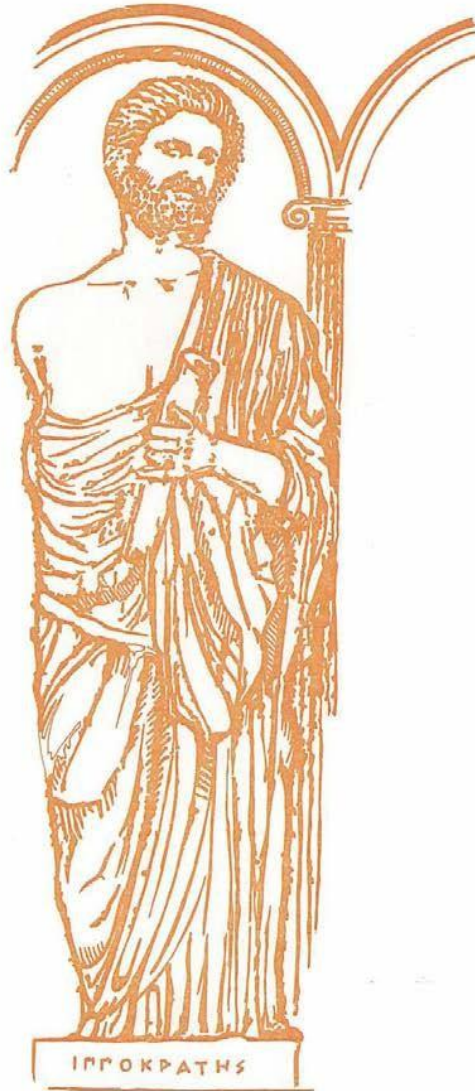
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΠΟΛΥΖΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2019

ΕΘΝΙΚΟΝ ἤ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΟΡΚΟΣ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΘΕΑΣ, ΕΡΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΑΥΤΟΥΣ ΩΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΗΣΩ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΑΥΤΗΝ ΕΔΩ ΤΗΝ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΜΕΝ ΕΚΕΙΝΟΝ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΜΕ ΕΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΙΣΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΜΩ ΚΟΙΝΩΝΟΝ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΒΟΗΘΩ ΟΤΑΝ ΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΙΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΝ ΑΝΑΓΚΗΝ, ΚΑΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΕΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗΝ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗΝ ΚΑΙ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ, ΘΑ ΠΑΡΕΧΩ ΔΕ ΣΥΜΒΟΥΛΑΣ, ΕΙΔΙΚΑ ΠΡΟΦΟΡΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΥΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΜΑΘΗΤΑΣ, ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΚΑΙ ΕΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΔΡΕΨΙ ΟΡΚΟΝ ΣΥΜΦΩΝΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟΝ ΝΟΜΟΝ, ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ ΔΕ ΑΛΛΟΝ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩ ΔΕ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΝ ΑΓΩΓΗΝ ΠΡΟΣ ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ. ΘΑ ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΩ ΔΕ ΒΛΑΒΗΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΕΔΙΚΙΑΝ, ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟΝ ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΕΑΝ ΜΟΥ ΖΗΤΗΣΩ, ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΤΟΙΑΥΤΗΝ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΟΣΑΥΤΟΣ ΟΥΤΕ ΕΙΣ ΕΓΚΥΟΝ ΓΥΝΑΙΚΑ ΘΑ ΔΩΣΩ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟΝ ΦΑΡΜΑΚΟΝ, ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΩ ΔΕ ΤΟΝ ΒΙΟΝ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΡΟΠΟΝ ΑΓΝΟΝ ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΘΕΙΟΝ ΝΟΜΟΝ, ΑΚΟΜΗ ΔΕ ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΩ ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΛΙΘΙΑΣΙΝ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΑΡΑΠΕΜΠΩ ΕΙΣ ΑΝΑΡΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΣ, ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΙΑ ΤΟ ΕΡΓΟΝ ΤΟΥΤΟ, ΕΙΣ ΟΣΑΣ ΔΕ ΔΙΚΙΑΣ ΜΕΤΑΒΑΙΝΩ, ΘΑ ΕΙΣΕΡΧΟΜΑΙ ΠΡΟΣ ΒΟΗΘΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ, ΑΠΕΧΩΝ ΠΑΣΗΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΑΔΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗΣ ΔΙΑΦΘΟΡΑΣ ΚΑΙ ΣΑΡΚΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ Η ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑΝ Η ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΝ ΜΟΥ ΜΕΤΑ ΤΩΝ ΑΛΛΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΕΙΣ ΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗΝ ΤΟΥΣ ΖΩΗΝ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΑΝΑΚΟΙΝΩΘΟΥΝ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΑΛΛΟΥΣ, ΘΑ ΚΡΑΤΩ ΜΥΣΤΙΚΑ, ΠΙΣΤΕΥΩΝ ΟΤΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΡΡΗΤΑ. ΕΦ' ΟΣΟΝ ΜΕΝ ΛΟΙΠΟΝ ΤΗΡΩ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΩ, ΕΙΣΘΕ ΝΑ ΑΠΟΛΛΑΥΩ ΚΑΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΣ, ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΟΣ ΕΞΑΕΙ ΑΠΟ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ' ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΑΥΤΟΝ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΤΟΥΤΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

1. ΕΛΕΝΗ ΓΚΟΓΚΑ, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Ά Παθολογικής Κλινικής Λαϊκού Νοσοκομείου
2. ΑΝΔΡΕΑΣ Χ. ΛΑΖΑΡΗΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ, Διευθυντής Ά Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής
3. ΝΙΚΟΛΑΟΣ Γ. ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ, Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής

Μέλη Επταμελούς Επιτροπής

1. ΕΛΕΝΗ ΓΚΟΓΚΑ, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ, Διευθύντρια Ά Παθολογικής Κλινικής Λαϊκού Νοσοκομείου
2. ΑΝΔΡΕΑΣ Χ. ΛΑΖΑΡΗΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ, Διευθυντής Ά Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής
3. ΝΙΚΟΛΑΟΣ Γ. ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ, Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής
4. ΚΑΡΑΜΟΥΖΗΣ ΜΙΧΑΗΛ, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας
5. ΧΟΛΟΓΚΙΤΑΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ά Παθολογικής Κλινικής Λαϊκού Νοσοκομείου
6. ΣΑΜΑΡΚΟΣ ΜΙΧΑΗΛ, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ά Παθολογικής Κλινικής Λαϊκού Νοσοκομείου
7. ΘΥΜΑΡΑ ΕΙΡΗΝΗ, Επίκουρη Καθηγήτρια, Ά Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής

Στους γονείς μου Άρη & Μαίρη

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον ομότιμο Καθηγητή και Κοσμήτορα του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ευστράτιο Πατσούρη για την έγκριση του πρωτοκόλλου της διατριβής και την παρακολούθηση της προόδου της καθώς και τον Καθηγητή και διευθυντή του Α Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής κ. Ανδρέα Λάζαρη για την συνέχιση της προόδου της διατριβής. Τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Νικόλαο Τσαβαρή, ιδιαίτερος ευχαριστώ, υπό την εποπτεία του οποίου ολοκληρώθηκε η διατριβή.

Την καθηγήτρια κ. Έλενα Γκόγκα, Διευθύντρια Α Παθολογικής Κλινικής του ΕΚΠΑ θερμά ευχαριστώ για τις εύστοχες υποδείξεις της και τις ωφέλιμες παρεμβάσεις της στην ολοκλήρωση της διατριβής. Τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Καβαντζά θερμά ευχαριστώ για την σημαντική βοήθεια που μου προσέφερε ειδικά στο εργαστηριακό μέρος της μελέτης. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ευμορφία Μ. Δελιχά για την βοήθεια στην στατιστική ανάλυση και επεξεργασία των δεδομένων που μελετήθηκαν.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην διατριβή αυτή μελετήθηκαν 24 πιθανοί προγνωστικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με τους ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου σταδίου IV. Ειδικά με την θεραπεία που έλαβαν, τις παρενέργειες, τα εργαστηριακά ευρήματα και τους καρκινικούς δείκτες. Συγχρόνως, στα ιστολογικά δείγματα των ασθενών μελετήθηκε η πλοειδία και το ποσοστό των προγονικών κυττάρων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	6
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	7
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ.....	10
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	15
Α. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	16
• Παράγοντες κινδύνου.....	18
Β. Παθολογική Ανατομική καρκίνου παχέος εντέρου.....	23
Γ. Κλινική εικόνα καρκίνου παχέος εντέρου.....	26
Δ. Προγνωστικοί παράγοντες.....	28
Ε. Πλοειδικότητα DNA.....	34
ΣΤ. Προγονικά κύτταρα.....	43
Ζ. Γενετικά μονοπάτια στον καρκίνο παχέος εντέρου.....	50
Η. BRAF γονίδιο.....	53
Θ. PIK3CA γονίδιο.....	59
Ι. Το δίκτυο RAS-MAPK-PI3K.....	61

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	63
Υλικό και μέθοδοι.....	65
Ματαβλητοί παράγοντες πρόγνωσης.....	66
Μέτρηση DNA (πλοειδία).....	69
Μέτρηση προγονικών κυττάρων.....	70
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	71
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	73
• Κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών.....	73
• Μονοπαραγοντική ανάλυση ανταπόκρισης.....	73
• Μονοπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης.....	74
• Μονοπαραγοντική ανάλυση πλοειδίας.....	75
• Μονοπαραγοντική ανάλυση προγονικών κυττάρων.....	76
• Πολυπαραγοντική ανάλυση.....	76
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	77
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	79
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	80
ABSTRACT.....	81
ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ.....	82
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	83

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Κωνσταντίνος Πολύζος

Τόπος Γεννήσεως: Μαρούσι, Αθήνα

Ημερομηνία Γέννησης: 08/08/1981

Διεύθυνση Κατοικίας: Λ. Δημοκρατίας 103, Διόνυσος Αττική, ΤΚ: 145 76

Τηλέφωνο: +30 2108150836

Κινητό: +30 6974243114

E - Mail: kosterkobe@hotmail.com

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ - ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Ιούνιος 1999, **Αποφοίτηση από το Αρσάκειο - Τοσίτσειο Λύκειο Εκάλης.**

Απρίλιος 2008, **Πτυχίο Σχολής Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής Ε.Κ.Π.Α, Βαθμός Λίαν Καλώς.**

Απρίλιος 2008 - Οκτώβριος 2008, **Ερευνητικός υπότροφος της Ελληνικής Ογκολογικής Εταιρείας (HORG).**

Μάιος 2009 – Νοέμβριος 2009, **Εσωτερικός Βοηθός, Α΄ Παθολογικής Κλινικής, 251 ΓΝΑ.**

Νοέμβριος 2008 – Νοέμβριος 2009, **ολοκλήρωση στρατιωτικής θητείας στο σώμα της Πολεμικής Αεροπορίας.**

Ιούλιος 2010, **Έναρξη διδακτορικής Διατριβής με θέμα «Προσδιορισμός προγονικών κυττάρων και πλοειδίας σε μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου».**

Ιανουάριος 2012 - Οκτώβριος 2016, **Ολοκλήρωση ειδικότητας Παθολογίας στην Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών - Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό».**

Ιούλιος 2016, **απόκτηση τίτλου Ιατρικής ειδικότητας "Ειδικής Παθολογίας."**

2017 – 2019, **Μεταπτυχιακή εκπαίδευση στο ΕΚΠΑ με τίτλο "Διαβήτης και Παχυσαρκία."**

ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Ιούνιος 2011 - Σεπτέμβριος 2011, **Γενικό Νοσοκομείο Χαλκίδας, Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου.**

Σεπτέμβριος 2011 - Δεκέμβριος 2011, **Π.Ι. Στροφυλιάς, Κ.Υ. Μαντουδίου, Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου.**

Οκτώβριος 2016 – Απρίλιος 2018, **Επιστημονικός συνεργάτης ογκολογικού τμήματος Ιατρικού Κέντρου Αθηνών.**

2018 έως σήμερα, **διορισθείς στην Παθολογική κλινική του ΚΑΤ ως επικουρικός ιατρός (Επιμελητής Β).**

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Polyzos KA, Karadima ML, Kosma AC, Lazaris A, Kavantzias N, Tsavaris N: *Clinical Influence of Ploidy and Cancer Stem Cells and Other Parameters in Stage IV Colorectal Cancer.* In Vivo. 2019 Jan-Feb;33(1):245-249. doi: 10.21873/invivo.11467. PMID: 30587631
2. Polyzos A, Felekouras E, Karatzas T, Griniatsos J, Dimitroulis D, **Polyzos K**, Kontzoglou K, Mantas D, Karavokyros J, Nikiteas N, Tsavaris N, Syrigos K, Vafiadis I. *Modified docetaxel-cisplatin in combination with capecitabine as first-line treatment in metastatic gastric cancer. a phase II study.* Anticancer Res. 2012 Sep;32(9):4151-6.

3. Polyzos A, Gogas H, Markopoulos C, Tsavaris N, Papadopoulos O, **Polyzos K**, Giannopoulos A. *Salvage chemotherapy with oxaliplatin and capecitabine for breast cancer patients pretreated with anthracyclines and taxanes.* Anticancer Res. 2009 Jul;29(7):2851-6.

4. Polyzos A, Tsavaris N, Gogas H, Lagadas A, Polyzos K, Giannakopoulos K, Felekouras E, Tsigris C, Karatzas T, Papadopoulos O, Giannopoulos A. *Cisplatin-Ifosfamide-gemcitabine as salvage chemotherapy in ovarian cancer patients pretreated with platinum compounds and Paclitaxel.* Anticancer Res. 2009 Jul;29(7):2681-6. PMID: 19596946.

5. Polyzos A, Tsavaris N, Gogas H, Souglakos J, Vambakas L, Vardakas N, **Polyzos K**, Tsigris C, Mantas D, Papachristodoulou A, Nikiteas N, Karavokyros JG, Felekouras E, Griniatsos J, Giannopoulos A, Kouraklis G. *Clinical features of hypersensitivity reactions to oxaliplatin: a 10-year experience.* Oncology. 2009;76(1):36-41. doi: 10.1159/000178163. Epub 2008 Nov 26.

6. Polyzos A, Tsavaris N, Vafiadis I, **Polyzos K**, Griniatsos J, Felekouras E, Nikiteas NI, Halikias S, Nikou G. *Phase II study of gemcitabine plus 5-fluorouracil biologically modulated by folinic acid plus long-acting formulation of octreotide (LAR) in patients with advanced pancreatic cancer.* J BUON. 2005 Jul-Sep;10(3):357-64. PMID: 7357189

7. Polyzos A, Tsavaris N, Kosmas C, **Polyzos K**, Giannopoulos A, Felekouras E, Nikiteas N, Kouraklis G, Griniatsos J, Safioleas M, Stamatakos M, Pikoulis E, Papachristodoulou A, Gogas H. *Subsets of patients with advanced gastric cancer responding to second-line chemotherapy with docetaxel-cisplatin.* Anticancer Res. 2006 Sep-Oct;26(5B):3749-53.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ - ABSTRACTS ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ

1. Polyzos A, Tsavaris N, Kosmas C, **Polyzos K**, Giannopoulos A, Felekouras E, Nikiteas N, Kouraklis G, Griniatsos J, Safioleas M, Stamatakos M, Pikoulis E, Papachristodoulou A, Gogas H. *Subsets of patients with advanced gastric cancer responding to second-line chemotherapy with docetaxel-cisplatin.* 6th Congress Balkan Union of Oncology (B.U.O.N), Sofia-Bulgaria, 13-16 September, 2006.

2. **Polyzos K**, Basoulis D, Mylona M, Fytili C, Tsilingiris D, Liaskos C, Toskas P, Petsa P, Arvanitis M, Psychogiou M. *Peritoneal tuberculosis in a Sudanese non-HIV immigrant patient.* 1st Department of Propaedeutic and Internal Medicine, Medical School University of Athens, Laiko General Hospital, Athens, Greece. 14 th European Congress of Internal Medicine, Moscow-Russia, 14-16 October, 2015

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

1. Συμπληρωματική χημειοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού.
Κ. Πολύζος, Α. Πολύζος *Προεγχειρητική – Μετεγχειρητική και υποστηρικτική θεραπεία σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους.* Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 2008.

2. Νεότερα στη θεραπεία με αυξητικούς παράγοντες.
Κ. Πολύζος, Α. Πολύζος *Προεγχειρητική –Μετεγχειρητική και υποστηρικτική θεραπεία σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους.* Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 2008.

3. Νεότερα για τις ερυθροποιητίνες.
Κ. Πολύζος, Α. Πολύζος *Προεγχειρητική –Μετεγχειρητική και υποστηρικτική θεραπεία σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους.* Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 2008.

ΜΕΛΟΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΩΝ/ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

2008: Μέλος Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών (ΙΣΑ)

2017: Μέλος Ελληνικής Εταιρίας Εσωτερικής Παθολογίας

2018: Μέλος Ελληνικής Διαβητολογικής Εταιρίας (ΕΔΕ)

2019: Μέλος Εταιρείας Μελέτης Παραγόντων Κινδύνου για Αγγειακά Νοσήματα (Ε.Μ.Πα.Κ.Α.Ν.)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

1. **Αγγλικά B1** (First Certificate in English)
2. **Ρουμάνικα** (Καλό επίπεδο)
3. **Γερμανικά** (Βασικές Γνώσεις)

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Επίπτωση

Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου σχετίζεται με περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες. Σύμφωνα με το World Cancer Report, αποτελεί τον τρίτο συχνότερο καρκίνο, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και τον καρκίνο του μαστού με 940.000 νέες περιπτώσεις ετησίως, τα 2/3 των οποίων αφορούν στον αναπτυσσόμενο κόσμο. (1) Η διαφορά στη γεωγραφική κατανομή της νόσου αντανακλά τη διαφορετική έκθεση σε περιβαλλοντικούς και κυρίως, διατροφικούς, παράγοντες κινδύνου, σε συνδυασμό και με γενετικούς παράγοντες. Η επίπτωση αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας, καθώς και σε κληρονομικά σύνδρομα που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη ορθοκολικού καρκίνου. (2)

Η ηλικία αποτελεί τον σπουδαιότερο παράγοντα κινδύνου για το σποραδικό καρκίνο του παχέος εντέρου, με τον κίνδυνο εμφάνισης να αυξάνεται προοδευτικά μετά την ηλικία των 40 – 50 ετών. Στις ΗΠΑ, οι άνδρες εμφανίζουν κατά 25% μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης ορθοκολικού καρκίνου σε σύγκριση με τις γυναίκες και οι Αφροαμερικανοί 20% μεγαλύτερο κίνδυνο σε σχέση με τους λευκούς. Η επίπτωση αυξάνεται ακόμα, σε κληρονομικά σύνδρομα που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη ορθοκολικού καρκίνου. (3)

Τα τελευταία χρόνια έχει παγκοσμίως παρατηρηθεί μια αύξηση της επίπτωσης στους καρκίνους του δεξιού ή εγγύς παχέος εντέρου και ιδίως του τυφλού, (4), (5), (6), (7), γεγονός που φαίνεται να οφείλεται όχι μόνο στην πρόοδο στη διάγνωση και θεραπεία δεδομένου ότι οι σύγχρονες μέθοδοι διάγνωσης με το εύκαμπτο σιγμοειδοσκόπιο και η απομάκρυνση των αδενωματωδών πολυπόδων να είναι αποτελεσματικότερη στο κατιόν κόλον, αλλά και σε μία αληθή αύξηση της επίπτωσης στους καρκίνους του ανιόντος κόλου και του τυφλού. (5),(8)

Ακόμα, η κολonosκόπηση μπορεί να είναι αποτελεσματικότερη στην πρόληψη του καρκίνου του αριστερού κόλου, γεγονός που μπορεί να συμβάλλει στη στροφή αυτή που παρατηρείται στην επίπτωση του καρκίνου του παχέος εντέρου. Αυτό οφείλεται εν μέρει σε παράγοντες που σχετίζονται με την ποιότητα της κολonosκόπησης, όπως η ατελής προετοιμασία του δεξιού κόλου, η μη ολοκληρωμένη κολonosκόπηση και οι

ανατομικές διατάξεις που παρεμποδίζουν την επαρκή ορατότητα αλλά και σε βιολογικές παραμέτρους που φαίνεται να διαφοροποιούνται ανάλογα με την εντόπιση του όγκου. Έτσι, τα «οδοντωτά αδενώματα, που είναι πιο επίπεδα και επομένως πιο δύσκολο να γίνουν ενδοσκοπικώς ορατά και τα οποία χαρακτηριστικά φέρουν τη μετάλλαξη V600E στο BRAF γονίδιο και που οδηγούν σε καρκινώματα του παχέος εντέρου με μικροδορυφορική αστάθεια, είναι πιο συχνά στο δεξιό κόλον. (9), (10)

Θνητότητα

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου ευθύνεται για περίπου 500.000 θανάτους το χρόνο, αποτελώντας την τέταρτη συχνότερη αιτία θανάτου από καρκίνο. (1) Στην Αμερική, όπου ο αριθμός των θανάτων από ορθοκολικό καρκίνο για το 2009, υπολογίζεται στους 49.920, οι δείκτες επίπτωσης και θνησιμότητας ακολουθούν πτωτική πορεία, πιθανόν, λόγω της ευρύτερης εφαρμογής προγραμμάτων πρόληψης και παρακολούθησης με ενδοσκοπικό έλεγχο του εντέρου, εξελίξεων στη θεραπεία της νόσου και αλλαγής στις διαιτητικές συνήθειες των ομάδων με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Η πενταετής επιβίωση αφορά στο 64% των ασθενών (11).

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου φαίνεται ότι επηρεάζεται από την αλληλεπίδραση πλήθους γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Όσοι από τους παράγοντες κινδύνου εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με την εκδήλωση καρκίνου του παχέος εντέρου μπορούν να επηρεάσουν τις συστάσεις ελέγχου για έγκαιρη διάγνωση. Περιλαμβάνουν τα μέλη οικογενειών με οικογενή σύνδρομο καρκίνου του παχέος εντέρου, προηγούμενο ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό καρκίνου ή αδενωμάτων του παχέος εντέρου και ασθενείς με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου.

Κληρονομικά σύνδρομα καρκίνου του παχέος εντέρου

Η οικογενής πολυποδίαση (Familia adenomatous polyposis, FAP) και ο κληρονομικός μη πολυποδισιακός καρκίνος του παχέος εντέρου ή σύνδρομο Lynch

(hereditary non polyposis colon cancer, HNPCC) αποτελούν τα πιο κοινά σύνδρομα οικογενούς ορθοκολικού καρκίνου, που κληρονομούνται κατά τον αυτοσωμικό επικρατή τρόπο. Ωστόσο και τα δύο μαζί οφείλονται μόλις για το 5% των περιπτώσεων κακοήθους νεοπλασίας του παχέος εντέρου.(12,13,14)

Το σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης (FAP) και οι παραλλαγές του (σύνδρομο Gardner, σ.Turcot και εξασθενημένο σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης υπολογίζεται ότι ευθύνεται για λιγότερο από 1% περιπτώσεων ορθοκολικού καρκίνου. Οι ασθενείς, στην τυπική μορφή του FAP, εκδηλώνουν πολυάριθμα αδενώματα στο παχύ έντερο από την παιδική ηλικία. Τα συμπτώματα εμφανίζονται κατά μέσο όρο στην ηλικία των 16 ετών, ενώ το 90% εκδηλώνει καρκίνο ως την ηλικία των 45. Στην εξασθενημένη του μορφή (AAPC), ο κίνδυνος εκδήλωσης κακοήθους νεοπλασίας του παχέος εντέρου παραμένει ο ίδιος, αλλά ωστόσο ο αριθμός των αδενωμάτων είναι μικρότερος και η μέση ηλικία εκδήλωσης μεγαλύτερη, στα 54 χρόνια. Το FAP οφείλεται σε γενετικές μεταλλάξεις του γονιδίου APC που εδράζεται στο χρωμόσωμα 5, ενώ στην εξασθενημένη μορφή του συνδρόμου, οι μεταλλάξεις αφορούν σε διαφορετικές θέσεις του ίδιου γονιδίου.(12)

Η MUTYH σχετιζόμενη πολυποδίαση αφορά σε μικρό ποσοστό ασθενών με πολλαπλά αδενώματα του παχέος εντέρου (ως και 500) διαλληλικές γενετικές μεταλλάξεις στο ομόλογο γονίδιο επιδιόρθωσης με εκτομή βάσης mutY (MYH ή MUTYH). Οι μεταλλάξεις αυτές προδιαθέτουν τους ασθενείς κατά τρόπο αυτοσωμικό υπολειπόμενο στην εκδήλωση πολλαπλών αδενωμάτων που μπορούν να παρουσιάζουν φαινότυπο πολυποδίασης, που αναφέρεται συχνά ως MUTYH-σχετιζόμενη πολυποδίαση (MAP). Το σύστημα επιδιόρθωσης με εκτομή βάσης επιδιορθώνει μεταλλάξεις που οφείλονται σε οξειδωτική καταστροφή του DNA, στην οποία εμφανίζει μεγάλη ευαισθησία το γονίδιο APC κι επομένως αποτυχία του συστήματος αυτού, οδηγεί συχνά σε σωματικές μεταλλάξεις του γονιδίου APC και ιδίως σε μεταλλάξεις μεταστροφής από G:C σε T:A, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν στην εκδήλωση πολυποδίασης.

Το σύνδρομο Lynch κληρονομείται κατά τον αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και εκτιμάται ότι ευθύνεται για το 3-5% των αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου. Αφορά οικογένειες που φέρουν καθορισμένες μεταλλάξεις που έχει βρεθεί ότι παραβιάζουν τη λειτουργία των γονιδίων επιδιόρθωσης των λανθασμένα

ζευγαρωμένων βάσεων και συνηθέστερα στα hMLH1, hMSH2, hMSH6 ή PMS2. Κατά βάση οι ασθενείς αυτοί φέρουν μία κληρονομούμενη μετάλλαξη στο ένα αλληλίο του MMR ενώ το δεύτερο αλληλίο απενεργοποιείται από μια σωματική μετάλλαξη, απώλεια της ετεροζυγωτίας ή επιγενετική αποσιώπηση μέσω υπερμεθυλίωσης. Οι ασθενείς με σ.Lynch παρουσιάζουν πρόωμη εκδήλωση βλαβών κυρίως δεξιάς εντόπισης, με μέση ηλικία διάγνωσης του καρκίνου τα 48 έτη. Το 70% των αρχικών βλαβών εμφανίζονται εγγύς της σπληνικής καμπής και σχεδόν το 10% θα έχει σύγχρονους ή μετάχρονους καρκίνους. Οι ασθενείς με σ.Lynch εμφανίζουν συχνά κακοήθη νεοπλάσματα και σε άλλες εντοπίσεις, όπως το ενδομήτριο, οι ωοθήκες, ο στόμαχος, το λεπτό έντερο, το ηπατοχοληφόρο σύστημα, τον εγκέφαλο και τη νεφρική πύελο ή τον ουρητήρα. (15,16,17)

Επίσης, το ατομικό ή οικογενειακό ιστορικό καρκίνου ή αδενωματοδών πολυπόδων του παχέος εντέρου αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθους εξαλλαγής. Ως και το 3% ασθενών με προηγούμενο ατομικό ιστορικό χειρουργικής αφαίρεσης μονήρους κακοήθους βλάβης του παχέος εντέρου, μπορούν να αναπτύξουν μετάχρονο καρκίνο στα αμέσως επόμενα πέντε χρόνια. Ακόμα, ατομικό ιστορικό αδενωματοδών πολυπόδων, μεγέθους >1 εκατοστό και πολυπόδων λαχνωτού ή σωληνολαχνωτού ιστολογικού τύπου, αυξάνουν επίσης, το σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθους εξεργασίας έως και 6.5 φορές. Αντίθετα, μέχρι δύο μικρά σωληνώδη αδενώματα, που δεν ξεπερνούν το 1 εκατοστό σε έναν ασθενή, δε φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης μετάχρονου ορθοκολικού καρκίνου. (17)

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό έχει βρεθεί ότι αποτελεί παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης νεοπλασίας του παχέος εντέρου, ανεξάρτητα από την ύπαρξη συνδρόμων με επιβεβαιωμένη γενετική προδιάθεση. Ο κίνδυνος είναι διπλάσιος στους συγγενείς πρώτου βαθμού σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, ενώ αυξάνεται περαιτέρω όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των προσβεβλημένων μελών πρώτου βαθμού ή αν η ηλικία εκδήλωσης είναι μικρότερη από τα 50 ή 60 έτη. Επίσης, οικογενειακό ιστορικό αδενωμάτων του παχέος εντέρου με μέγεθος > 1 εκατοστό ή ιστολογικά προχωρημένου σταδίου φαίνεται ότι αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου.(18) Τα άτομα αυτά θα πρέπει να υποβάλλονται σε προληπτικό έλεγχο με κολonosκόπηση από την ηλικία των 40 ετών ή 10 χρόνια νωρίτερα από το νεότερο προσβεβλημένο μέλος, σύμφωνα με τις οδηγίες του American College of Gastroenterology. (19)

Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου

Πολλές μελέτες έχουν τεκμηριώσει τη συσχέτιση της ελκώδους κολίτιδας με την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου, η οποία εξαρτάται από την έκταση, τη διάρκεια και την ενεργότητα της νόσου, τη συνύπαρξη πρωτοπαθούς χολαγγειίτιδας και το θετικό οικογενειακό ιστορικό. Αντίθετα, κάποιες έρευνες δείχνουν ότι οι θεραπείες που στοχεύουν στον περιορισμό της φλεγμονής μειώνουν τον κίνδυνο για ορθοκολικό καρκίνο.(20)

Αν και τα δεδομένα είναι λιγότερα για τη νόσο Crohn φαίνεται ότι επίσης, συνδέεται με την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου και επομένως, η εκτεταμένη κολίτιδα που αφορά σε περισσότερο από το ένα τρίτο του βλεννογόνου του εντέρου συνιστά κριτήριο για την εφαρμογή προληπτικού ελέγχου.(21)

Στους παράγοντες που ενδεχομένως επηρεάζουν τις συστάσεις ελέγχου για ανάπτυξη καρκίνου στο παχύ έντερο, περιλαμβάνονται_περιλαμβάνονται η φυλή, δεδομένου ότι Αφροαμερικανοί τείνουν να εμφανίζουν ορθοκολικό καρκίνο σε μεγαλύτερη συχνότητα και σε μικρότερη ηλικία, το άρρεν φύλο, η μεγαλακρία, ιδίως όταν η νόσος δεν είναι καλά ελεγχόμενη, αλλά και η μεταμόσχευση του νεφρού, διαμέσου της συνεχούς ανασοκαταστολής. Τέλος, ο σακχαρώδης διαβήτης και η ινσουλινοαντοχή, η αγωγή στέρησης ανδρογόνων σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, η χολοκυστεκτομή, η παχυσαρκία, η υπερκατανάλωση αλκοόλ, το κάπνισμα φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου, χωρίς ωστόσο να επηρεάζουν τις συστάσεις ελέγχου του πληθυσμού. (22-32)

ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Ένας μεγάλος αριθμός παραγόντων έχει κατά καιρούς συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο εκδήλωσης καρκίνου του παχέος εντέρου, όπως η φυσική άσκηση, μία πληθώρα διατροφικών στοιχείων όπως οι φυτικές ίνες, και τα Ω₃ λιπαρά οξέα, η λήψη ασπιρίνης και μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών, η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, η λήψη στατινών και αντιοξειδωτικών, χωρίς ωστόσο κάποιους από

αυτούς να τροποποιεί τις συστάσεις ελέγχου του πληθυσμού για καρκίνο του παχέος εντέρου. (33-40)

B. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

1. Μακροσκοπική εμφάνιση

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου διακρίνεται μακροσκοπικώς στον ανθοκραμβοειδή (ή πολυποειδή), ελκωτικό, δακτυλιοειδή (ή στενωτικό), διηθητικό και κολλοειδή. Περίπου τα δυο τρίτα όλων των όγκων είναι ελκωτικοί και το ένα τρίτο ανθοκραμβοειδείς. Ο ανθοκραμβοειδής τύπος εντοπίζεται συχνότερα, στο δεξιό κόλο. Στο αριστερό κόλο τείνουν να αναπτύσσονται περισσότερο στο τοίχωμα του εντέρου και περιφερικά, έχοντας την τυπική «εικόνα έλλειψης» ή «δαγκωμένου μήλου» στο βαριούχο υποκλυσμό.

2. Ιστολογικοί τύποι

Το αδενοκαρκίνωμα, αποτελεί το συχνότερο ιστολογικό, στο 90% με 95% των όγκων του παχέος εντέρου. Το κολλοειδές ή βλενώδες αδενοκαρκίνωμα, που χαρακτηρίζεται από μεγάλη παραγωγή βλέννης, αφορά στο 17%, (22),(41) τα καρκινώματα με κύτταρα δίκην σφραγιστήρα (2-4%) και σπανιότερα είναι τα αδеноπλακώδη καρκινώματα, τα καρκινώματα από πλακώδες επιθήλιο, τα μικροκυτταρικά και τα αδιαφοροποίητα. Πολύ σπάνια είναι τα σαρκώματα και τα ορθοκολικά μελανώματα.

3. Βαθμός διαφοροποίησης

Ανάλογα με την αρχιτεκτονική των εντερικών αδενίων, τον πυρηνικό πλειομορφισμό, τη συχνότητα των μιτώσεων και την παραγωγή βλέννης, τα αδενοκαρκινώματα ταξινομούνται σε καλής, μέτριας και φτωχής διαφοροποίησης. (42)

Επέκταση του καρκίνου του παχέος εντέρου

Ο καρκίνος του εντέρου μπορεί να επεκτείνεται και να δίνει μεταστάσεις με τους ακόλουθους τρόπους:

α) Τοπική διήθηση-κατά συνέχεια ιστών

Μετά από την αρχική ανάπτυξη, ο όγκος μπορεί να εξελιχθεί σε διάφορες κατευθύνσεις, αλλά συνήθως, πρώτα, αναπτύσσεται στον αυλό. Χρειάζεται περίπου ένας χρόνος για να καταληφθούν τα $\frac{3}{4}$ της περιφέρειας του εντέρου. Η διήθηση του τοιχώματος κατά τον επιμήκη άξονα, επεκτείνεται 4cm περιφερικώς και 7cm κεντρικώς, με το υποβλεννογόνιο λεμφικό δίκτυο. Καθώς η βλάβη αναπτύσσεται ακτινωτά, διηθεί τις εξωτερικές στιβάδες του εντερικού τοιχώματος και επεκτείνεται κατά συνέχεια ιστών σε γειτονικά όργανα ενώ η περινευρική διήθηση μπορεί να φτάσει ως και 10cm μακριά από τον πρωτοπαθή όγκο.

β) Λεμφική επέκταση

Είναι ο πιο συνηθισμένος τρόπος διασποράς. Όταν ο καρκίνος έχει διηθήσει μόνο το εντερικό τοίχωμα, το ποσοστό διήθησης των επιχώριων λεμφαδένων ανέρχεται σε 35-50%, ενώ φτάνει το 80-90% όταν έχει ξεπεραστεί το τοίχωμα.

γ) Αιματογενής επέκταση

Ο καρκίνος είναι δυνατόν να διηθήσει τις φλέβες του μεσόκολου και δια της πυλαίας κυκλοφορίας, να δώσει ηπατικές μεταστάσεις ενώ δια των σπονδυλικών φλεβών, μπορούν να αναπτυχθούν μεταστάσεις στον πνεύμονα και τα οστά. Ο καρκίνος του ορθού διασπείρεται αιματογενώς, δια του υπογάστριου φλεβικού δικτύου. Οι μεταστάσεις στις ωοθήκες είναι κυρίως αιματογενείς.

δ) Εμφύτευση Η εμφύτευση είναι η απελευθέρωση καρκινικών κυττάρων από το πρωτοπαθή όγκο και η εναπόθεση τους σε άλλη επιφάνεια και επισυμβαίνει λόγω διήθησης του τοιχώματος ή κυρίως κατά το χειρουργικό χειρισμό. Ο ύφαλος του “Blumer” (Blumer’s shelf) και σε προχωρημένα στάδια η σκληρή πύελος (frozen pelvis) οφείλεται στην εμφύτευση καρκινικών κυττάρων στην ορθομητρική ή

ορθοκυστική πτυχή ενώ οι όγκοι Krukenberg, όπως στον καρκίνο του στομάχου, σε εμφύτευση στις ωοθήκες. (43)

Σταδιοποίηση

Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα αξιολόγησης της τοπικής και μεταστατικής συμπεριφοράς είναι το σύστημα σταδιοποίησης TNM (Tumor-Nodes-Metastasis), που δίνει πληροφορίες για την επέκταση του πρωτοπαθούς όγκου, τη διήθηση των λεμφαδένων και την ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων.

Γ. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Εκτίμηση του συμπτωματικού ασθενή

Τα συμπτώματα στους ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, εξαρτώνται από την ανατομική εντόπιση της αλλοίωσης, τον τύπο και την επέκτασή της, καθώς και από τις επιπλοκές της, μεταξύ των οποίων η διάτρηση, η απόφραξη και η αιμορραγία. Εκσεσημασμένες εκδηλώσεις, όπως η καχεξία, είναι δηλωτικές προχωρημένης νόσου.

Το δεξιό έντερο, εξαιτίας της μεγαλύτερης διαμέτρου του, της διατασιμότητάς του και του λεπτόρρευστου περιεχομένου του, παρουσιάζει ηπιότερη και πιο αόριστη συμπτωματολογία. Από τα πιο κοινά συμπτώματα είναι το αίσθημα αδυναμίας και κόπωσης λόγω της αναιμίας. Μπορούν να εκδηλώνονται δυσπεπτικά ενοχλήματα και επίμονη δυσφορία στη δεξιά κοιλία ενώ στο 10% των περιπτώσεων πρώτη ένδειξη της νόσου είναι η ψηλάφηση κοιλιακής μάζας.

Οι ασθενείς με όγκους του αριστερού κόλου ή του ορθού, πιο συχνά παρουσιάζονται με αλλαγές στις εντερικές συνήθειες ή αίμα στα κόπρανα. Η αιμορραγία σπάνια είναι οξεία, συνηθέστερα, εμφανίζεται ως κόκκινο αίμα αναμεμιγμένο με κόπρανα. Συχνή, είναι και η εκδήλωση αποφρακτικών συμπτωμάτων, ιδίως στον καρκίνο του σιγμοειδούς.

Στον καρκίνο του ορθού, το συχνότερο σύμπτωμα είναι η αποβολή καθαρού αίματος, που σπανίως, μπορεί να είναι άφθονη ή με τη μορφή πηγμάτων. Η απώλεια αίματος μπορεί να είναι επίμονη και να συνοδεύεται από βλέννη. Συχνά, υπάρχει τεινεσμός και αίσθημα ατελούς αφόδευσης ενώ ο πόνος υποδηλώνει εκτεταμένη νόσο και διήθηση των γύρω ιστών και ιδίως, του υπογαστρίου και του ιερού πλέγματος. Κυστίτιδα, ουρηθρίτιδα, ορθοκυστικά ή ορθοκολπικά συρίγγια με αποβολή αερίων και κοπράνων κατά την ούρηση ή τον κόλπο, αποτελούν κλινικές εκδηλώσεις τοπικά προχωρημένης νόσου.

Η διάτρηση του εντέρου από καρκίνο μπορεί να είναι οξεία ή χρόνια. Η κλινική εικόνα της οξείας διάτρησης μπορεί να είναι παρόμοια με αυτή της σκωληκοειδίτιδας ή εκκολωματίτιδας με πόνο, πυρετό και ψηλαφητή μάζα. Ενίοτε απόφραξη, μπορεί να συνυπάρχει με διάτρηση, και αυτό είναι συχνό στο κόλο (τυφλό).

Η κλινική εξέταση μπορεί να αναδείξει ωχρότητα, ψηλαφητή μάζα, σημεία προχωρημένης και μεταστατικής νόσου, όπως ηπατομεγαλία, ασκίτη, διογκωμένους λεμφαδένες, σκληρή πύελο ή επιπλοκών όπως σημεία αποφρακτικού ειλεού σε απόφραξη και οξεία κοιλίας σε διάτρηση. Η δακτυλική εξέταση δεν πρέπει να παραλείπεται. (43), (44)

Δ. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Πολλοί παράγοντες, τόσο κλινικοί, όσο και εργαστηριακοί και γενετικοί, έχουν κατά καιρούς μελετηθεί και συσχετίζονται με την πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. Έτσι, ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο, που έχουν καλή γενική κατάσταση, χαμηλά επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και που ανέχονται καλά τη συνδυαστική χημειοθεραπεία, φαίνεται να έχουν ευνοϊκότερη πρόγνωση, σε αντίθεση με όσους δεν έχουν καλή γενική κατάσταση, παρουσιάζουν κακουχία, ανορεξία, απώλεια βάρους, αναιμία, υπολευκωματιναιμία, αυξημένα επίπεδα CRP ή χρήζουν μεταγγίσεων.(45)

1. Παράγοντες που σχετίζονται με την κλινική εικόνα του ασθενούς

α) Ηλικία – Τα στοιχεία, σχετικά με την επίδραση της νεαρής ηλικίας στην πρόγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι αντιφατικά. Ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι αυτή σχετίζεται με πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου. Ωστόσο, φαίνεται να μη διαφέρουν οι ανάλογοι του σταδίου, δείκτες επιβίωσης σε σχέση με αυτούς μεγαλύτερων ασθενών. (46),(47),(48)

Η επίδραση της μεγάλης ηλικίας φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση, τόσο στους σχετιζόμενους με τον όγκο δείκτες επιβίωσης, όσο και στους μη σχετιζόμενους με τον όγκο. (49)

β) Φύλο – Σύμφωνα με κάποιες μελέτες, οι γυναίκες έχουν καλύτερη πρόγνωση από τους άντρες, όσον αφορά στην επιβίωση από καρκίνο του παχέος εντέρου, αφού το φύλο φάνηκε να σχετίζεται με χαρακτηριστικά του όγκου, το στάδιο και την εντόπισή του, (50),(51) ενώ άλλες δεν καταδεικνύουν διαφορά στην αντίστοιχη του σταδίου επιβίωση. (52)

γ) Συμπτώματα – Η πρόγνωση είναι καλύτερη, όταν η ανίχνευση της νόσου γίνεται σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, κατά τη διενέργεια ενδοσκοπικού ελέγχου ή δακτυλικής εξέτασης, παρά στους συμπτωματικούς, γιατί στην πρώτη περίπτωση, υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα η νόσος να είναι πρωιμότερου σταδίου.

δ) Διάρκεια συμπτωμάτων – Σε πολλές μελέτες εξετάζεται η σχέση διάρκειας των συμπτωμάτων, με την πρόγνωση των ασθενών. Σύμφωνα με μία πρόσφατη, φαίνεται ότι η μεγάλη διάρκεια των συμπτωμάτων, σχετίζεται με λιγότερο προχωρημένη νόσο και καλύτερη επιβίωση, για τον καρκίνο του κόλου, αλλά όχι και του ορθού. (53)

ε) Απόφραξη και Διάτρηση - Η απόφραξη και η διάτρηση φαίνεται να συσχετίζονται με πιο προχωρημένη νόσο και μειωμένους δείκτες επιβίωσης. (54)

στ) Αιμορραγία από το ορθό - Η αιμορραγία από το ορθό συσχετίστηκε με καλύτερη πρόγνωση πιθανώς λόγω της γρηγορότερης διάγνωσης και έναρξης της θεραπείας. (55)

2. Καρκινικοί δείκτες

α) Καρκινοεμβρυικό αντιγόνο - Το καρκινοεμβρυικό αντιγόνο (CEA), μια γλυκοπρωτεΐνη της κυτταρικής επιφάνειας. Η παρακολούθηση της τιμής του στο πλάσμα, αν και έχει μειωμένη ευαισθησία ως διαγνωστικός δείκτης, του καρκίνου του παχέος εντέρου, καθώς αυξάνεται και σε άλλες κακοήθειες, αλλά και καλοήθειες καταστάσεις, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης πρόγνωσης και ανταπόκρισης στη χειρουργική και χημειοθεραπευτική του αντιμετώπιση. Τιμές >5ng/ml, μετά από χειρουργική αφαίρεση, θεωρούνται αυξημένες και μπορεί να υποδηλώνουν υπολειμματική νόσο ή υποτροπή. Εκτός από τις μετεγχειρητικές του τιμές και οι προεγχειρητικές του τιμές μπορούν, επίσης, να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης πρόγνωσης και ανταπόκρισης στη θεραπεία. (56),(57),(58),(59),(60)

β) CA 19-9 – Οι τιμές του αντιγόνου CA 19-9 στο πλάσμα, βρίσκονται αυξημένες σε αρκετές κακοήθειες, ανάμεσα στις οποίες και ο καρκίνος του παχέος εντέρου. Αν και δεν προτείνεται η χρήση του ως διαγνωστικού δείκτη, στον καρκίνο του παχέος εντέρου, η παρακολούθηση των τιμών του, σε συνδυασμό και με άλλους δείκτες, μπορεί να δώσει περαιτέρω πληροφορίες για την πρόγνωση των ασθενών και την ανταπόκριση στη θεραπεία και την ύπαρξη υποτροπής.(61),(62)

3. Μοριακοί δείκτες

Η πρόοδος των νέων τεχνολογικών μοριακής διάγνωσης, ανάδειξε ένα πλήθος μοριακών δεικτών, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες πρόγνωσης, υποτροπής, ανταπόκρισης στη θεραπεία, αλλά και στην επιλογή ασθενών που θα ωφεληθούν περισσότερο από την παρηγορητική θεραπεία.

α) Πλοειδικότητα DNA στον καρκίνο του παχέος εντέρου - Η πλοειδικότητα του DNA ως προγνωστικός δείκτης για τον καρκίνο του παχέος εντέρου, έχει αποτελέσει το αντικείμενο πολλών μελετών. Φαίνεται ότι ο DNA δείκτης σχετίζεται με την πρόγνωση και ότι οι ασθενείς με ανευπλοειδικούς όγκους παρουσιάζουν μικρότερη 5-ετή επιβίωση. (63)

β) KRAS - Η προγνωστική σημασία των KRAS μεταλλάξεων στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι αντιφατική. Σύμφωνα με νεότερη μελέτη, οι μεταλλάξεις των

KRAS δε θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως μοριακοί δείκτες απάντησης στη συμβατική χημειοθεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου. (64) Φαίνεται, πάντως, ότι οι μεταλλάξεις στα KRAS προσδίδουν ανθεκτικότητα σε θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα που στοχεύουν τον EGFR. (65)

γ) TP53 - Το TP53 είναι το πιο συχνό γονίδιο που μεταλλάσσεται στον καρκίνο. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι οι διαφορετικές μεταλλάξεις της p53 σχετίζονται με διαφορετική κλινική έκφραση του όγκου, συμπεριλαμβανομένων της πρόγνωσης και της ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία. (66), (67) Συγκεκριμένα, μεταλλάξεις του γονιδίου p53, στο κωδικόνιο 72, σχετίζονται με καλή απάντηση σε μετεγχειρητική χημειοθεραπεία με 5-FU, σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, σταδίου C κατά Dukes. (68) Για μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου, οι μεταλλάξεις του p53 θεωρούνται ότι μπορεί να είναι προγνωστικής αξίας στη θεραπευτική απάντηση στο cetuximab, ιδίως σε ασθενείς στους οποίους δε συνυπάρχουν μεταλλάξεις στα KRAS. (69) Επίσης, οι μεταλλάξεις του p53, φαίνεται να αποτελούν κακό προγνωστικό δείκτη σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική εξαίρεση των ηπατικών μεταστατικών εστιών. (70)

δ) 18q απώλεια – Η απώλεια της ετεροζυγωτίας του χρωμοσώματος 18q είναι συχνή στον καρκίνο του παχέος και έχει προταθεί ως προγνωστικός δείκτης. (71) Νεότερες μελέτες δείχνουν ότι σε όγκους, που δεν παρουσιάζουν μικροδορυφορική αστάθεια, η απώλεια 18q δε σχετίζεται με την επιβίωση των ασθενών. (72) Οι όγκοι αυτοί, (MSS) συνδέονται θετικά με την απουσία του φαινότυπου υπερμεθυλίωσης της νησίδας CpG (CIMP-0) και αρνητικά με το φαινότυπο για υψηλή και χαμηλή μεθυλίωση της νησίδας CpG (CIMP-high, CIMP-low) (73)

ε) Μικροδορυφορική αστάθεια – Η μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) σχετίζεται με βλάβη του συστήματος επιδιόρθωσης λαθών του DNA MMR και εμπλέκεται στην παθογένεση του 15% των σποραδικών όγκων του παχέος εντέρου. Φαίνεται ότι ασθενείς με μικροδορυφορική αστάθεια έχουν καλύτερη πρόγνωση απ'ότι οι ασθενείς, των οποίων οι όγκοι δεν παρουσιάζουν μικροδορυφορική αστάθεια. (74) Νέες μελέτες προτείνουν να γίνεται έλεγχος για ύπαρξη MSI, σε άτομα κάτω των 60 ετών, με καρκίνο του δεξιού κόλου(75)

ζ) Θυμιδική συνθετάση, φωσφορυλάση της θυμιδίνης, και δεϋδρογονάση της διϋδροπυριμιδίνης - Η θυμιδική συνθετάση (TS), η φωσφορυλάση της θυμιδίνης (TP), και η δεϋδρογονάση της διϋδροπυριμιδίνης (DPD) είναι ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό της πυριμιδίνης. Υπάρχουν αποτελέσματα μελετών που παρέχουν ενδείξεις ότι τα χαμηλά επίπεδα έκφρασης TS, TP και DPD, σε αντίθεση με τα υψηλά επίπεδα, σχετίζονται με καλή απάντηση σε χημειοθεραπεία με 5-FU.(76)

4. Παράγοντες που σχετίζονται με τον όγκο

α) Εντόπιση του πρωτοπαθούς όγκου – Σύμφωνα με μελέτες, η εντόπιση του όγκου μπορεί να σχετίζεται με την πρόγνωση και ορισμένες υποστηρίζουν ότι είναι χειρότερη για τους όγκους του δεξιού κόλου και καλύτερη σε για όγκους του σιγμοειδούς. Αυτό, ενδεχομένως, συσχετίζεται με τα διαφορετικά κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του όγκου, ανάλογα με την εντόπιση.(77),(78)

β) Το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου – Το μέγεθος το όγκου δεν έχει συσχετιστεί με την πρόγνωση, εκτός από κάποιες μελέτες, που αναφέρουν μεγαλύτερη επιβίωση σε μικρότερους όγκους. (79),(80)

γ) Μορφολογία του πρωτοπαθούς όγκου - Η μακροσκοπική μορφολογία του όγκου έχει συσχετιστεί με την πιθανότητα διήθησης του εντερικού τοιχώματος, το στάδιο της νόσου και την πρόγνωση. (81) Οι πολυποειδείς όγκοι ανευρίσκονται συνήθως σε χαμηλότερο στάδιο και παρουσιάζουν καλύτερη πρόγνωση.(82), (83)

5. Μετάγγιση αίματος

Η συσχέτιση των μεταγγίσεων αίματος με την αύξηση του ποσοστού υποτροπής του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι ασαφής, και αντικρουόμενα δεδομένα έχουν αναφερθεί. Κάποιες μελέτες, αναφέρουν αρνητική σχέση, μεταξύ μεταγγίσεων αίματος και πρόγνωσης ενώ άλλες, δε βρίσκουν συσχέτιση.(84), (85)

E. ΠΛΟΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ DNA

Η μέτρηση της πλοειδικότητας των κυττάρων σε DNA χρησιμοποιήθηκε αρχικά μόνο για έρευνα. Για να ολοκληρωθεί όμως, η εξέταση ενός δείγματος χρειαζόταν προσπάθεια πολλών ωρών ή ημερών. Η βελτίωση των τεχνολογικών μέσων συνετέλεσε, ώστε η κυτταρομετρία ροής να είναι σήμερα μια ταχεία μέθοδος μετρήσεως του DNA. Η εξέταση στηρίζεται στις διαφορές που υπάρχουν στο ποσό του πυρηνικού DNA, μεταξύ φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυττάρων. Τα φυσιολογικά κύτταρα του ανθρώπου περιέχουν σταθερό ποσό πυρηνικού DNA (7pg), όπως και σταθερό διπλοειδικό αριθμό χρωμοσωμάτων (23 ζεύγη), που ορίζεται ως 2c. Μερικά φυσιολογικά κύτταρα δεν είναι διπλοειδικά, όπως τα γεννητικά κύτταρα (απλοειδικά) και τα μεγακαρυκύτταρα (πολυπλοειδικά). Είναι δυνατόν με την επίδραση της ιονίζουσας ακτινοβολίας ή των κυτταροστατικών τα φυσιολογικά κύτταρα να παρουσιάσουν ανευπλοειδία.

Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά κύτταρα, τα κακοήθη νεοπλασματικά χαρακτηρίζονται από γενετική μεταβλητότητα και εμφάνιση χρωμοσωμικών ανωμαλιών, με αποτέλεσμα να έχουν συχνά παθολογικά αυξημένο ποσό πυρηνικού DNA. Οι χρωμοσωμικές διαταραχές που παρατηρούνται στα διάφορα νεοπλάσματα, έχουν μελετηθεί κυρίως στο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου αλλά και στο μαστό και το ουροθήλιο. Οι μεταβολές αυτές μπορεί να είναι: α) λανθάνουσα ένωση, που οδηγεί σε αύξηση ή μείωση των χρωμοσωμάτων, β) δομική επαναδιάταξη του γενετικού υλικού, με αποτέλεσμα εξάλειψη ή διπλασιασμό του, γ) ενδοδιπλασιασμός που καταλήγει στο σχηματισμό τετραπλοειδικών, οκταπλοειδικών κυττάρων κ.α. Οι αριθμητικές μεταβολές συνίστανται κυρίως σε αύξηση και λιγότερο σε μείωση του αριθμού των χρωμοσωμάτων. Μερικές φορές έχουν παρατηρηθεί διαφορετικοί συνδυασμοί χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε όγκους του ίδιου τύπου και συχνά και σε διαφορετικούς κλώνους του ίδιου όγκου. Τόσο η κυτταρομετρία ροής όσο και η στατική κυτταρομετρία με ανάλυση εικόνας, δείχνουν μεν τη μεταβολή του ποσού του DNA, δεν μπορούν όμως να δείξουν το είδος της χρωμοσωμικής μεταβολής που την προκάλεσε.

Το πυρηνικό DNA μπορεί να μετρηθεί με κυτταρομετρία ροής ή με στατική κυτταρομετρία με ανάλυση εικόνας. Το αποτέλεσμα της μετρήσεως εκφράζεται συνήθως με το δείκτη DNA (DNA index), ο οποίος είναι η σχέση του σχετικού ποσού του DNA που έχουν τα εξεταζόμενα νεοπλασματικά κύτταρα στη φάση G0G1, προς το σχετικό ποσό DNA που έχουν τα φυσιολογικά κύτταρα στην ίδια φάση. Ο δείκτης DNA επομένως δείχνει σε ποιο βαθμό τα νεοπλασματικά κύτταρα απέχουν από τα φυσιολογικά- διπλοειδικά κύτταρα ως προς την περιεκτικότητά τους σε DNA. Η περιεκτικότητα των κυττάρων σε DNA εκφράζεται ως πλοειδικότητα DNA. Πρέπει να διακρίνεται από την πλοειδικότητα των κυττάρων που έχει σχέση με τον αριθμό και τη δομή των χρωμοσωμάτων. Επομένως ο όρος «πλοειδικότητα» στην κυτταρογενετική σημαίνει τη σύνθεση των χρωμοσωμάτων, ενώ στην κυτταρομετρία εκφράζει την περιεκτικότητα σε DNA των κυττάρων του όγκου.

Με βάση την πλοειδικότητα του DNA οι όγκοι διακρίνονται σε διπλοειδικούς και ανευπλοειδικούς. Διπλοειδικοί είναι οι όγκοι με δείκτη DNA ίσο με τη μονάδα. Αυτό σημαίνει ότι τα κύτταρα έχουν ποσό DNA το οποίο αντιστοιχεί σε κανονικό αριθμό χρωμοσωμάτων. Αnevπλοειδικοί είναι οι όγκοι με δείκτη DNA είτε μικρότερο είτε μεγαλύτερο από τη μονάδα, που αντιστοιχεί πάντοτε σε παθολογική σύνθεση χρωμοσωμάτων. Στην πραγματικότητα όλοι οι όγκοι έχουν διαταραχές των χρωμοσωμάτων και η διάκρισή τους σε διπλοειδικούς και ανευπλοειδικούς δεν έχει καμία βιολογική ή κυτταρογενετική βάση. Το γεγονός ότι πολλοί όγκοι εμφανίζονται ως διπλοειδικοί, ακόμα και όταν τα κύτταρά τους έχουν παθολογική σύνθεση χρωμοσωμάτων, εξηγείται από το ότι οι διαταραχές της πλοειδικότητας ανιχνεύονται με την κυτταρομετρία ροής μόνο όταν η μεταβολή του ποσού του DNA ξεπεράσει ένα ορισμένο όριο. Μια τέτοια μεταβολή γίνεται αντιληπτή, όταν ο αριθμός των χρωμοσωμάτων αυξηθεί ή μειωθεί κατά τρία τουλάχιστον χρωμοσώματα (από 46 χρωμοσώματα σε 43 ή 49). Μπορούν να ανιχνευθούν μεταβολές του DNA μέχρι και 10% του ποσού του που αντιστοιχεί σε μικρότερες μεταβολές του αριθμού των χρωμοσωμάτων. Επιπλέον, αν ληφθεί υπόψη ότι υπάρχουν και ποιοτικές διαταραχές των χρωμοσωμάτων οι οποίες είναι δυνατό να μην προκαλούν μεταβολές του ποσού του DNA, τότε ένας δείκτης DNA ίσος με τη μονάδα μπορεί να αντιστοιχεί σε φυσιολογικό, ελαφρά διαταραγμένο ή και πολύ ανώμαλο καρυότυπο. Αντίθετα, ένας δείκτης που δείχνει υποδιπλοειδικό ή τριπλοειδικό DNA αντιστοιχεί σε πολύ ανώμαλο καρυότυπο.

Μία άλλη διάκριση των όγκων είναι σε διπλοειδικούς και μη διπλοειδικούς. Διπλοειδικοί είναι αυτοί των οποίων τα κύτταρα έχουν κανονικό ποσό DNA, ενώ όλοι οι άλλοι χαρακτηρίζονται ως μη διπλοειδικοί. Με τη διάκριση αυτή, στους μη διπλοειδικούς όγκους ανήκουν οι τετραπλοειδικοί, οι οκταπλοειδικοί κ.ο.κ., αλλά και οι ανευπλοειδικοί όγκοι. Πολλές φορές οι ανευπλοειδικοί όγκοι χαρακτηρίζονται ως υποδιπλοειδικοί, περιδιπλοειδικοί, τετραπλοειδικοί, περιτετραπλοειδικοί, πενταπλοειδικοί κ.ο.κ., αν και μερικοί συγγραφείς τους υποδιπλοειδικούς και τους περιδιπλοειδικούς όγκους τους χαρακτηρίζουν ως διπλοειδικούς. Μια τέτοια υποδιαίρεση των όγκων δε φαίνεται να έχει πρακτική σημασία όπως για παράδειγμα στους όγκους του ουρογεννητικού συστήματος.

Ορισμένοι συγγραφείς διακρίνουν τους όγκους σε ευπλοειδικούς και ανευπλοειδικούς. Ευπλοειδικοί είναι οι όγκοι στους οποίους τα κύτταρα του κύριου κυτταρικού πληθυσμού έχουν είτε κανονικό ποσό DNA που αντιστοιχεί σε κανονικό αριθμό χρωμοσωμάτων (διπλοειδικοί), είτε ποσό DNA που είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του φυσιολογικού αριθμού των χρωμοσωμάτων. Οι όγκοι αυτοί μπορεί να είναι τετραπλοειδικοί (4n), οκταπλοειδικοί (8n) κ.ο.κ. Αντίθετα ανευπλοειδικοί είναι οι όγκοι στους οποίους τα κύτταρα του κύριου πληθυσμού έχουν ποσό DNA έξω από τα ακέραια πολλαπλάσια του κανονικού ποσού. Μέχρι σήμερα δεν είναι απολύτως γνωστός ο μηχανισμός με τον οποίο προκαλείται η ανευπλοειδία. Κατά μία άποψη συμβαίνει σε ένα από τα πολλά στάδια της καρκινογένεσης κατά την οποία τα κύτταρα υφίστανται διαδοχικές μεταβολές. Το γεγονός αυτό τα καθιστά ικανά να αντέχουν στις μεταβολές του μικροπεριβάλλοντός τους και να διαφεύγουν από τους μηχανισμούς ελέγχου της κυτταρικής ανάπτυξης. Με την έννοια αυτή η ανευπλοειδία αποτελεί πλεονέκτημα για τα καρκινικά κύτταρα.

Ένας άλλος όρος με διαφορετικές έννοιες είναι η πολυπλοειδία. Όταν αναφέρεται στα κύτταρα, χαρακτηρίζει εκείνα που έχουν αριθμό χρωμοσωμάτων ακέραιο πολλαπλάσιο του κανονικού. Επομένως και η περιεκτικότητα των κυττάρων σε DNA είναι ακέραιο πολλαπλάσιο αυτής που έχουν τα διπλοειδικά κύτταρα. Σε ορισμένα νεοπλασματικά κύτταρα παρατηρείται διπλασιασμός των χρωμοσωμάτων. Ο πιο πιθανός μηχανισμός είναι η διαταραχή της μιτώσεως ή η σύντηξη δύο κυττάρων, οπότε μπορεί να γίνουν τετραπλοειδικά, οκταπλοειδικά κ.ο.κ. Οι δύο αυτές διαταραχές έχουν περιγραφεί ως αποτέλεσμα επιδράσεως καρκινογόνων ουσιών και

ιών. Η πολυπλοειδία όταν αναφέρεται στο νεόπλασμα υποδηλώνει την ύπαρξη περισσότερων του ενός μη διπλοειδικών κυτταρικών πληθυσμών, κυττάρων δηλαδή που έχουν δείκτη DNA διαφορετικό της μονάδας. Στην περίπτωση αυτή η πολυπλοειδία είναι αποτέλεσμα της ετερογένειας του όγκου, γεγονός που δεν είναι σπάνιο στα κακοήγη νεοπλάσματα.

Η πολυπλοειδία απαντάται ευρέως στο φυτικό και το ζωικό βασίλειο ως φυσιολογικό φαινόμενο το οποίο θεωρείται ότι αποτελεί και βιολογικό προνόμιο. Στον άνθρωπο παρατηρείται σε ορισμένα φυσιολογικά κύτταρα, όπως είναι η τροφοβλάστη, τα μεγακαρυοκύτταρα, τα κύτταρα του ήπατος, του θυρεοειδούς, των σπερματοδόχων κύστεων και του ουροθηλίου. Παρατηρείται επίσης και στον καρδιακό μυ όταν υπάρχει υπερτροφία των κοιλιών. Η φυσιολογική πολυπλοειδία υποδηλώνει την ύπαρξη ενός ενδογενούς μηχανισμού του κυττάρου που ρυθμίζει την περιεκτικότητα του σε DNA. Ο μηχανισμός αυτός μπορεί να καταργείται μετά από βλάβη του DNA, η οποία προκαλείται από χημικά καρκινογόνα και ιούς και ενδεχομένως να αποτελεί έναν επιπλέον τρόπο σχηματισμού τετραπλοειδικών κυττάρων κατά την εξέλιξη της καρκινογένεσης. Έχει επίσης διατυπωθεί η άποψη ότι στα νεοπλασματικά κύτταρα αρχικά διπλασιάζεται το DNA, ώστε να γίνει τετραπλοειδικό και στη συνέχεια γίνεται ανευπλοειδικό, μετά από προσθήκη ή απώλεια χρωμοσωμάτων. Ο σχηματισμός ανευπλοειδικών κυττάρων από τετραπλοειδικά με το μηχανισμό της απώλειας χρωμοσωμάτων έχει δειχθεί σε μελέτες με πειραματόζωα.

Η μέτρηση του DNA με την κυτταρομετρία ροής δίνει ταυτόχρονα και τα ποσοστά των κυττάρων που βρίσκονται στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Από τη φάση ηρεμίας όπου βρίσκεται το μεγαλύτερο ποσοστό των κυττάρων, ένα μικρό κλάσμα αρχίζει να μπαίνει στη διαδικασία της αναπαραγωγής σε κάποια δεδομένη στιγμή. Το πρώτο βήμα της διαδικασίας αυτής είναι η προγραμματισμένη σύνθεση του DNA που αποσκοπεί στο διπλασιασμό του γενετικού υλικού πριν τη διαίρεση. Το ποσό αυτό συνεχώς αυξάνεται κατά τη διάρκεια της συνθέσεως και ποικίλλει από την αρχική τιμή που χαρακτηρίζει τα κύτταρα ηρεμίας, μέχρι το διπλάσιο ποσό κατά τη συμπλήρωση της διαδικασίας στη φάση G2. Επομένως τα κύτταρα που μπαίνουν στη φάση S περιέχουν μεγαλύτερο ποσό DNA σε σχέση με τα κύτταρα ηρεμίας, ποσό το οποίο εξαρτάται από το χρόνο που έχει περάσει από την αρχή της συνθέσεως.

Η ανάλυση του κυτταρικού κύκλου μπορεί να γίνει με δύο τρόπους: α) στατιστικά, με τη μέτρηση των εκατοστιαίων ποσοστών των κυττάρων που βρίσκονται στις διάφορες φάσεις του κύκλου (G0/G1,S και G2/M) και β) λειτουργικά, με τη μέτρηση του ποσοστού των κυττάρων που μπορούν να ενσωματώσουν πρόδρομες ουσίες του DNA. Τα διάφορα κυτταρόμετρα ροής έχουν διαφορετικές μαθηματικές μεθόδους για τον υπολογισμό των ποσοστών αυτών. Από τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου ιδιαίτερη σημασία έχει η φάση της συνθέσεως (φάση S), η οποία θεωρείται ότι αντανακλά την πολλαπλασιαστική δραστηριότητα του όγκου. Σε μερικά νεοπλάσματα η δραστηριότητα αυτή είναι ανάλογη του βαθμού κακοήθειας των κυττάρων. Για τον υπολογισμό της φάσεως S έχει χρησιμοποιηθεί η BrDU (bromodeoxyuridine) και το PCNA (πυρηνικό αντιγόνο πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων).

Η εξέταση της πλοειδικότητας του DNA και η ανάλυση του κυτταρικού κύκλου μπορούν να γίνουν σε δείγματα από: α) νωπούς ιστούς, β) ιστούς που έχουν διατηρηθεί στους -70°C , γ) μπλοκ παραφίνης, δ) υλικό παρακέντησης με λεπτή βελόνα και ε) διάφορα υγρά του σώματος. Τα τελευταία χρόνια έχει καθιερωθεί η αναρρόφηση με λεπτή βελόνη για τη λήψη υλικού από συμπαγείς όγκους, καθώς τα δείγματα περιέχουν άφθονα μεμονωμένα κύτταρα και η μέτρηση του DNA είναι αξιόπιστη στο 95% των δειγμάτων. Σημαντική βοήθεια στην εξέλιξη της κυτταρομετρίας ροής έχει προσφέρει η δυνατότητα μέτρησης του DNA σε τομές παραφίνης που φυλάσσονται στα αρχεία των παθολογοανατομικών εργαστηρίων. Η χρησιμοποίησή τους συντέλεσε στην καθιέρωση της κυτταρομετρίας στην εξέταση όγκων που είναι σπάνιοι, και στους οποίους η μελέτη της αξίας της εξετάσεως θα απαιτούσε πολλά χρόνια. Με τη δυνατότητα της αναδρομικής μελέτης που παρέχουν τα μπλοκ παραφίνης, δόθηκε η ευκαιρία σύγκρισης των αποτελεσμάτων της εξετάσεως με την εξέλιξη μεγάλου αριθμού αρρώστων μέσα σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την εξέταση με την κυτταρομετρία ροής είναι η παρασκευή ενός εναιωρήματος από τον εξεταζόμενο ιστό που να περιέχει μόνο μεμονωμένα κύτταρα. Η παρουσία στο δείγμα διπλών κυττάρων ή κυτταρικών αθροισμάτων είναι η κυριότερη πηγή λάθους στις μετρήσεις του DNA ενώ συχνά καταλήγει σε απόφραξη του οργάνου. Η δυσκολία στη λήψη μεμονωμένων κυττάρων

ποικίλλει ανάλογα με το είδος του ιστού. Το αίμα και το σπέρμα έχουν από μόνα τους μεμονωμένα κύτταρα. Ιδανικοί για ανάλυση είναι οι συμπαγείς εκείνοι όγκοι των οποίων τα κύτταρα δεν παρουσιάζουν μεγάλη συνεκτικότητα κι επομένως δεν είναι δύσκολος ο αποχωρισμός τους. Τέτοιοι όγκοι για παράδειγμα είναι τα λεμφώματα και γενικά όγκοι με μικρή ανάπτυξη συνδετικού ιστού, από τους οποίους μπορούν να ληφθούν δείγματα με αναρρόφηση με λεπτή βελόνα. Αντίθετα, στα δείγματα που λαμβάνονται με βιοψία ή με εξαίρεση του όγκου, η λήψη μεμονωμένων κυττάρων είναι δύσκολη λόγω των στέρεων μεσοκυττάρων συνδέσεων. Πριν από την εξέταση είναι απαραίτητος ο έλεγχος της περιεκτικότητας του δείγματος σε κύτταρα. Η ακρίβεια των μετρήσεων μειώνεται όταν εξετάζονται μικροί κυτταρικοί πληθυσμοί, ενώ η ίδια η εξέταση καθυστερεί σε μεγάλο βαθμό. Ο ελάχιστος αριθμός κυττάρων που απαιτείται για να είναι η εξέταση αξιόπιστη είναι 20000, αν και έχει διαπιστωθεί ότι το ιστόγραμμα είναι διαγνωστικό και με 10000 κύτταρα.

Ιδιαίτερη σημασία για την κυτταρομετρία ροής έχει η χρώση των κυττάρων η οποία γίνεται με τις φθορίζουσες χρωστικές. Από τις πρώτες χρωστικές που χρησιμοποιήθηκαν για τη χρώση του DNA ήταν το πορτοκαλόχρουν της ακριδίνης. Σήμερα χρησιμοποιείται συχνότερα το ιωδιούχο προπίδιο και λιγότερο συχνά το βρωμιούχο αιθίδιο, η μιθραμυκίνη, το DAPI, το Hoechst 33342 και το Hoechst 33258. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του DNA η χρώση πρέπει να είναι στοιχειομετρική, το ποσό δηλαδή της χρωστικής που δεσμεύεται πρέπει να είναι ανάλογο του ποσού του περιεχόμενου DNA. Οι φθορίζουσες χρωστικές έχουν την ιδιότητα να απορροφούν το προσπίπτον φως και να το επανεκπέμπουν υπό μορφή φθορισμού. Η έντασή του είναι ανάλογη του ποσού της χρωστικής που έχει δεσμευτεί από το DNA ή από οποιοδήποτε άλλο συστατικό του κυττάρου που πρόκειται να μετρηθεί. Η ένταση του φθορισμού που εκπέμπεται από κάθε μεμονωμένο κύτταρο είναι πολύ μικρή και για να μετρηθεί πρέπει προηγουμένως να ενισχυθεί από ειδικούς φωτοενισχυτές. Επομένως το αποτέλεσμα της μέτρησης που αντιστοιχεί στο ποσό του DNA, εκφράζεται με σχετικές και όχι απόλυτες τιμές, και για τη σύγκρισή τους απαιτείται η χρησιμοποίηση ενός εσωτερικού ή εξωτερικού προτύπου (standard).

Η χρώση του DNA μπορεί να γίνει σε κύτταρα με αυξημένη διαπερατότητα μεμβράνης ή σε γυμνούς πυρήνες που έχουν το πλεονέκτημα της αποφυγής των τετραπλοειδικών κορυφών που σχηματίζονται από διπύρηνα κύτταρα. Μερικές

μετρήσεις, όπως της φάσεως S με BrDU, του ενδοκυττάρου pH, του ασβεστίου και μαγνησίου, γίνονται σε κύτταρα που διατηρούν τις έμβιες ιδιότητές τους. Τα κύτταρα αυτά επιτρέπουν τόσο την ανίχνευση των αντιγόνων επιφανείας, όσο και την είσοδο αντισωμάτων μέσα στο κύτταρο λόγω αυξημένης διαπερατότητας της μεμβράνης.

Εκτός από τις ουσίες που προορίζονται για τη χρώση του DNA, στην κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιούνται φθορίζουσες χρωστικές για τη μέτρηση και άλλων παραμέτρων. Οι φθορίζουσες χρωστικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε μόνες τους είτε συνδεδεμένες με αντισώματα, λεκτίνες και άλλες ουσίες, που στη διεθνή ορολογία αναφέρονται ως probes (ιχνηθέτες). Οι ουσίες- probes εξασφαλίζουν την εξειδίκευση της χρώσεως αναγνωρίζοντας συγκεκριμένους στόχους ή δομικά στοιχεία του κυττάρου. Σε ορισμένες περιπτώσεις όπως στη χρώση του DNA, η εξειδίκευση της αντιδράσεως εξασφαλίζεται από την ίδια τη χρωστική. Θεωρητικά κάθε συστατικό του κυττάρου μπορεί να μελετηθεί ποσοτικά αν υπάρχει διαθέσιμη φθορίζουσα χρωστική για τη χρώση του, στην πράξη όμως υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί. (86-93)

ΣΤ. ΠΡΟΓΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Τα προγονικά κύτταρα αποτελούν μια δυνητικά ανεξάντλητη πηγή για την αντικατάσταση κυττάρων και ιστών, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για την θεραπεία νοσημάτων κάθε τύπου (94). Έχει προταθεί ότι τα στάδια έναρξης και εξέλιξης των νεοπλασιών συμβαίνουν στα προγονικά κύτταρα και όχι στα σωματικά. Τα προγονικά κύτταρα είναι οι στόχοι ενός πρώτου συμβάντος μετάλλαξης (95,96). Οι μεταλλάξεις που συμβαίνουν στα σωματικά κύτταρα δεν οδηγούν σε καρκίνο επειδή τα ώριμα κύτταρα έχουν μικρότερο χρόνο ημίσειας ζωής και φυσιολογικά πεθαίνουν πριν συμβεί ένα δεύτερο συμβάν μετάλλαξης (97). Εφόσον απαιτούνται πολλοί μήνες ή χρόνια για να συμβεί η προώθηση της καρκινογένεσης, η έναρξη της κακοήθειας θα πρέπει να λάβει χώρα σε προγονικά κύτταρα, καθώς είναι τα μόνα κύτταρα που μπορεί να επιζήσουν για παρατεταμένο χρόνο (98). Επιπλέον υποστηρίζεται ότι ο τύπος του προγονικού κυττάρου από το οποίο προέρχεται ένα νεόπλασμα επηρεάζει τόσο το μεταστατικό δυναμικό όσο και το φαινότυπο αυτού

του νεοπλάσματος, ο οποίος καθορίζεται από την ετερογένεια, την αθανασία, την ανοσογένεια και την φαρμακευτική ανθεκτικότητα του (99).

Τα προγονικά και τα κακοήθη κύτταρα μοιράζονται πολλά κοινά χαρακτηριστικά. Μεταναστεύουν ή δίνουν μετάσταση σε ποικίλους ιστούς. Η ικανότητά τους για αυτο-ανανέωση τα καθιστά σημαντικά αθάνατα (100). Έχει προταθεί ότι οι όγκοι που προέρχονται από ένα πρώιμο προγονικό κύτταρο έχουν αυξημένο μεταστατικό δυναμικό (101). Σύμφωνα με την άποψη αυτή, η διακοπή ωρίμανσης ενός πρώιμου προγονικού κυττάρου θα παρήγαγε έναν όγκο που θα έδινε συχνά μεταστάσεις και σε ποικίλα όργανα (π.χ. μικροκυτταρικό καρκίνωμα), ενώ η διακοπή ωρίμανσης ενός οψιμότερου προγονικού κυττάρου θα παρήγαγε έναν όγκο που σπάνια θα έδινε μεταστάσεις (π.χ. βασικοκυτταρικό καρκίνωμα δέρματος). Οι όγκοι που δεν προέρχονται από τα προγονικά κύτταρα δεν δίνουν μεταστάσεις (101,102).

Πρόσφατα σύμφωνα με την θεωρία 'homing' η μετάσταση των κακοήθων κυττάρων ή η μετανάστευση των προγονικών κυττάρων ρυθμίζεται από συγκεκριμένες χημειοκίνες και τους υποδοχείς τους. Συνεπώς το προφίλ χημειοκίνης-υποδοχέα ενός συγκεκριμένου όγκου προδίδει την καταγωγή του προγονικού κυττάρου και προβλέπει το μεταστατικό δυναμικό του (100). Έτσι όγκοι που προέρχονται από πρώιμα προγονικά κύτταρα έχουν ένα πιο ευέλικτο προφίλ χημειοκίνης-υποδοχέα και αυξημένο μεταστατικό δυναμικό, ενώ όγκοι που προέρχονται από όψιμα προγονικά κύτταρα έχουν ένα πιο περιορισμένο προφίλ και οριοθετημένη μεταστατική ικανότητα (103).

Υποστηρίζεται επιπλέον ότι οι όγκοι που προέρχονται από ένα πρώιμο προγονικό κύτταρο έχουν μεγαλύτερη ικανότητα να αναπτύξουν ένα πιο ετερογενές φαινότυπο από ότι όγκοι που προέρχονται από όψιμα κύτταρα (104). Συνεπώς η διακοπή ωρίμανσης ενός πρώιμου προγονικού κυττάρου μπορεί να δημιουργήσει όγκους που περιέχουν κυτταρικούς τύπους και από τις τρεις εμβρυικές στοιβάδες (εμβρυικοί όγκοι) (105). Ένα ενδιάμεσης ωρίμανσης προγονικό κύτταρο μπορεί να σχηματίσει όγκους που περιέχουν κύτταρα ενδοκρινούς ή εξωκρινούς τύπου (π.χ. όγκοι του αναπνευστικού και γαστρεντερικού) και προγονικά κύτταρα που είναι κοντά στην ωρίμανσή τους μπορεί να σχηματίσουν όγκους ενός μοναδικού κυτταρικού τύπου (π.χ. βασικοκυτταρικό καρκίνωμα δέρματος) (106). Η υπόθεση της προγονικής

προέλευσης εξακολουθεί να αποδέχεται την συμβολή της γενετικής αστάθειας και των επιγενετικών παραγόντων στην ετερογένεια μιας κακοήθειας (107).

Συμπερασματικά όγκοι που προέρχονται από ένα πρώιμο προγονικό κύτταρο δίνουν ευκολότερα μεταστάσεις και εμφανίζουν ένα περισσότερο ετερογενές φαινότυπο, ενώ όγκοι που προέρχονται από ένα οψιμότερο προγονικό κύτταρο έχουν ένα πιο περιορισμένο μεταστατικό δυναμικό και ένα πιο ομογενές φαινότυπο (107,108).

Αρχικά οι όγκοι προέρχονται από προγονικά κύτταρα μέσω απορρύθμισης της διαδικασίας αυτο-ανανέωσης τους. Η αυτοανανέωση περιλαμβάνει την ικανότητα των φυσιολογικών προγονικών κυττάρων να διατηρήσουν επακριβώς τον αριθμό τους μέσω ενός συνδυασμού συμμετρικής και ασύμμετρης διαίρεσης των προγονικών κυττάρων (104). Οι υποκείμενοι μηχανισμοί για την γένεση περίσσειας αριθμού προγονικών κυττάρων στην περίπτωση της ανάπτυξης ενός όγκου σχετίζονται με την άυξηση στην συμμετρική διαίρεση των προγονικών κυττάρων συγκριτικά με την ασύμμετρη. Παρότι τα προγονικά κύτταρα διαθέτουν την ικανότητα της αυτο-ανανέωσης, στην πραγματικότητα είναι σχετικά ήρεμα, διότι έχουν μεγαλύτερους χρόνους κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Μια άλλη ιδιότητα των προγονικών κυττάρων είναι η δυνατότητά τους για διαφοροποίησή τους σε πολλαπλούς κυτταρικούς τύπους (105).

Αναφορικά με τις μεταστάσεις υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτές αναπτύσσονται όταν καρκινικά προγονικά κύτταρα διασπείρονται σε απόμακρα όργανα. Τα τρέχοντα χημειοθεραπευτικά σχήματα και η ακτινοβολία κατά ένα μεγάλο μέρος στοχεύουν τα διαφοροποιημένα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται για να σχηματίσουν το μέγεθος του όγκου αλλά όχι τα σχετικά ήρεμα καρκινικά προγονικά κύτταρα, που πολλαπλασιάζονται μόνο σπάνια (109). Επιπλέον τα καρκινικά προγονικά κύτταρα εμφανίζονται ανθεκτικά έναντι των φαρμάκων, γεγονός που εξηγεί και την αποτυχία των τρέχουσων θεραπειών. Αυτό οφείλεται στην παρουσία πολυφαρμακευτικής αντίστασης, αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών και ενισχυμένων μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA (110). Οι περισσότερες τρέχουσες θεραπείες δεν στοχεύουν τις σηματοδοτικές οδούς που ρυθμίζουν την αυτο-ανανέωση, οι οποίες εμφανίζονται είτε μεταλλαγμένες είτε επιγενετικά απορρυθμισμένες (111). Ως εκ τούτου αποτελεσματικές θεραπείες θα πρέπει επιλεκτικά να στοχεύσουν τα καρκινικά και όχι τα φυσιολογικά προγονικά κύτταρα, προκειμένου να στοχεύσουν έναντι της

συμμετρικής διαίρεσης τους. Στην περίπτωση αυτή προκειμένου να εκτιμηθούν αλλαγές στο μέγεθος του πληθυσμού των καρκινικών προγονικών κυττάρων θα πρέπει να υπολογίζεται το φορτίο τους στην κυκλοφορία. Δείκτες για τα καρκινικά προγονικά κύτταρα θα μπορούσαν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης στην θεραπεία με την ταυτοποίηση συγκεκριμένων υποτύπων καρκινικών προγονικών κυττάρων που είναι εκλεκτικά ευαίσθητοι σε συγκεκριμένους βιολογικούς παράγοντες, όπως είναι αντισώματα έναντι συγκεκριμένων στόχων προγονικών κυττάρων (112,113).

Υπάρχουν τουλάχιστον δυο γενικοί τύποι προγονικών κυττάρων, τα εμβρυονικά προγονικά κύτταρα και τα στρωματικά προγονικά κύτταρα. Και οι δυο τύποι χαρακτηρίζονται από (i) αυτο-ανανέωση και αθανασία, (ii) ασύμμετρες διαιρέσεις με μη αναστρέψιμη διαδοχική δημιουργία μιας ιεραρχίας από περισσότερο διαφοροποιημένους απογόνους, που σταθερά αναπαράγουν την κυτταρική ετερογένεια των ιστών και (iii) ομοιοστατικό έλεγχο. Ενώ τα εμβρυονικά προγονικά κύτταρα είναι ικανά να γεννούν τις τρεις εμβρυονικές στοιβάδες και τελικά όλα τα διαφοροποιημένα κύτταρα, τα στρωματικά κύτταρα έχουν ένα πιο περιορισμένο δυναμικό. Τα εμβρυονικά κύτταρα, που εκφράζουν την τελομεράση, είναι αθάνατα, ενώ η εξάντληση της πολλαπλασιαστικής ικανότητας των ενήλικων προγονικών κυττάρων μπορεί να συμβάλλει στην διαδικασία της γήρανσης. Ενώ τα εμβρυονικά κύτταρα αναπαράγονται ραγδαία, ο ρυθμός διαίρεσης των περισσότερων στρωματικών πιστεύεται ότι είναι αργός (114,115). Τα εμβρυονικά κύτταρα αναπαράγουν προοδευτικά πολυδύναμα κύτταρα, ενώ τα στρωματικά κύτταρα όλο και λιγότερα πολυδύναμα και τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι τα στρωματικά κύτταρα είναι ανθεκτικά στην απόπτωση, την ακτινοβολία και την χημειοθεραπεία (113,114).

Ο πληθυσμός των καρκινικών προγονικών κυττάρων εκφράζει μια διακριτή ποικιλία από επιφανειακούς δείκτες και χαρακτηρίζεται από μια εκλεκτική προικισμένη ικανότητα ογκογένεσης σε αντίθεση με τους άλλους υποτύπους. Επιπλέον διατηρεί την ανάπτυξη της ετερογένειας που χαρακτηρίζει τον καρκινικό ιστό, αναδημιουργώντας το πλήρες σύνολο των καρκινικών πληθυσμών που παρατηρούνται στον γονεϊκό όγκο. Η εκλεκτική ικανότητα ογκογένεσης υπονοεί ότι οι καρκίνοι περιέχουν τουλάχιστον δύο κυτταρικούς πληθυσμούς, έναν που αποτελείται από τα καρκινικά προγονικά κύτταρα, τα οποία αυτοανανεώνονται και

είναι αθάνατα και έναν προερχόμενο από αυτά πληθυσμό, που έχει περιορισμένο χρόνο ζωής και ως εκ τούτου θα πρέπει να θεωρηθεί ως ένα αβλαβές παραπροϊόν τους (23,24). Οι μηχανισμοί και οι διαδικασίες που εμπλέκονται στην δημιουργία του προερχόμενου πληθυσμού δεν είναι γνωστοί παρότι εικάζεται ότι είναι παρόμοιοι με αυτούς των στρωματικών προγονικών κυττάρων, κάτι που περιλαμβάνει μια ασύμμετρη διαίρεση δημιουργώντας ένα θυγατρικό προγονικό κύτταρο και ένα πιο διαφοροποιημένο προερχόμενο κύτταρο. Εντούτοις δεν υπάρχει καμία ένδειξη για ασύμμετρες διαιρέσεις των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον υποστηρίζεται ότι τα καρκινικά προγονικά κύτταρα μάλλον διαθέτουν τα χαρακτηριστικά των εμβρυονικών προγονικών κυττάρων, τα οποία χαρακτηρίζονται από έναν ραγδαίο πολλαπλαστικό ρυθμό, παρά εκείνα των στρωματικών που διαιρούνται σπάνια (116,117,118).

Ένα προτεινόμενο λειτουργικό χαρακτηριστικό των καρκινικών προγονικών κυττάρων είναι η ικανότητα τους να αναπτύσσονται σε ογκοσφαίρες. Σε μερικές περιπτώσεις, αυτές οι σφαίρες όταν επωάζονται στην απουσία ορού παρουσιάζουν μια μαζική απόπτωση μερικών κυττάρων των προερχόμενων πληθυσμών, ενώ τα υπόλοιπα καρκινικά προγονικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται. Συνεπώς η σφαιροκαλλιέργεια είναι μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιείται για να εμπλουτισθούν πληθυσμοί καρκινικών κυττάρων με καρκινικά προγονικά κύτταρα. Εντούτοις, τα σφαιροκύτταρα είναι ετερογενή και μόνο ένα κλάσμα τους έχει τις ιδιότητες των καρκινικών προγονικών κυττάρων (119). Μια σημαντική ιδιότητα των καρκινικών προγονικών κυττάρων είναι η αντίσταση τους στην χημειοθεραπεία και ακτινοβολία, γεγονός που μπορεί να απορρέει από υπερέκφραση των ABC μεταφορέων, αυξημένη ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA, αντίσταση στην απόπτωση ή ελαττωμένη ανοσογενετικότητα κ.τ.λ.(120,121,122)

Η εξελικτική θεωρία του Δαρβίνου θα μπορούσε να εφαρμοσθεί και στην περίπτωση του καρκίνου. Σε κάθε στάδιο που συμβαίνει και μια νέα μετάλλαξη το κύτταρο που έχει αποκτήσει ένα νέο πλεονέκτημα υπερτερεί των υπολοίπων. Τα ενδιάμεσα κύτταρα με λιγότερες μεταλλάξεις διαθέτουν ένα ασθενέστερο πλεονέκτημα και το γεγονός ότι αυτά έχουν εξαφανιστεί μπορεί εν μέρει να αντανακλά την επίδραση των δηλητηριωδών γενετικών ή επιγενετικών γεγονότων αλλά το πιο πιθανό υπονοεί εξάλειψη λόγω ανταγωνισμού. Τα λιγότερο ανταγωνιστικά κύτταρα θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύουν τα προερχόμενα κύτταρα. Συνεπώς οι όγκοι απαρτίζονται από μια

πλειοψηφία λιγότερο ανταγωνιστικών και μια μειοψηφία περισσότερο ανταγωνιστικών κυττάρων. Τα τελευταία θα συμπεριφερθούν όπως αναμένεται για τα καρκινικά προγονικά κύτταρα και θα αποτελέσουν έναν ετερογενή πληθυσμό, ποσοτικά και λιγότερο ποιοτικά διαφορετικό από τους προερχόμενους πληθυσμούς (123,124,125).

Z. ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι η ιδανική νόσος για την μελέτη της μοριακής γενετικής στον καρκίνο. Κληρονομικά σύνδρομα του παχέος εντέρου, όπως η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση και ο κληρονομικός μη-πολυποδιασικός καρκίνος του παχέος εντέρου παρέχουν εύφορο έδαφος για βασική έρευνα, τα οποία βοήθησαν να διασαφηνιστεί το γενετικό μονοπάτι αυτής της νόσου.

Η καρκινογένεση στο παχύ έντερο αποτελεί μία πολυσταδιακή διαδικασία, όχι αναγκαστικά γραμμική, αφού μπορεί να ακολουθήσει πολλά εναλλακτικά γενετικά μονοπάτια. Τα πιο συχνά από αυτά, περιλαμβάνουν την απενεργοποίηση της APC, μεταλλάξεις στο WNT μονοπάτι, ενεργοποίηση των KRAS, BRAF, καθώς και επιγενετικά φαινόμενα, όπως η υπερμεθυλίωση του DNA. Φαινοτυπικά, για τους περισσότερους όγκους, εξελίσσεται από μια ανωμαλία του φυσιολογικού βλεννογόνου, που οδηγεί στο σχηματισμό αδενώματος και στη συνέχεια καρκίνου, που μπορεί να διηθήσει το εντερικό τοίχωμα και τους γειτονικούς ιστούς και να δώσει μεταστάσεις σε λεμφαδένες και απομακρυσμένα όργανα. Υπεύθυνη για την εξέλιξη αυτή, είναι η αστάθεια του γονιδιώματος, που παρέχει τις αναγκαίες προϋποθέσεις, ώστε ένα εν δυνάμει καρκινικό κύτταρο με την απόκτηση περαιτέρω μεταλλάξεων να μετατραπεί σε καρκινικό. Δύο κύριες μορφές γονιδιωματικής αστάθειας εμπλέκονται στην παθογένεση του καρκίνου του παχέος εντέρου, η μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) και η χρωμοσωμική (CIN). Η μικροδορυφορική αστάθεια αφορά στο 15% των σποραδικών καρκίνων και οφείλεται κυρίως σε βλάβη του μηχανισμού επιδιόρθωσης λαθών στο DNA, είτε λόγω μεταλλάξεων στα γονίδια MMR είτε λόγω υπερμεθυλίωσης του υποκινητή του hMLH1. Αυτό οδηγεί στη δημιουργία μεταλλάξεων σε γονίδια που διαθέτουν μικροδορυφορικές

επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες, όπως ο υποδοχέας του TGF- β , το BAX, MSH3 και MSH6. (126)

Το CIN αφορά την πλειοψηφία των υπολοίπων όγκων του παχέος εντέρου και οδηγεί στην ογκογένεση, μέσω μεταλλάξεων σε γονίδια που ελέγχουν τη μίτωση, την επιδιόρθωση της καταστροφής του DNA, τη δομή και τη λειτουργία του κεντροσώματος και άλλους βασικούς παράγοντες στη διαδικασία του διπλασιασμού του γενετικού υλικού. Σε αντίθεση με το φαινότυπο MSI, το CIN έχει συσχετιστεί με χειρότερη πρόγνωση στον ορθοκολικό καρκίνο. (127)

Επίσης, ταυτοποιήθηκε μία άλλη κατηγορία όγκων, που φέρουν το φαινότυπο με μεθυλιωμένη τη νησίδα CpG (CIMP). (128) Μάλιστα, οι περισσότερες περιπτώσεις σποραδικών όγκων με MSI, θα μπορούσαν να αποδοθούν, στη σχετιζόμενη με CIMP αποσιώπηση των MMR γονιδίων.(129) Αυτό οδηγεί πολλούς ερευνητές, στην άποψη πως πλέον, ο καρκίνος του παχέος εντέρου θα πρέπει να διαχωρίζεται σε CIMP και CIN φαινότυπο.(130) Οι δύο τύποι φαίνεται να έχουν διαφορετικά κλινοπαθολογικά χαρακτηριστικά, (131) με τους θετικούς όγκους CIMP, να τείνουν να εντοπίζονται στο δεξιό κόλο και σε πιο ηλικιωμένους ασθενείς σε σχέση με τους CIN όγκους. Κυρίως, όμως, οι δύο αυτοί φαινότυποι, φαίνεται να ακολουθούν διαφορετικά μονοπάτια, με τους CIMP όγκους να εμφανίζουν συχνότερα, μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF και λιγότερο στα γονίδια APC και p53 και σύμφωνα με τον Cheng και τους συνεργάτες του σπάνια αλληλοεπικαλύπτονται. Βέβαια, περιστασιακά μπορεί να παρατηρηθεί συνύπαρξη των μονοπατιών, στον ίδιο όγκο. Ο Cheng κι η ομάδα του, εντόπισαν όγκους που χαρακτηρίζονταν τόσο από MSI, όσο και από CIN, όπως και όγκους με εκσεσημασμένη υπερμεθυλίωση και CIN. (132)

Με τα δεδομένα αυτά, υπάρχουν τουλάχιστον τρία εναλλακτικά μονοπάτια (133) που οδηγούν στην ανάπτυξη όγκων με διαφορετικά χαρακτηριστικά και πρόγνωση: Τους CIMP θετικούς, με μετάλλαξη του BRAF γονιδίου, βλάβη στο σύστημα MMR και MSI, που τείνουν να εντοπίζονται στο δεξιό κόλο και να έχουν καλύτερη πρόγνωση. Τους CIMP αρνητικούς, CIN θετικούς όγκους, με μεταλλαγμένη την APC και την p53, που εμφανίζονται συνήθως στο αριστερό κόλο και τέλος, τους CIMP θετικούς, CIN αρνητικούς, συνήθως, που φέρουν μεταλλάξεις στο KRAS κυρίως και σε λίγες περιπτώσεις στο BRAF και εμφανίζουν τη χειρότερη πρόγνωση και χαμηλή ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία, με 5-φθοριουρακίλη και το μονοκλωνικό

αντίσωμα cetuximab (αντι-EGFR). Η συχνότητα του καθενός, είναι 10-20%, 50-70% και 10-30% αντίστοιχα.

Η περαιτέρω έρευνα σχετικά με τους μηχανισμούς αυτούς, θα συμβάλλει στην ακόμα καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών καρκινογένεσης και στην κατά το δυνατόν στοχευμένη και εξατομικευμένη θεραπεία των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου. (134,135)

H. BRAF ΓΟΝΙΔΙΟ

Όπως αναφέρθηκε, η ανάπτυξη καρκίνου συμβαίνει εξαιτίας μεταλλάξεων σε κρίσιμα γονίδια, με αποτέλεσμα να διαταράσσονται τα φυσιολογικά προγράμματα κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης και απόπτωσης. Ένα από τα σηματοδοτικά μονοπάτια, που μεταβιβάζει μηνύματα που ενορχηστρώνουν σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες, όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση και του οποίου η απορρύθμιση είναι συχνή στον ανθρώπινο καρκίνο, είναι αυτή του μονοπατιού RAS–RAF–MEK–ERK–MAP κινάσης.(136,137,138)

Υπό την επίδραση σημάτων, που αφορούν κυρίως στην πρόσδεση αυξητικών παραγόντων σε υποδοχείς με δραστικότητα τυροσινικής κινάσης, οι φωσφορυλιωμένες τυροσίνες αλληλεπιδρούν με τη συνδετική πρωτεΐνη Grb 2. Αυτή, βρίσκεται στο εσωτερικό του κυττάρου, και εκτός από τις ειδικές περιοχές SH2 για τη σύνδεση με τις φωσφορυλιωμένες τυροσίνες, διαθέτει και ειδικές SH3 περιοχές για τη σύνδεση με την κυτταροπλασματική πρωτεΐνη SOS, η οποία, αφού συνδεθεί με την Grb 2, ενεργοποιείται και προσαρτάται στη μεμβράνη. Εκεί, η SOS λειτουργεί ως παράγοντας ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανίνης (Guanine nucleotide_Exchange Factor, GEF) ενώνεται με την πρωτεΐνη RAS, την οποία ενεργοποιεί, προάγοντας έτσι, τη σύνδεση της RAS με το GTP. Το ενεργοποιημένο σύμπλοκο RAS-GTP αλληλεπιδρά άμεσα με την κυτταροπλασματική κινάση σερίνης-θρεονίνης RAF, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί, μέσω φωσφορυλίωσης, τη MAPKK ή MEK κινάση, μια «διπλή» κινάση, που μπορεί να φωσφορυλιώνει τυροσίνες και θρεονίνες. Η διπλή αυτή κινάση ονομάζεται MAP/Erk κινάση και ενεργοποιεί τη MAP κινάση. Η MAP κινάση είναι κινάση σερίνης-θρεονίνης και όταν ενεργοποιηθεί, μπαίνει στον

πυρήνα, όπου φωσφορυλιώνει διάφορα υποστρώματα, όπως παράγοντες ρύθμισης της μεταγραφής. Έτσι, το αρχικό σήμα μεταφέρεται στον πυρήνα.(76) Έχει βρεθεί ότι αρκετά γονίδια ενεργοποιούνται από το μονοπάτι RAS–RAF–MEK–ERK, ανάμεσα στα οποία, η κυκλίνη D1, η κυκλίνη D2 και η κυκλίνη D3 (ανεξαρτησία σε ανάπτυξη), ο VEGF (αγγειογένεση), το c-myc (μη ευαισθητοποίηση σε ογκοκατασταλτικά σήματα), η ιντεγκρίνη b3 (ιστική διήθηση και μετάσταση) και η πρωτεΐνη mdm2 (αποφυγή απόπτωσης, απεριόριστη ικανότητα αντιγραφής και αγγειογένεση). (139)

Υπάρχουν τρεις ισομορφές της κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης RAF, με δραστικότητα κινάσης σερίνης-θρεονίνης, που συμμετέχει στη μεταβίβαση του μηνύματος από το μονοπάτι αυτό, η A-RAF, η B-RAF και C-RAF (ή RAF1), που κωδικοποιούνται από τα αντίστοιχα γονίδια, καθεμία με διαφορετική βασική ενεργότητα και ικανότητα ενεργοποίησης από τα διάφορα μόρια. (140) Η πρωτεΐνη B-RAF που αποτελείται από 766 αμινοξέα και έχει MB 84436 (139), κωδικοποιείται από το γονίδιο που εδράζεται στο χρωμόσωμα 7,(141) και εκφράζεται στους περισσότερους ιστούς, και σε μεγάλο βαθμό στο νευρικό. Το BRAF μοιράζεται τρεις ομόλογες περιοχές (CR1, CR2 και CR3) με τα άλλα δύο γονίδια, ARAF και RAF1. Η CR1 που αποτελείται από 131 αμινοξέα, διαθέτει μια πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή (CRD) και το μεγαλύτερο μέρος από την περιοχή πρόσδεσης της RAS (RDB). Αυτές οι δύο περιοχές συνδέονται με το σύμπλεγμα RAS-GTP. Η CR2, που περιλαμβάνει 16 αμινοξέα, είναι πλούσια σε κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης, συμπεριλαμβανομένης και της περιοχής S365 που είναι περιοχή που δεν επιτρέπει τη φωσφορυλίωση. Η CR3, με 293 αμινοξέα, διαθέτει την περιοχή με δραστικότητα κινάσης, καθώς επίσης, την υψηλά διατηρημένη στις ανθρώπινες κινάσες αλληλουχία, G-αγκύλη (G-loop GXGXXG), το τμήμα ενεργοποίησης και τις ρυθμιστικές θέσεις φωσφορυλίωσης S446, S447, D448, D449, T599 και S602. (139)

Το γονίδιο BRAF παρουσιάζει σωματικές μεταλλάξεις σε πολλά είδη καρκίνων, (138) κυρίως στο κακόηθες μελάνωμα, στο σποραδικό ορθοκολικό καρκίνο, όπου παρατηρείται μικροδορυφορική αστάθεια (MSI),(142) σε χαμηλής διαφοροποίησης ορώδες καρκίνωμα των ωοθηκών και στο θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς. (143)

Έχουν ταυτοποιηθεί παραπάνω από 50 διαφορετικές μεταλλάξεις, οι περισσότερες από τις οποίες είναι ενεργοποιητικές. Το 80% των μεταλλάξεων αυτών αντιστοιχούν

στη σημειακή μετάλλαξη μεταστροφής T1799A που προκαλεί την αντικατάσταση V600E στην αλληλουχία των αμινοξέων. Το υπόλοιπο 20% αφορούν σε ένα ευρύ σύνολο παρερμηνεύσιμων μεταλλάξεων που εντοπίζονται στις γλυκίνες της G-αγκύλης στο εξόνιο 11 ή στη θέση ενεργοποίησης στο εξόνιο 15 που βρίσκεται κοντά στο αμινοξύ V600. Η μετάλλαξη V600E προσδίδει δυναμικό μετασχηματισμού στα κύτταρα, γιατί μιμείται τη φωσφορύλιωση στις θέσεις T599 και/ή S602 του τμήματος ενεργοποίησης, με αποτέλεσμα η B-RAF να μένει συνεχώς ενεργοποιημένη, χωρίς να εξαρτάται από την αλληλεπίδρασή της με τη RAS. Μεταλλάξεις του γονιδίου NRAS δεν συνυπάρχουν με τη μετάλλαξη V600E του BRAF. (138) Αυτή η μετάλλαξη δεν έχει βρεθεί σε άλλους όγκους, όπως ο καρκίνος του στομάχου,(144) του ενδομητρίου,(145) το μελάνωμα του οφθαλμού (146) και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. (147)

Στο μελάνωμα, το BRAF βρίσκεται μεταλλαγμένο στο 70% των περιπτώσεων. (148) Η μετάλλαξη V600E αποτελεί ένα πρώιμο γεγονός, αλλά δεν είναι ικανή από μόνη της να προκαλέσει μελάνωμα, αφού εντοπίζεται στο 80% των μελανωμάτων αρχικού σταδίου,(148) αλλά και στο 80% των σπύλων, που είναι βλάβες που σχετίζονται με το μελάνωμα.(149) Όπως αναφέρθηκε, μεταλλάξεις του BRAF δεν έχουν συσχετιστεί με το οφθαλμικό μελάνωμα.(148)

Στον ορθοκολικό καρκίνο, η μετάλλαξη V600E, έχει συσχετιστεί με ανεπάρκεια του συστήματος επιδιόρθωσης λαθών και μικροδορυφορική αστάθεια (MSI), όπου αφορά στο 40% των περιπτώσεων έναντι του 5% των περιπτώσεων με επαρκή λειτουργία του συστήματος επιδιόρθωσης λαθών στο DNA.(142) Στο σποραδικό καρκίνο του εγγύς παχέος εντέρου με MSI, η μετάλλαξη V600E, βρίσκεται στο 80% των περιπτώσεων με μεθυλίωση του MLH1.(150) Αντίθετα, σε όγκους ασθενών με κληρονομικό μη πολυποδιακό ορθοκολικό καρκίνο (HNPCC), που είτε φέρουν είτε δε φέρουν μεταλλάξεις της γενετικής σειράς στα MLH1, MSH2 ή MSH6, δεν έχει ταυτοποιηθεί μετάλλαξη στο BRAF. Για το λόγο αυτό, έχει προταθεί να συμπεριληφθεί η μετάλλαξη V600E του BRAF, στα κριτήρια αποκλεισμού των κληρονομούμενων μεταλλάξεων στα γονίδια επιδιόρθωσης λαθών. (151,152) Σύμφωνα με μελέτη, η μετάλλαξη RAS/RAF στον ορθοκολικό καρκίνο συνδέεται με αντοχή στη θεραπεία με το αντι-EGFR μονοκλωνικό αντίσωμα Cetuximab. (153)

Στον καρκίνο των ωοθηκών, η μετάλλαξη V600E έχει βρεθεί στο 30% των περιπτώσεων ορώδους καρκινώματος χαμηλής διαφοροποίησης, καθώς και σε όγκους οριακής κακοήθειας και φαίνεται να επισυμβαίνει στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης. Στους όγκους υψηλής διαφοροποίησης δεν έχουν παρατηρηθεί μεταλλάξεις του BRAF. Στο θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς η μετάλλαξη V600E του BRAF, εντοπίζεται στο 50% των περιπτώσεων ενώ στο θυλακιώδες καρκίνωμα, έχει βρεθεί η μετάλλαξη K601E.(153)

Δεδομένης της κομβικής σημασίας του γονιδίου BRAF στη μεταβίβαση μιτογόνων σημάτων και της εμπλοκής του στον καρκινικό μετασχηματισμό μέσω της απορρύθμισης βασικών κυτταρικών λειτουργιών που προκαλούνται από τη μετάλλαξη του, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στην ανάπτυξη και τη θεραπευτική χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, όπως το PLX4032 και το SB-590885 που στοχευμένα, αναστέλλουν την τροποποιημένη δράση της κινάσης B-RAF στα κύτταρα όπου αυτή εκφράζεται.(154,155,156) Ο αναστολέας vemurafenib της V600 μετάλλαξης του BRAF γονιδίου, ήδη, έχει λάβει έγκριση από το Food and Drug Administration για κλινική χρήση στη θεραπεία του μελανώματος. Σε αντίθεση με την αποτελεσματικότητα της κλινικής του χρήσης στην αντιμετώπιση του μελανώματος, η αποτελεσματικότητα του PLX4032 σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου που φέρουν τη μετάλλαξη V600 του B-RAF είναι περιορισμένη καθώς βρέθηκε ότι η αναστολή του BRAF προκαλεί ταχέως σε αντιρροπιστική ενεργοποίηση του EGFR με αποτέλεσμα το συνεχή πολλαπλασιασμό παρουσία της αναστολής του BRAF (V600). Τα κύτταρα του μελανώματος εκφράζουν χαμηλά επίπεδα του EGFR κι επομένως δεν υφίστανται αυτή την αντιρροπιστική ενεργοποίηση. Όμως, η έκτοπη παραγωγή EGFR είναι ικανή να οδηγήσει τα κύτταρα του μελανώματος στην ανάπτυξη αντοχής στο PLX4032. Ακόμα, ενδεχομένως οι ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου που φέρουν τη μετάλλαξη στο BRAF, να επωφελούνται από ταυτόχρονη χορήγηση αναστολέων των EGFR και BRAF.

Θ. PIK3CA ΓΟΝΙΔΙΟ

Οι φωσφατιδυλο-ινοσιτολη-3κινάσες (PI3Ks) αποτελούν λιπιδικές κινάσες που ρυθμίζουν σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία είναι καθοριστικής σημασίας για τη νεοπλασία, όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η διήθηση, η επιβίωση και η κινητικότητα διαμέσου της φωσφορυλίωσης της υδροξυλικής ομάδας στη θέση 3 του δακτυλίου της ινοσιτόλης της φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης. (157,158)

Οι PI3Ks διακρίνονται σε τρεις ξεχωριστές τάξεις (I, II, III). Οι τάξεις I PI3Ks αποτελούν ετεροδιμερή μόρια που αποτελούνται από μία ρυθμιστική υποομάδα και μια καταλυτική υποομάδα 110 kDA (3 μορφές για την τάξη 1A: άλφα, βήτα και δέλτα και μια για την 1B τάξη: γάμα). Ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στην p110a υποομάδας έχουν ταυτοποιηθεί σε συγκεκριμένους τύπους καρκινικών κυττάρων.

Το γονίδιο PIK3CA κωδικοποιεί την πρωτεΐνη 110a, που αποτελεί, όπως αναφέρθηκε, μια καταλυτική υπομονάδα της PI3K τάξης I. (159) Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό, παρατηρούνται στο 15% με 20% των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου, και κυρίως αφορούν στο εξόνιο 9 (E542K, E545K) και εξόνιο 20 (H1947R), γεγονός που οδηγεί στην αυτόνομη δραστηριότητα της p110a, την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατίου της AKT και τον ανεξάρτητο από το εκλυτικό ερέθισμα πολλαπλασιασμό. (160)

Έχει αναφερθεί ότι η μετάλλαξη του PIK3CA έχει αρνητική επίδραση για την πρόγνωση πολλών όγκων στον άνθρωπο, όπως στο μαστό και στον μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου.(161) Σύμφωνα με νεότερα δεδομένα, η ταυτόχρονη συνύπαρξη μεταλλάξεων του PIK3CA στα κωδικόνια 9 και 20, σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου.(162)

Επίσης, κάποιες μελέτες προσπάθησαν να εκτιμήσουν το ρόλο των μεταλλάξεων του PIK3CA στην πρόβλεψη της ανθεκτικότητας στη θεραπεία με αντι-EGFR ανάλογα. Τα αποτελέσματα ωστόσο, που προέκυψαν ήταν αντικρουόμενα. (163,164) Σύμφωνα με μία μετα-άναλυση, οι μεταλλάξεις του PIK3CA στο εξόνιο 20 ενδεχομένως αποτελούν έναν πιθανό ενδεικτικό παράγοντα αντίστασης στη θεραπεία με αντι-EGFR ανάλογα σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου και μη μεταλλαγμένο KRAS. (165)

Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η τακτική χορήγηση ασπιρίνης μετά τη διάγνωση σχετίστηκε με μεγαλύτερη επιβίωση στους ασθενείς με μεταλλαγμένο το PIK3CA σε σχέση με αυτούς που δεν είχαν μετάλλαξη στο PIK3CA. (166)

Τα στοιχεία αυτά τονίζουν τον πιθανό ρόλο του PIK3CA τόσο για διαγνωστικούς όσο και για θεραπευτικούς σκοπούς, δεδομένου ότι ο εντοπισμός των μεταλλάξεών του μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο δείκτη έγκαιρης διάγνωσης, αλλά και παρακολούθησης της εξέλιξης του καρκίνου και επίσης, να συμβάλει στην εξατομικευμένη και στοχευμένη αντιμετώπιση μέσω της κλινικής εφαρμογής ειδικών αναστολέων του μεταλλαγμένου PIK3CA.

I. ΤΟ ΔΙΚΤΥΟ RAS-MAPK-PI3K

Τα σηματοδοτικά μονοπάτια RAS-MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase), PI3K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) σχηματίζουν ένα διατέμνον βιοχημικό δίκτυο που, όταν διαταραχτεί οδηγεί σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Το γονίδιο KRAS, όπως αναφέρθηκε, αποτελεί μέλος της οικογένειας των RAS ογκογονιδίων και συνδέεται με τουλάχιστον τρεις δραστικές πρωτεΐνες, τις κινάσες της οικογένειας RAF (συμπεριλαμβανομένης της BRAF), την PI3K και μέλη μιας οικογένειας παραγόντων ανταλλαγής για τη μικρή GTP-άση Ral. Το γονίδιο PIK3CA που κωδικοποιεί την 110^α υποομάδα της PI3K, μπορεί να ενεργοποιηθεί διαμέσου της αλληλεπίδρασης με τις πρωτεΐνες RAS.

Τα μονοπάτια των RAS-MAPK και PI3K συνδέονται στενά και κατέχουν σημαντικό ρόλο στην ογκογένεση διαμέσου της συνεργικής φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών ή μεταγραφικών παραγόντων που ρυθμίζουν άμεσα την κυτταρική ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση. Μετάλλαξη σε οποιοδήποτε από τα γονίδια αυτά θα έχει ως κοινή συνέπεια την ενεργοποίηση του δικτύου και αύξηση της μεταγραφής διαφόρων ογκογονιδίων, όπως τα C-MYK, CREB, NF-κB και άλλα. Αντίστοιχα, η αδρανοποίηση του ενός μονοπατιού, σε πολλές περιπτώσεις θα πυροδοτήσει την ενεργοποίηση των παράπλευρων, σε ένα περιβάλλον που καταγιγίζεται από σήματα

πολλαπλασιασμού, επιβίωσης και τη δράση θεραπευτικών παραγόντων. Για το λόγο αυτό, η στοχευμένη θεραπεία στρέφεται πλέον σε περισσότερα από ένα στοιχεία του δικτύου αυτού. (167)

Στον καρκίνο του παχέος εντέρου, τα γονίδια KRAS, BRAF και PI3K βρίσκονται μεταλλαγμένα σχεδόν στο 50% των περιπτώσεων, οδηγώντας στην ενεργοποίηση των αντίστοιχων γονιδίων, γεγονός που αποδεικνύει τη σημασία του δικτύου αυτού για το δυναμικό της καρκινογένεσης. Σύμφωνα με μελέτες, οι μεταλλάξεις στο KRAS είναι πιο συχνές στον καρκίνο στο εγγύς κόλον σε MSS ασθενείς, ενώ στους MSI-H τείνουν να εμφανίζονται στο αριστερό κόλον. (162), (168,169,170),171)

Επιπλέον, η ενεργοποίηση του δικτύου μέσω μετάλλαξης σε ένα από τα τρία γονίδια, φαίνεται να σχετίζεται με το γυναικείο φύλο, τη μεγάλη ηλικία και τη δεξιά εντόπιση, χωρίς να εξαρτάται από τον φαινότυπο της MSI ενώ, υπάρχουν δεδομένα ότι σχετίζεται με σημαντικά χαμηλότερη τριετή επιβίωση. (161)

Τέλος νεότερες μελέτες συσχετίζουν τις μεταλλάξεις στο δίκτυο αυτό με μειωμένη απάντηση στη θεραπεία με cetuximab σε ασθενείς με μη μεταλλαγμένο το KRAS προτείνοντας τους ως πιθανούς αρνητικούς μοριακούς δείκτες ανταπόκρισης με στόχο την επίτευξη μιας κατά το δυνατόν εξατομικευμένης θεραπείας. (164)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΛΟΕΙΔΙΑΣ, ΤΩΝ ΠΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΣΤΑΔΙΟΥ IV ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ορθοκολικός καρκίνος (ΟΚΚ) αποτελεί μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως. Η εισαγωγή νεότερων χημειοθεραπευτικών μέσων έχει επιτρέψει την στοχευμένη θεραπεία και έχει αυξήσει την επιβίωση ασθενών με μεταστατική νόσο. Ως εκ τούτου, είναι υψηλής προτεραιότητας ο ακριβής προσδιορισμός των προγνωστικών παραγόντων σε ασθενείς με μεταστατικό (ΟΚΚ).

Τα καρκινικά προγονικά κύτταρα είναι ιδιαίτερος σημαντικά για την ογκογένεση, εξέλιξη, μετάσταση, υποτροπή και αντοχή στην χημειοθεραπεία. Ο δείκτης CD133 (protamin 1) είναι μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται στα CD34+ βλαστικά και προγονικά κύτταρα, σε πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα και σε εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα και ανιχνεύεται από τον γλυκοζυλιωμένο της επίτοπο, AC133. Ο δείκτης CD133 είναι από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους βιοδείκτες για τον χαρακτηρισμό των προγονικών κυττάρων και διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου.

Η χρωμοσωμική αστάθεια είναι η συνηθέστερη μορφή γονιδιωματικής αστάθειας καθώς ανευρίσκεται έως και στο 85% των ασθενών με (ΟΚΚ) και είναι το αποτέλεσμα δομικών και αριθμητικών αλλοιώσεων των χρωμοσωμάτων. Η χρωμοσωμική αστάθεια έχει προταθεί ως δείκτης φτωχής πρόγνωσης λόγω της συνεισφοράς της στην κλωνική μεταβλητότητα και στην ανάπτυξη του όγκου. Ανιχνεύεται μέσω κυτταρομετρίας ροής του DNA ή στατικής κυτταρομετρίας με ανάλυση εικόνας. Βάσει προηγούμενων εργασιών, χαμηλές τιμές πλοειδίας σχετίστηκαν με μεγαλύτερο όφελος για ασθενείς που έλαβαν παρηγορητική χημειοθεραπεία. Επίσης, μια σειρά από εργαστηριακές παραμέτρους όπως τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, η απουσία ή παρουσία ήπιας αναιμίας και τα φυσιολογικά επίπεδα αλβουμίνης σχετίστηκαν με καλύτερη έκβαση. Βάσει κλινικού

ενδιαφέροντος και της προηγηθείσας μελέτης για την διερεύνηση των προγνωστικών παραγόντων στο μεταστατικό (ΟΚΚ), η παρούσα μελέτη επιχειρεί να αξιολογήσει τον ρόλο των προγονικών κυττάρων σε συνάρτηση με άλλες μοριακές, κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους όσον αφορά στη συσχέτιση της με την ανταπόκριση στην θεραπεία και την επιβίωση.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ασθενείς. Μελετήθηκε αναδρομικά το ιατρικό ιστορικό 100 ασθενών με ιστολογικά επιβεβαιωμένο (ΟΚΚ) σταδίου IV International Union of Cancer Control μεταξύ 2000 και 2009 και συλλέχθηκαν δείγματα από τα εμποτισμένα σε παραφίνη παρασκευάσματα από την πρωτοπαθή εστία του όγκου. Αποτελούσαν συνεχείς μη επιλεγμένες περιπτώσεις από ένα μόνο κέντρο και όλοι οι ασθενείς αντιμετωπίστηκαν εκτός κλινικών δοκιμών. Δεν υπήρξε ασθενής υποψήφιος για χειρουργική θεραπεία (θεραπευτική ή παρηγορητική), όλοι ωστόσο έλαβαν παρηγορητική θεραπεία βάσει καθιερωμένων χημειοθεραπευτικών πρωτοκόλλων.

Η χημειοθεραπευτική αγωγή βασίστηκε σε τροποποιημένη με λευκοβορίνη 5-φθοροουρακίλη μονοθεραπεία (5-FU) (Mayo clinic) ή συνδιαστική θεραπεία με 5-FU (De Gramont ή απλή έγχυση και λευκοβορίνη) με χορήγηση είτε οξαλιπλατίνας είτε ιρινοτεκάνης, ή καπεσιταμίνη με ή χωρίς μπεβασιζουμάμπη ή σετουξιμάμπη.

Αρχεία με πλήρη δεδομένα (για τις παραμέτρους που χρησιμοποιήθηκαν ως προγνωστικοί παράγοντες) συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση. Η παρακολούθηση συνεχίστηκε μέχρι να διαπιστωθεί θάνατος από (ΟΚΚ) ή οποιαδήποτε άλλη αιτία ενώ οι ασθενείς που παρέμειναν εν ζωή αποκόπηκαν από την παρακολούθηση έως και την 1η Ιανουαρίου του 2015. Η συνολική επιβίωση αποτέλεσε το πρωτεύων καταληκτικό σημείο. Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο έλαβε έγκριση από την επιτροπή ηθικής και δεοντολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, 5 Απριλίου του 2013 με αριθμό έγκρισης 7315.

ΜΕΤΑΒΛΗΤΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Επιλέχθηκαν 24 πιθανοί μεταβλητοί παράγοντες πρόγνωσης. Σχετιζόμενοι με τον ασθενή όπως η ηλικία, το εμβαδόν επιφανείας σώματος (ΕΕΣ), το φύλο, η κατάσταση ικανότητας (ΚΑ) βάσει του δείκτη κλίμακας Karnofsky προ της έναρξης και μετά την λήψη της χημειοθεραπείας, η ανταπόκριση στην θεραπεία, η εντόπιση απομακρυσμένων μεταστάσεων (λεμφαδένες, ήπαρ, πνεύμονες, κοιλιακή χώρα, πύελος, τοπικοπεριοχική νόσος, οστά, δέρμα, επινεφρίδια), συμπτώματα όπως ο πυρετός, οι παρενέργειες από τη θεραπεία όπως η ουδετεροπενία, η αναιμία, η θρομβοπενία, η ναυτία και έμετοι, η διάρροια, η ανορεξία, η απώλεια βάρους, η βλεννογονίτιδα, η κόπωση, η αναιμία που χρήζει χορήγησης ερυθροποιητίνης και μετάγγιση και εργαστηριακές παράμετροι όπως η αλβουμίνη, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, και οι τιμές του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (CEA) και καρκινικού αντιγόνου 19-9 (CA 19.9).

Τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον πίνακα I.

Πίνακας I. Κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών.

<u>Παράμετροι υπό εξέταση</u>	<u>Συχνότητα</u>	<u>Ποσοστό %</u>
Φύλο		
Άνδρες	55	55
Γυναίκες	45	45
Κατάσταση ικανότητας προ θεραπείας		
70	13	13.0
80	42	42.0
90	22	22.0
100	23	23.0
Κατάσταση ικανότητας μετά τη θεραπεία		
Βελτίωση	18	18.0
Σταθερή κατάσταση	37	37.0
Επιδείνωση	45	45.0
Συμπτώματα		
Πυρετός	27	27.0
Απώλεια βάρους	55	55.0
Άλγος	20	20.0
Εντόπιση μεταστάσεων		
Ήπαρ	65	65.0
Πνεύμονες	25	25.0
Περίτοναϊκές εμφυτεύσεις	50	50.0
Ενδοπυελική νόσος	36	36.0
Τοπική υποτροπή	35	35.0
Οστική νόσος	8	8.0
Δερματική νόσος	0	0.0
Επινεφρίδια	2	2.0
Άλλες παράμετροι		
Χρήση ερυθροποιητίνης	25	25.0
Μετάγγιση αίματος	9	9.0
Υπολευκωματιναμία	15	15.0
Ανταπόκριση		
ΠΑ	5	5.0
ΜΑ	19	19.0
ΣΝ	36	36.0
ΠΝ	40	40.0

ΠΑ: Πλήρης Ανταπόκριση ΜΑ: Μερική Ανταπόκριση ΣΝ: Σταθερή Νόσος ΠΝ: Πρόοδος Νόσου

ΜΕΤΡΗΣΗ DNA (ΠΛΟΕΙΔΙΑ)

Για την μέτρηση του DNA, η τεχνική χρώσης κατά Feulgen εφαρμόστηκε όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί (174). Ο πυρήνας των χρωματισμένων κατά Feulgen κυττάρων από τα ιστολογικά παρασκευάσματα της πρωτοπαθούς εστίας του (ΟΚΚ) αξιολογήθηκαν σε σχέση με την πλοειδία χρησιμοποιώντας ένα μικροσκόπιο Nikon eclipse (Nikon, Tokyo, Japan) συνδεδεμένο σε μία βιντεοκάμερα Nikon CCD και έναν υπολογιστή IBM Pentium 4/PC με λογισμικό μέτρησης κυττάρων (Image Pro Plus v. 5.1; Media Cybernetics Inc., Silver Springs, MD, USA). Περιοχές των κατά Feulgen χρωματισμένων τμημάτων που περιέχουν παθολογικές βλάβες, αναγνωρισμένες σε γειτονικές χρωματισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες, επιλέχθηκαν για ανάλυση περιεχομένου DNA.

Συνολικά 200 με 300 πυρήνες με σαφή όρια που εμφανίζονται να μην έχουν απώλεια της ακεραιότητας της μεμβράνης αναλύθηκαν σε κάθε δείγμα ιστού. Οι μετρήσεις της κυτταρομετρίας πραγματοποιήθηκαν με μεγέθυνση $\times 200$ και υπολογίστηκαν αυτόματα σύμφωνα με τους αλγορίθμους που περιγράφηκαν προηγουμένως με τη μέτρηση της ενσωματωμένης πυρηνικής οπτικής πυκνότητας (IOD), που αντιπροσωπεύει το κυτταρομετρικό ισοδύναμο του περιεχομένου του DNA (174).

Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε για όλους τους πυρήνες και ο συνολικός μέσος όρος αντιπροσωπεύει την περιεκτικότητα σε DNA ή δείκτη DNA, DNA index (DI). Η μέση τιμή οπτικής πυκνότητας ανθρώπινων λεμφοκυττάρων (κύτταρα ελέγχου) χρησιμοποιήθηκε ως διπλοειδές πρότυπο (2c) και ως σημείο αναφοράς για τον υπολογισμό του δείκτη DNA για τα στοχευμένα κύτταρα. Δημιουργήθηκαν ιστογράμματα DNA και ο όγκος ταξινομήθηκε ως διπλοειδής όταν ο δείκτης DNA κυμαινόταν από 0,9 έως 1,1 και το σχετικό ιστόγραμμα DNA παρουσίαζε μόνο μία κορυφή στο 2c και ανευπλοειδές όταν ένα από τα δύο αυτά κριτήρια απουσίαζε.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

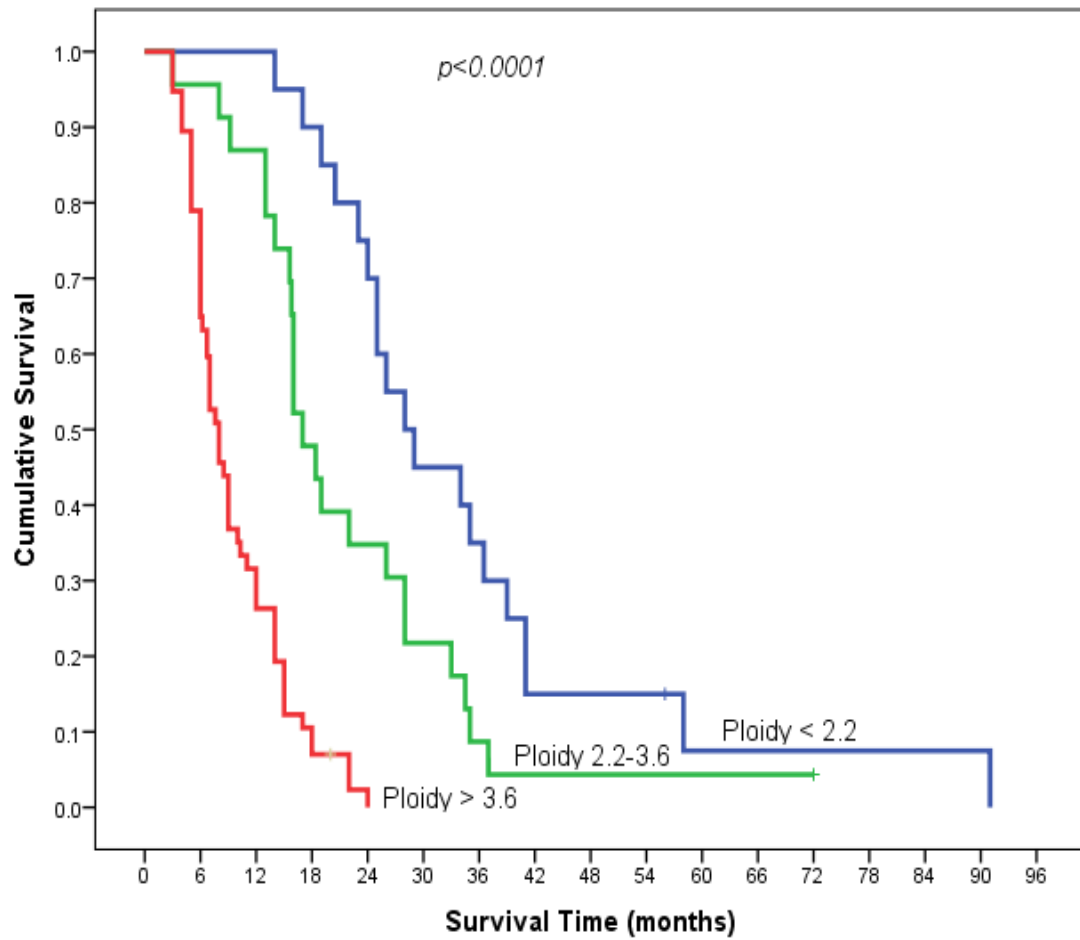
Η ανοσοϊστοχημική βαθμολογία, immunohistochemical score (IHS) για την ανοσοχρώση του CD133, ως δείκτη προγονικών κυττάρων, υπολογίστηκε για κάθε περίπτωση. Το σύστημα βαθμολόγησης που χρησιμοποιήθηκε ήταν αντίστοιχο των προηγούμενων δημοσιευμένων μεθόδων (175). Η ανοσοϊστοχημική χρώση του CD133 μετρήθηκε στο κυτταρόπλασμα των απομονωμένων καρκινικών κυττάρων και στις εκκρίσεις του όγκου του κακοήθους αδένου και προς την επιφάνεια του αυλού των κακοήθων αδενικών δομών. Η έκταση των θετικά χρωματισμένων επιθηλιακών κυττάρων εκτιμήθηκε και ταξινομήθηκε σε κλίμακα τεσσάρων σημείων ως εξής: χωρίς χρώση = 0%, 1 = 1-10%, 2 = 11-25%, 3 = 26-50% και 4 = 51-100%.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η σύνοψη των στατιστικών στοιχείων των συνεχών μεταβλητών βασίστηκε στον μέσο όρο ακολουθούμενο από το αντίστοιχο διάστημα εμπιστοσύνης 95% ή την τυπική απόκλιση και το εύρος τιμών. Στην περίπτωση των μεταβλητών που είχαν διασπαρεί σημαντικά, οι τιμές τους μετατράπηκαν σε φυσικό λογάριθμο. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι αναφερόμενες στατιστικές βασίστηκαν στον γεωμετρικό μέσο. Οι κατηγορικές μεταβλητές συνοψίζονται με απόλυτες και σχετικές συχνότητες.

Χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης κατά ένα κριτήριο (ANOVA) ή στατιστική κατά χ^2 για να διερευνηθεί η συσχέτιση της ανταπόκρισης των ασθενών με τα κλινικά τους χαρακτηριστικά.

Διερευνήθηκε η ανάλυση χρόνου από την εκδήλωση σε σχέση με τη συνολική επιβίωση με λογαριθμικές στατιστικές και απεικονίστηκε με καμπύλες Kaplan-Meier. Μεταβλητές με επίπεδο σημαντικότητας του $\alpha = 1\%$ στην μονοπαραγοντική ανάλυση καθώς και δημογραφικά στοιχεία και προγονικά κύτταρα εισήχθησαν στο μοντέλο αναλογικού κινδύνου του Cox προκειμένου να αναγνωριστούν πιθανοί προγνωστικοί παράγοντες επιβίωσης.



Σχήμα Ι: Η επιβίωση σε σχέση με την πλοειδία

Όλες οι δοκιμασίες ήταν δύο πλευρών με το αποδεκτό επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας να ορίζεται στο 5% και πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από το σύνολο των 100 ασθενών με ιστολογικά επιβεβαιωμένο ΟΚΚ που συμμετείχαν αρχικά στη μελέτη, όλοι συμπεριλήφθηκαν στη στατιστική ανάλυση. Μελετήθηκε πλήθος κλινικών παραμέτρων και η σχέση τους με την επιβίωση και τη συνολική ανταπόκριση.

Τα περιγραφικά στατιστικά στοιχεία συνοψίζονται στους πίνακες II και III.

Μονοπαραγοντική ανάλυση ανταπόκρισης

Πραγματοποιήθηκε μονοπαραγοντική ανάλυση που συνέκρινε την ανταπόκριση στη θεραπεία σε σχέση με τις υπό μελέτη κλινικές παραμέτρους. Οι διαφορές στις κλινικές παραμέτρους μεταξύ των ομάδων ανταπόκρισης μελετήθηκαν με τη χρήση διμερών δοκιμασιών και αναγνωρίστηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ ανταπόκρισης και κλινικών παραμέτρων. Οι ομάδες που ανταποκρίθηκαν (ανταποκριθέντες, πλήρης και μερική ανταπόκριση στη θεραπεία: 24,5% των ασθενών, μη ανταποκριθέντες, πρόοδος νόσου: 40,8% των ασθενών) είχαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά διάφορες παραμέτρους. Οι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν σε σύγκριση με τους μη ανταποκριθέντες είχαν χαμηλό βαθμό πλοειδίας ($p < 0,0001$), βελτιωμένη κατάσταση ικανότητας μετά τη θεραπεία ($p < 0,0001$), χαμηλές τιμές CEA ($p < 0,001$) και CA 19,9 ($p < 0,0001$) και παρουσίαζαν σπάνια αναιμία ($p < 0,007$), ανορεξία ($p < 0,0001$), απώλεια βάρους ($p < 0,016$), βλεννογονίτιδα ($p < 0,04$) ή κόπωση ($p < 0,001$) κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

Μονοπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης

Η μέση διάρκεια παρακολούθησης ήταν 73 μήνες. Έγινε εφαρμογή μονοπαραγοντικής ανάλυσης για την σύγκριση της επιβίωσης σε σχέση με τις υπόλοιπες κλινικές παραμέτρους. Οι διαφορές στις κλινικές παραμέτρους ήταν η βελτίωση της κατάστασης ικανότητας ($p < 0,0001$), οι ανταποκριθέντες ($p < 0,0001$), ο χαμηλός βαθμός πλοειδίας ($p < 0,0001$) (Εικόνα I) οι τιμές του CEA ($p < 0,0001$) και

CA 19.9 ($p < 0.0001$) και η απουσία απώλειας βάρους ($p < 0,0001$), νευρολογικής τοξικότητας ($p < 0,004$), θρομβοπενίας ($p < 0,016$), ανορεξίας ($p < 0,0001$), απώλειας βάρους ($p < 0,0001$), η βλεννογονίτιδας ($p < 0,04$) και κόπωσης ($p < 0,007$).

Πίνακας II. Κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών (n=100).

<u>Παράμετροι υπό εξέταση</u>	<u>Geometric mean \pm SD (range)</u>	<u>95% CI</u>
Ηλικία, χρόνια	<u>58.55 \pm 8.77 (38.00-78.00)</u>	
BSA, m ²	<u>1.79 \pm 0.13 (1.40-2.10)</u>	
CRP, mg/L	<u>0.81 (0.00-35.00)</u>	<u>0.47-1.22</u>
CEA, ng/ml	<u>29.67 (1.00-6140.00)</u>	<u>20.51-42.74</u>
CA 19-9, U/ml	<u>84.35 (1.00-4194.00)</u>	<u>60.93-116.63</u>
Βαθμός Πλοειδίας	<u>3.01 \pm 0.86 (1.65-4.27)</u>	<u>2.84-3.18</u>
Προγονικά Κύτταρα, %	<u>19.09 \pm 18.09 (0.00-83.00)</u>	<u>15.50-22.68</u>

SD: Standard Deviation CI: Confidence Interval, BSA: body surface area, CRP: C-reactive protein, CEA: carcinoembryonic antigen, CA 19-9: cancer antigen 19-9.

Μονοπαραγοντική ανάλυση πλοειδίας

Η μονοπαραγοντική ανάλυση της πλοειδίας σε σχέση της με τις υπόλοιπες κλινικές παραμέτρους παρουσίασε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της πλοειδίας και των παραμέτρων που εξετάστηκαν, συγκεκριμένα ο χαμηλός βαθμός πλοειδίας συσχετίστηκε με βελτίωση της κατάστασης ικανότητας ($p < 0,001$) και ανταπόκρισης στη θεραπεία ($p < 0,001$).

Μονοπαραγοντική ανάλυση ποσοστού προγονικών κυττάρων

Από την μονοπαραγοντική ανάλυση που συνέκρινε το ποσοστό των προγονικών κυττάρων σε σχέση με τις υπόλοιπες κλινικές παραμέτρους, δεν διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συχνότητας των προγονικών κυττάρων και της βελτίωσης της κατάστασης ικανότητας ($p=0.928$), της ανταπόκρισης ($p=0.750$), του φύλου ($p=0.561$), της πλοειδίας ($p=0.939$) αλλά και των υπολοίπων παραμέτρων που εξετάστηκαν.

Πολυπαραγοντική ανάλυση

Εφαρμόστηκε πολυπαραγοντικό μοντέλο παλινδρόμησης κατά Cox για την μελέτη της παράλληλης επίδρασης των παραμέτρων στην επιβίωση. Έγινε επιλογή του καλύτερου μοντέλου με τη χρήση αυτοματοποιημένων τεχνικών. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ανεξάρτητοι δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες ήταν ο αυξημένος βαθμός πλοειδίας ($p<0.0001$), η παρουσία οστικών μεταστάσεων ($p=0.044$), η χορήγηση ερυθροποιητίνης ($p=0.014$) και η παρουσία παρενεργειών όπως η ανορεξία ($p=0.033$), η βλεννογονίτιδα ($p=0.002$), και η απώλεια βάρους ($p=0.001$) (Πίνακας III)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη προσπαθήσαμε να αξιολογήσουμε την προγνωστική επίδραση των προγονικών κυττάρων σε σχέση με τις κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους μέσω μιας πολυπαραγοντική διαδικασίας.

Πίνακας III. Πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης κατά Cox

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	B	p	HR	95.0% CI for HR	
				Lower	Upper
ΟΣΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ	0.846	0.044	2.331	1.022	5.314
ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ	0.756	0.014	2.129	1.167	3.886
ΠΛΟΕΙΔΙΑ	1.757	<0.0001	5.797	3.740	8.988
CA19-9	0.254	<0.0002	1.289	1.122	1.482
ΑΝΟΡΕΞΙΑ	0.160	0.033	1.174	1.013	1.360
ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΙΤΙΔΑ	0.202	0.002	1.223	1.074	1.393
ΒΑΡΟΣ	0.894	0.001	2.446	1.472	4.065

CA 19.9: cancer antigen 19.9, CI: Confidence Interval, HR: Hazard Ratio

Τα προγονικά κύτταρα διακρίνονται στο εσωτερικό του όγκου για τα ειδικά χαρακτηριστικά τους τα οποία τους προσδίδουν την δυναμική της ογκογένεσης, της μετάστασης, της υποτροπής και της αντοχής στη χημειοθεραπεία. Η CD133, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, αποτελεί τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο βιοδείκτη προγονικών κυττάρων για την αναγνώριση και ταυτοποίηση των κυττάρων-εκκινητών όγκων σε ασθενείς με ΟΚΚ. Η ρύθμιση της έκφρασης του CD133 ελέγχεται από πολλά ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια σήματα. Έχει διαπιστωθεί ότι η υποξία, η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων ή η εξάντληση του μιτοχονδριακού DNA, προάγουν αναστρέψιμα την έκφραση του CD133 (176). Η ανοσοχρώση του CD133 μετρήθηκε στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων που απομονώθηκαν αλλά και από τις εκκρίσεις του αυλού των κακοήθων αδένων και προς την επιφάνεια του αυλού των κακοήθων αδενικών δομών (177).

Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο ποσοστό των προγονικών κυττάρων και στην βελτίωση της κατάστασης ικανότητας ή ανταπόκρισης στη θεραπεία. Παρά το αρνητικό στατιστικό αποτέλεσμα για το δείγμα

αυτό των ασθενών, η παρουσία CD133 κυττάρων στην ζώνη μετάπτωσης των νεοπλασματικών και φυσιολογικών ιστών, υποδεικνύει την ανάγκη για περαιτέρω ανάλυση μεγαλύτερου πληθυσμού μετά και την αναγνώριση επιπρόσθετων δεικτών όπως το CD44, που θα μπορούσε να αποκαλύψει τυχόν υφιστάμενη συσχέτιση μεταξύ των προγονικών κυττάρων του καρκίνου ορθού και την επιβίωση ή την ανταπόκριση στην θεραπεία (175,178-182).

Η πλοειδία του DNA αποτελεί καθιερωμένο προγνωστικό και προβλεπτικό παράγοντα (87, 91-93, 183-185). Στην παρούσα μελέτη ο χαμηλός βαθμός πλοειδίας συνδέθηκε με βελτιωμένη κατάσταση ικανότητας και ανταπόκριση στην θεραπεία σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο ορθού.

Επιπλέον, η ανάλυση αυτή επιβεβαιώνει την προβλεπτική και προγνωστική σημασία εργαστηριακών παραμέτρων όπως το CEA και CA 19.9 αλλά και κλινικών παραγόντων όπως η βελτιωμένη κατάσταση ικανότητας και η απουσία απώλειας βάρους, αναιμίας, θρομβοπενίας, βλεννογονίτιδας και κόπωσης (183-188).

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση ανεξάρτητοι δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες ήταν ο υψηλός βαθμός πλοειδίας, η ύπαρξη οστικών μεταστάσεων, η χορήγηση ερυθροποιητίνης και η ύπαρξη σχετιζόμενων με την θεραπεία παρενεργειών όπως η ανορεξία, η βλεννογονίτιδα και η απώλεια βάρους. Οι ασθενείς με βαθμό πλοειδίας 2.2-3.6 είχαν 2.94 φορές και οι ασθενείς με >3.6 είχαν 4.98 φορές υψηλότερη πιθανότητα θανάτου αντίστοιχα, σε σύγκριση με εκείνους τους ασθενείς που είχαν βαθμό πλοειδίας <2.2.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη αυτή αντιπροσωπεύει μια εμπεριστατωμένη ανάλυση μοριακών, κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων με πιθανό προβλεπτικό ή προγνωστικό ρόλο σε ασθενείς με μεταστατικό ΟΚΚ που λαμβάνουν παρηγορητική χημειοθεραπεία. Η μελέτη υπογραμμίζει τον προβλεπτικό και προγνωστικό ρόλο καθιερωμένων παραγόντων όπως ο βαθμός πλοειδίας, καρκινικοί δείκτες όπως το CEA και CA 19.9

και η καλή κατάσταση ικανότητας. Περαιτέρω ανάλυση θα πρέπει να διεξαχθεί προκειμένου να αναγνωρισθεί η προβλεπτική και προγνωστική σημασία των προγονικών κυττάρων σε ασθενείς με μεταστατικό ΟΚΚ. Τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες πληθυσμού σε προοπτική βάση πρέπει να διεξαχθούν προκειμένου να αξιολογηθεί το καλύτερο μοντέλο δεικτών που θα επιτρέψει μια εξατομικευμένη θεραπευτική διαδικασία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση των προγονικών κυττάρων, της πλοειδίας και άλλων παραμέτρων σε σταδίου IV ορθοκολικό καρκίνο. Μελετήθηκαν αναδρομικά 100 ασθενείς και 24 παράμετροι συσχετίστηκαν με την ανταπόκριση στη θεραπεία και την επιβίωση των ασθενών. Διαπιστώθηκαν ότι χαμηλές τιμές πλοειδίας στον ιστό του ορθοκολικού καρκίνου συσχετίστηκαν με βελτίωση της κλινικής εικόνας και ανταπόκριση στη θεραπεία. Δεν διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των προγονικών κυττάρων στο ίδιο ιστολογικό παρασκεύασμα και στις υπόλοιπες κλινικές παραμέτρους. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση κατά Cox, όλων των υπό εξέταση μεταβλητών, ανεξάρτητοι δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες ήταν οι αυξημένες τιμές πλοειδίας, η ύπαρξη οστικών μεταστάσεων, η χορήγηση ερυθροποιητίνης και η ύπαρξη παρενεργειών όπως ανορεξία, βλεννογονίτιδα και απώλεια βάρους.

Τα ευρήματά μας τονίζουν τον προγνωστικό ρόλο της πλοειδίας σε προχωρημένο καρκίνο ορθού, ωστόσο περαιτέρω ανάλυση απαιτείται για να αξιολογηθεί ο ρόλος των προγονικών κυττάρων.

ABSTRACT

The aim of the present study was the evaluation of the influence of cancer stem cells, ploidy and other parameters in stage IV colorectal cancer patients. One hundred patients were retrospectively included in the study and 24 variables were examined for their relation with response to treatment and survival. A low ploidy score in the histology of colorectal cancer was associated with improvement of performance status and response to therapy. No significant correlations between the percentage of cancer stem cells from the same tissue and the remaining clinical parameters was revealed. In the multivariate analysis of all the examined parameters in Cox models, independent unfavorable prognostic factors were increased ploidy score, existence of bone metastases, use of epoetin, and existence of side-effects such as anorexia, mucositis, and weight loss. Our findings emphasize on the prognostic role of ploidy in advanced colorectal cancer, but further analysis is required to evaluate the role of cancer stem cells.

ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ

Η συγκεκριμένη μελέτη υποστηρίχθηκε από τον ΕΛΚΕ του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

BIBΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. World Health Organization
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/en/>
2. Eddy DM. Screening for colorectal cancer. *Ann Intern Med.* 1990 Sep 1;113(5):373-84. PMID: 2200321
3. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60:277.
4. Thörn M, Bergström R, Kressner U, et al. Trends in colorectal cancer incidence in Sweden 1959-93 by gender, localization, time period, and birth cohort. *Cancer Causes Control* 1998; 9:145.
5. Stewart RJ, Stewart AW, Turnbull PR, Isbister WH. Sex differences in subsite incidence of large-bowel cancer. *Dis Colon Rectum* 1983; 26:658.
6. Mamazza J, Gordon PH. The changing distribution of large intestinal cancer. *Dis Colon Rectum* 1982; 25:558.
7. Vukasin AP, Ballantyne GH, Flannery JT, et al. Increasing incidence of cecal and sigmoid carcinoma. Data from the Connecticut Tumor Registry. *Cancer* 1990; 66:2442
8. Steinheber FU. Rightward shift of colon cancer. A feature of the aging gut. *J Clin Gastroenterol* 1986; 8:630.
9. Rembacken BJ, et al. Flat and depressed colonic neoplasms: a prospective study of 1000 colonoscopies in the UK. *Lancet* 2000; 355: 1211-4.
10. Spring KJ, et al. High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy. *Gastroenterology* 2006; 131: 1400-7.

11. American Cancer Society, Cancer Facts and Figures, 2008.
<http://www.cancer.org/downloads/STT/2008CAFFfinalsecured.pdf>
12. Burt RW, DiSario JA, Cannon-Albright L. Genetics of colon cancer: impact of inheritance on colon cancer risk. *Annu Rev Med* 1995; 46:371.
13. Lynch HT, Smyrk TC, Watson P, et al. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterology* 1993; 104:1535.
14. Ponz de Leon M, Sassatelli R, Benatti P, Roncucci L. Identification of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in the general population. The 6-year experience of a population-based registry. *Cancer* 1993; 71:3493.
15. Parry S, Win AK, Parry B, et al. Metachronous colorectal cancer risk for mismatch repair gene mutation carriers: the advantage of more extensive colon surgery. *Gut* 2011; 60:950.
16. Jenkins MA, Baglietto L, Dowty JG, et al. Cancer risks for mismatch repair gene mutation carriers: a population-based early onset case-family study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4:489.
17. Atkin WS, Morson BC, Cuzick J. Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenomas. *N Engl J Med* 1992; 326:658.
18. Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al. Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1996; 334:82.
19. Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, et al. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:739.
20. Dyson JK, Rutter MD. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: what is the real magnitude of the risk? *World J Gastroenterol*. 2012 Aug 7;18(29):3839-48. PMID:22876036

21. Svrcek M, Cosnes J, Beaugerie L, Parc R, Bennis M, Tiret E, Fléjou JF. Colorectal neoplasia in Crohn's colitis: a retrospective comparative study with ulcerative colitis. *Histopathology*. 2007 Apr;50(5):574-83. PMID:17394493
22. Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Zauber AG, et al. Individualizing colonoscopy screening by sex and race. *Gastrointest Endosc* 2009; 70:96.
23. Delhougne B, Deneux C, Abs R, et al. The prevalence of colonic polyps in acromegaly: a colonoscopic and pathological study in 103 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3223.
24. Park JM, Choi MG, Kim SW, et al. Increased incidence of colorectal malignancies in renal transplant recipients: a case control study. *Am J Transplant* 2010; 10:2043.
25. Inoue M, Iwasaki M, Otani T, et al. Diabetes mellitus and the risk of cancer: results from a large-scale population-based cohort study in Japan. *Arch Intern Med* 2006; 166:1871.
26. Nilsen TI, Vatten LJ. Prospective study of colorectal cancer risk and physical activity, diabetes, blood glucose and BMI: exploring the hyperinsulinaemia hypothesis. *Br J Cancer* 2001; 84:417.
27. He J, Stram DO, Kolonel LN, et al. The association of diabetes with colorectal cancer risk: the Multiethnic Cohort. *Br J Cancer* 2010; 103:120.
28. Gillessen S, Templeton A, Marra G, et al. Risk of colorectal cancer in men on long-term androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102:1760.
29. Reid FD, Mercer PM, Harrison M, Bates T. Cholecystectomy as a risk factor for colorectal cancer: a meta-analysis. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31:160.
30. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348:1625.

31. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, et al. Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. *Ann Intern Med* 2004; 140:603.
32. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, et al. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* 2008; 300:2765.
33. Wolin KY, Yan Y, Colditz GA, Lee IM. Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2009; 100:611.
34. Kim YI, Mason JB. Nutrition chemoprevention of gastrointestinal cancers: a critical review. *Nutr Rev* 1996; 54:259
35. Lee JE, Chan AT. Fruit, vegetables, and folate: cultivating the evidence for cancer prevention. *Gastroenterology* 2011; 141:16.
36. Geelen A, Schouten JM, Kamphuis C, et al. Fish consumption, n-3 fatty acids, and colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Epidemiol* 2007; 166:1116.
37. Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, et al. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2011; 377:31.
38. Chlebowski RT, Wactawski-Wende J, Ritenbaugh C, et al. Estrogen plus progestin and colorectal cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004; 350:991.
39. Poynter JN, Gruber SB, Higgins PD, et al. Statins and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005; 352:2184.
40. Bjelakovic G, Nagorni A, Nikolova D, et al. Meta-analysis: antioxidant supplements for primary and secondary prevention of colorectal adenoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:281.
41. Minsky BD. Clinicopathologic impact of colloid in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*. 1990 Aug;33(8):714-9.PMID: 2165455,

42. Böcker, Denk, Heitz, Παθολογική Ανατομική, τ.Π, Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης,2007
43. Κωστάκης Α., Σύγχρονη Χειρουργική- Διαγνωστική και θεραπευτική, τόμος ΙΙ, Ιατρικές εκδόσεις, Π.Χ. Πασχαλίδης, 2005
44. Doherty G., Way L., Current, Σύγχρονη Χειρουργική-Διάγνωση και Θεραπεία, τ.2, Π.Χ. Πασχαλίδης, 2006
45. Zacharakis M, Xynos ID, Lazaris A, Smaro T, Kosmas C, Dokou A, Felekouras E, Antoniou E, Polyzos A, Sarantonis J, Syrios J, Zografos G, Papalambros A, Tsavaris N Predictors of survival in stage IV metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2010 Feb;30(2):653-60.
46. Lee PY, Fletcher WS, Sullivan ES, Vetto JT. Colorectal cancer in young patients: characteristics and outcome. *Am Surg.* 1994 Aug;60(8):607-12. PMID: 8030817
47. Leff DR, Chen A, Roberts D, Grant K, Western C, Windsor AC, Cohen CR. Colorectal cancer in the young patient. *Am Surg.* 2007 Jan;73(1):42-7. PMID: 17249455
48. McMillan DC, McArdle CS. The impact of young age on cancer-specific and non-cancer-related survival after surgery for colorectal cancer: 10-year follow-up. *Br J Cancer.* 2009 Aug 18;101(4):557-60 PMID: 19672260
49. McMillan DC, Hole DJ, McArdle CS. The impact of old age on cancer-specific and non-cancer-related survival following elective potentially curative surgery for Dukes A/B colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2008 Oct 7;99(7):1046-9. Epub 2008 Sep 16. PMID: 18797465
50. Press OA, Zhang W, Gordon MA, Yang D, Lurje G, Iqbal S, El-Khoueiry A, Lenz HJ. Gender-related survival differences associated with EGFR polymorphisms in metastatic colon cancer. *Cancer Res.* 2008 Apr 15;68(8):3037-42. PMID: 18413774

51. Mostafa G, Matthews BD, Norton HJ, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. Influence of demographics on colorectal cancer. *Am Surg.* 2004 Mar;70(3):259-64. PMID: 15055851
52. Van Leeuwen BL, Pählman L, Gunnarsson U, Sjövall A, Martling A. The effect of age and gender on outcome after treatment for colon carcinoma. A population-based study in the Uppsala and Stockholm region. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008 Sep;67(3):229-36. Epub 2008 Apr 28. PMID: 18440820
53. Jullumstrø E, Lydersen S, Møller B, Dahl O, Edna TH. Duration of symptoms, stage at diagnosis and relative survival in colon and rectal cancer. *Eur J Cancer.* 2009 Sep;45(13):2383-90. Epub 2009 Apr 6. PMID: 19356923
54. Chen HS, Sheen-Chen SM. Obstruction and perforation in colorectal adenocarcinoma: an analysis of prognosis and current trends. *Surgery.* 2000 Apr;127(4):370-6. PMID: 10776426
55. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer.* 1986 May 1;57(9):1866-70. PMID: 3485470
56. Goldstein MJ, Mitchell EP. Carcinoembryonic antigen in the staging and follow-up of patients with colorectal cancer. *Cancer Invest.* 2005;23(4):338-51. PMID: 16100946
57. Bannura G, Cumsille MA, Contreras J, Barrera A, Melo C, Soto D. Carcinoembryonic antigen (CEA) as an independent prognostic factor in colorectal carcinoma. *Rev Med Chil.* 2004 Jun;132(6):691-700. PMID: 15332370
58. Takagawa R, Fujii S, Ohta M, Nagano Y, Kunisaki C, Yamagishi S, Osada S, Ichikawa Y, Shimada H. Preoperative serum carcinoembryonic antigen level as a predictive factor of recurrence after curative resection of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2008 Dec;15(12):3433-9. doi: 10.1245/s10434-008-0168-8. Epub 2008 Oct 10. PMID: 18846401

59. Preoperative serum carcinoembryonic antigen level as a predictive factor of recurrence after curative resection of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2008 Dec;15(12):3433-9. Epub 2008 Oct 10. PMID: 18846401
60. Park JW, Lim SB, Kim DY, Jung KH, Hong YS, Chang HJ, Choi HS, Jeong SY. Carcinoembryonic antigen as a predictor of pathologic response and a prognostic factor in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative chemoradiotherapy and surgery. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009 Jul 1;74(3):810-7. Epub 2008 Dec 26. PMID: 19101093
61. Park IJ, Choi GS, Jun SH. Prognostic value of serum tumor antigen CA19-9 after curative resection of colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2009 Oct;29(10):4303-8. PMID: 19846991
62. Formica V, Massara MC, Portarena I, Fiaschetti V, Grenga I, Del Vecchio Blanco G, Sileri P, Tosetto L, Skoulidis F, Pallone F, Roselli M. Role of CA19.9 in predicting bevacizumab efficacy for metastatic colorectal cancer patients. *Cancer Biomark*. 2009;5(4):167-75. PMID: 19729826
63. Bondi J, Pretorius M, Bukho lm I, Danielsen H. Large-scale genomic instability in colon adenocarcinomas and correlation with patient outcome. *APMIS*. 2009 Oct;117(10):730-6. PMID: 19775341
64. Loriot Y, Mordant P, Deutsch E, Olausson KA, Soria JC. Are RAS mutations predictive markers of resistance to standard chemotherapy? *Nat Rev Clin Oncol*. 2009 Sep;6(9):528-34. Epub 2009 Jul 14. Review. PMID: 19597509
65. Linardou H, Dahabreh IJ, Kanaloupiti D, Siannis F, Bafaloukos D, Kosmidis P, Papadimitriou CA, Murray S. Assessment of somatic k-RAS mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targeted agents: a systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small-cell lung cancer and metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol*. 2008 Oct;9(10):962-72. Epub 2008 Sep 17. Review. PMID: 18804418
66. Iacopetta B. TP53 mutation in colorectal cancer. *Hum Mutat*. 2003 Mar;21(3):271-6. PMID: 12619112

67. Russo A, Bazan V, Iacopetta B, Kerr D, Soussi T, Gebbia N; TP53-CRC Collaborative Study Group. The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 20;23(30):7518-28. Epub 2005 Sep 19.
68. Godai TI, Suda T, Sugano N, Tsuchida K, Shiozawa M, Sekiguchi H, Sekiyama A, Yoshihara M, Matsukuma S, Sakuma Y, Tsuchiya E, Kameda Y, Akaike M, Miyagi Y. Identification of colorectal cancer patients with tumors carrying the TP53 mutation on the codon 72 proline allele that benefited most from 5-fluorouracil (5-FU) based postoperative chemotherapy. *BMC Cancer*. 2009 Dec 2;9(1):420. [Epub ahead of print] PMID: 19954513
69. Oden-Gangloff A, Di Fiore F, Bibeau F, Lamy A, Bougeard G, Charbonnier F, Blanchard F, Tougeron D, Ychou M, Boissière F, Le Pessot F, Sabourin JC, Tuech JJ, Michel P, Frebourg T. TP53 mutations predict disease control in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab-based chemotherapy. *Br J Cancer*. 2009 Apr 21;100(8):1330-5. PMID: 19367287
70. Molleví DG, Serrano T, Ginestà MM, Valls J, Torras J, Navarro M, Ramos E, Germà JR, Jaurieta E, Moreno V, Figueras J, Capellà G, Villanueva A. Mutations in TP53 are a prognostic factor in colorectal hepatic metastases undergoing surgical resection. *Carcinogenesis*. 2007 Jun;28(6):1241-6. Epub 2007 Jan 27. PMID: 17259658
71. Martínez-López E, Abad A, Font A, Monzó M, Ojanguren I, Pifarré A, Sánchez JJ, Martín C, Rosell R. Allelic loss on chromosome 18q as a prognostic marker in stage II colorectal cancer. *Gastroenterology*. 1998 Jun;114(6):1180-7. PMID: 960975
72. Ogino S, Nosho K, Irahara N, Shima K, Baba Y, Kirkner GJ, Meyerhardt JA, Fuchs CS. Prognostic significance and molecular associations of 18q loss of heterozygosity: a cohort study of microsatellite stable colorectal cancers. *J Clin Oncol*. 2009 Sep 20;27(27):4591-8. Epub 2009 Aug 24. PMID: 19704056

73. Ogino S, Kawasaki T, Kirkner GJ, Ohnishi M, Fuchs CS. 18q loss of heterozygosity in microsatellite stable colorectal cancer is correlated with CpG island methylator phenotype-negative (CIMP-0) and inversely with CIMP-low and CIMP-high. *BMC Cancer*. 2007 May 2;7:72. PMID: 17474983
74. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2005 Jan 20;23(3):609-18. PMID: 15659508
75. Chou CL, Lin JK, Wang HS, Yang SH, Li AF, Chang SC. Microsatellite instability screening should be done for right-sided colon cancer patients less than 60 years of age. *Int J Colorectal Dis*. 2009 Oct 22. [Epub ahead of print] PMID: 19847445
76. Soong R, Shah N, Salto-Tellez M, Tai BC, Soo RA, Han HC, Ng SS, Tan WL, Zeps N, Joseph D, Diasio RB, Iacopetta B. Prognostic significance of thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidine phosphorylase protein expression in colorectal cancer patients treated with or without 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Ann Oncol*. 2008 May;19(5):915-9. Epub 2008 Feb 1. PMID: 18245778
77. Meguid RA, Slidell MB, Wolfgang CL, Chang DC, Ahuja N. Is there a difference in survival between right- versus left-sided colon cancers? *Ann Surg Oncol*. 2008 Sep;15(9):2388-94. Epub 2008 Jul 12. PMID: 18622647
78. Wray CM, Ziogas A, Hinojosa MW, Le H, Stamos MJ, Zell JA. Tumor subsite location within the colon is prognostic for survival after colon cancer diagnosis. *Dis Colon Rectum*. 2009 Aug;52(8):1359-66. PMID: 19617745
79. Bjerkeset T, Morild I, Mørk S, Søreide O. Tumor characteristics in colorectal cancer and their relationship to treatment and prognosis. *Dis Colon Rectum*. 1987 Dec;30(12):934-8. PMID: 3691264
80. Mekenkamp LJ, van Krieken JH, Marijnen CA, van de Velde CJ, Nagtegaal ID; for the Pathology Review Committee and the Co-operative Clinical Investigators. Lymph Node Retrieval in Rectal Cancer is Dependent on Many Factors-

the Role of the Tumor, the Patient, the Surgeon, the Radiotherapist, and the Pathologist. *Am J Surg Pathol*. 2009 Aug 3. PMID: 19661781

81. Díaz-Plasencia J, Tantaleán E, Urtecho F, Guzmán C, Angulo M, Carranza C, Tuesta E. Colorectal cancer: its clinical picture and survival *Rev Gastroenterol Peru*. 1996 Jan-Apr;16(1):48-56. PMID: 8664487

82. Bjerkeset T, Morild I, Mørk S, Søreide O.umor characteristics in colorectal cancer and their relationship to treatment and prognosis. . *Dis Colon Rectum*. 1987 Dec;30(12):934-8. PMID: 3691264

83. Miyamoto S, Boku N, Fujii T, Ohtsu A, Matsumoto S, Tajiri H, Yoshida S, Arai T, Ono M, Hasebe T, Ochiai A. Macroscopic typing with wall stricture sign may reflect tumor behaviors of advanced colorectal cancers. *J Gastroenterol*. 2001 Mar;36(3):158-65. PMID: 11291878

84. Heiss MM, Mempel W, Delanoff C, Jauch KW, Gabka C, Mempel M, Dieterich HJ, Eissner HJ, Schildberg FW Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J Clin Oncol*. 1994 Sep;12(9):1859-67. PMID: 8083709

85. Lobaziewicz W, Kołodziejki L. The impact of homologous packed red blood cell transfusion on patients' survival after radical surgical treatment of colorectal cancer. *Acta Chir Belg*. 2008 Sep-Oct;108(5):524-31. PMID: 19051460

86. Danielsen HE, Pradhan M, Novelli M. Revisiting tumour aneuploidy – the place of assessment in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016 May;13(5):291-304. doi: 10.1038/nrclinonc.2015.208. Epub 2015 Nov 24. Review. PMID: 26598944

87. Laubert T, Bente V, Freitag-Wolf S, Voulgaris H, Oberländer M, Schillo K, Kleemann M, Bürk C, Bruch HP, Roblick UJ, Habermann JK. Aneuploidy and elevated CEA indicate an increased risk for metachronous metastasis in colorectal cancer. *Int. J. Colorectal Dis*. 28, 767–775 (2013). PubMed Article Google Scholar

88. Grabsch, H., Kerr, D. & Quirke, P. Is there a case for routine clinical application of ploidy measurements in gastrointestinal tumours? *Histopathology* 45, 312–334 (2004). CAS PubMed Article Google Scholar
89. Newburger, D. E. , Kashef-Haghighi D, Weng Z, Salari R, Sweeney RT, Brunner AL, Zhu SX, Guo X, Varma S, Troxell ML, West RB, Batzoglou S, Sidow A. Genome evolution during progression to breast cancer. *Genome Res.* 23, 1097–1108 (2013). CAS PubMed Article Google Scholar
90. Kaern, J., Tropé, C. G., Kristensen, G. B., Abeler, V. M. & Pettersen, E. O. DNA ploidy; the most important prognostic factor in patients with borderline tumors of the ovary. *Int. J. Gynecol. Cancer* 3, 349–358 (1993). PubMed Article Google Scholar
91. Chapman, M. A., Hardcastle, J. D. & Armitage, N. C. Five-year prospective study of DNA tumor ploidy and colorectal cancer survival. *Cancer* 76, 383–387 (1995). CAS PubMed Article Google Scholar
92. Kay, E. W., Mulcahy, H. E., Curran, B., O'Donoghue, D. P. & Leader, M. An image analysis study of DNA content in early colorectal cancer. *Eur. J. Cancer* 32A, 612–616 (1996). Google Scholar
93. Garrity M.M, Burgart LJ, Mahoney MR, Windschitl HE, Salim M, Wiesenfeld M, Krook JE, Michalak JC, Goldberg RM, O'Connell MJ, Furth AF, Sargent DJ, Murphy LM, Hill E, Riehle DL, Meyers CH, Witzig TE. Prognostic value of proliferation, apoptosis, defective DNA mismatch repair, and p53 overexpression in patients with resected Dukes' B2 or C colon cancer: a North Central Cancer Treatment Group Study. *J. Clin. Oncol.* 22, 1572–1582 (2004) CAS PubMed Article Google Scholar
94. LJ Kleinsmith, GB Pierce Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells

Cancer Res, 24 (1964), pp. 1544–1552

95. J Cairns Mutation selection and the natural history of cancer

Nature, 255 (1975), pp. 197–200

96. IJ Fidler, IR Hart Biological diversity in metastatic neoplasms: origins and implications

Science, 217 (1982), pp. 998–1003

97. L Olsson. Phenotypic diversity of malignant cell populations: molecular mechanisms and biological significance Cancer Rev, 3 (1986), pp. 91–114

98. HM Blau, TR Brazelton, JM Weimann The evolving concept of a stem cell: entity or function? Cell, 105 (2001), pp. 829–841

99. LA Liotta, U Wewer, NC Rao et al. Biochemical mechanisms of tumor invasion and metastases Prog Clin Biol Res, 256 (1988), pp. 3–16

100. EC Kohn, EA Francis, LA Liotta, E Schiffmann Heterogeneity of the motility responses in malignant tumor cells: a biological basis for the diversity and homing of metastatic cells Int J Cancer, 46 (1990), pp. 287–292

101. S Pathak Cytogenetic abnormalities in cancer: with special emphasis on tumor heterogeneity Cancer Metastasis Rev, 8 (1990), pp. 299–318

102. Wicha MS, Liu S, Dontu G: Cancer stem cells: An old idea—A paradigm shift. Cancer Res 66:1883-1890, 2006

103. Hamburger AW, Salmon SE: Primary bioassay of human tumor stem cells. Science 197:461-463, 1977

104. Molofsky AV, Pardal R, Morrison SJ: Diverse mechanisms regulate stem cell self-renewal. Curr Opin Cell Biol 16:700-707, 2004

105. Boman BM, Wicha M, Fields JZ, et al: Symmetric division of cancer stem cells: A key mechanism in tumor growth that should be targeted in future therapeutic approaches. Clin Pharmacol Ther 81:893-898, 2007

106. Brabletz T, Jung A, Spaderna S, et al: Migrating cancer stem cells: An integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer* 5:744-749, 2005
107. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al: Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 414:105-111, 2001
108. Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ: Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 3:895-902, 2003
109. Elyer CE, Rich JN: Survival of the fittest: Cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis. *J Clin Oncol* 26:2839-2845, 2008
110. Dingli D, Michor F: Successful therapy must eradicate cancer stem cells. *Stem Cells* 24:2603-2610, 2006
111. Kern S, Shibata D: The fuzzy math of solid tumor stem cells: A perspective? *Cancer Res* 67:9885-9888, 2007
112. Marotta LL, et al. Cancer stem cells: a model in the making. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2009;19:44-50.
113. Klonisch T, et al. Cancer stem cell markers in common cancers—therapeutic implications. *Trends Mol. Med.* 2008;14:450-460.
114. Werbowetski-Ogilvie TE, et al. Pluripotent human stem cell lines: what we can learn about cancer initiation. *Trends Mol. Med.* 2008;14:323-332.
115. Polyak K, et al. Roots and stems: stem cells in cancer. *Nat. Med.* 2006;12:296-300.
116. Morrison SJ, et al. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell* 2008;132:598-611.
117. Ying QL, et al. The ground state of embryonic stem cell self-renewal. *Nature* 2008;453:519-523.
118. Yu J, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007;318:1917-1920.

119. Dalerba P, et al. Cancer stem cells: models and concepts. *Annu. Rev. Med.* 2007;58:267-284.
120. Zhou J, et al. Cancer stem cells: models, mechanisms and implications for improved treatment. *Cell Cycle* 2008;7:1360-1370.
121. Reya T, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-111.
122. Baumann M, et al. Cancer stem cells and radiotherapy. *Int. J. Radiat. Biol.* 2009;85:391-402.
123. Cahill DP, et al. Genetic instability and darwinian selection in tumours. *Trends Cell Biol.* 1999;9:M57-M60.
124. Shipitsin M, et al. The cancer stem cell hypothesis: in search of definitions, markers, and relevance. *Lab. Invest.* 2008;88:459-463.
125. Goymer P. Natural selection: the evolution of cancer. *Nature* 2008;454:1046-1048.
126. Grady WM, Markowitz S. Genomic instability and colorectal cancer. *Curr Opin Gastroenterol.* 2000 Jan;16(1):62-7. PMID: 17024019
127. Walther A, Houlston R, Tomlinson I. Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut.* 2008 Jul;57(7):941-50. Epub 2008 Mar 25. PMID: 18364437
128. Georgiades IB, Curtis LJ, Morris RM, Bird CC, Wyllie AH. Heterogeneity studies identify a subset of sporadic colorectal cancers without evidence for chromosomal or microsatellite instability. *Oncogene* 1999;18:7933-40. PMID: 10637503
129. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JPJ. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:8681 PMID: 10547343
130. Issa JP. Colon cancer: it's CIN or CIMP. *Clin Cancer Res.* 2008 Oct 1;14(19):5939-40. PMID: 18829469

131. Issa JP. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4:988–93. PMID: 15573120
132. Cheng Y-W, Pincas H, Bacolod M, et al. CpG island methylator phenotype associates with low-degree chromosomal abnormalities in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:6005–13. PMID: 18829479
133. Shen L, Toyota M, Kondo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:18654–9. PMID: 18003927
134. Hamilton SR. Targeted therapy of cancer: new roles for pathologists in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2008;21 Suppl 2:S23–30. PMID: 18437170
135. Shen L, Toyota M, Kondo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:18654–9. PMID: 18003927
136. Peyssonnaud, C. & Eychène, A. The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation. *Biol. Cell* 93, 53-62 (2001) PMID: 11730323
137. Kolch, W. Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochem. J.* 351, 289-305 (2000) PMID: 11023813
138. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002 Jun 27;417(6892):949-54. Epub 2002 Jun 9. PMID: 12068308
139. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/BRAFID828.html>
140. Marais R, Light Y, Paterson HF, Mason CS, Marshall CJ Differential regulation of Raf-1, A-Raf, and B-Raf by oncogenic ras and tyrosine kinases. *J Biol Chem* 1997 Feb 14;272(7):4378-4383. PMID: 9020159
141. Sithanandam G, Druck T, Cannizzaro LA, Leuzzi G, Huebner K, Rapp UR (April 1992). "B-raf and a B-raf pseudogene are located on 7q in man". *Oncogene* 7 (4): 795–9. PMID 1565476

142. Koinuma K, Shitoh K, Miyakura Y, Furukawa T, Yamashita Y, Ota J, Ohki R, Choi YL, Wada T, Konishi F, Nagai H, Mano H. Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas. *Int J Cancer*. 2004 Jan 10;108(2):237-42. PMID: 14639609
143. Schmidt J, Derr V, Heinrich MC, Crum CP, Fletcher JA, Corless CL, Nosé V. BRAF in papillary thyroid carcinoma of ovary (struma ovarii). *Am J Surg Pathol*. 2007 Sep;31(9):1337-43. PMID: 17721188
144. Kim IJ, Park JH, Kang HC, Shin Y, Park HW, Park HR, Ku JL, Lim SB, Park JG. Mutational analysis of BRAF and K-ras in gastric cancers: absence of BRAF mutations in gastric cancers. *Hum Genet*. 2003 Dec;114(1):118-20. Epub 2003 Sep 25. PMID: 14513361
145. Pappa KI, Choleza M, Markaki S, Giannikaki E, Kyroudi A, Vlachos G, Voulgaris Z, Anagnostou NP. Consistent absence of BRAF mutations in cervical and endometrial cancer despite KRAS mutation status. *Gynecol Oncol*. 2006 Mar;100(3):596-600. Epub 2005 Oct 26. PMID: 16256179
146. Rimoldi D, Salvi S, Liénard D, Lejeune FJ, Speiser D, Zografos L, Cerottini JC. Lack of BRAF mutations in uveal melanoma. *Cancer Res*. 2003 Sep 15;63(18):5712-5. PMID: 14522889
147. Tannapfel A, Sommerer F, Benicke M, Katalinic A, Uhlmann D, Witzigmann H, Hauss J, Wittekind C. Mutations of the BRAF gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma. *Gut*. 2003 May;52(5):706-12. PMID: 12692057
148. Kannengiesser C, Spatz A, Michiels S, Eychène A, Dessen P, Lazar V, Winnepenninckx V, Lesueur F, Druillennec S, Robert C, van den Oord JJ, Sarasin A, Bressac-de Paillerets B; EORTC Melanoma group. Gene expression signature associated with BRAF mutations in human primary cutaneous melanomas. *Mol Oncol*. 2008 Apr;1(4):425-30. Epub 2008 Jan 12. PMID: 19383316
149. Poynter JN, Elder JT, Fullen DR, Nair RP, Soengas MS, Johnson TM, Redman B, Thomas NE, Gruber SB. BRAF and NRAS mutations in melanoma and melanocytic nevi. *Melanoma Res*. 2006 Aug;16(4):267-73. PMID: 16845322

150. Imai K, Yamamoto H. Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. *Carcinogenesis*. 2008 Apr;29(4):673-80. Epub 2007 Oct 17. PMID: 17942460
151. Guoren Deng, Ian Bell, Suzanne Crawley, James Gum, Jonathan P. Terdiman, Brian A. Allen, Brindusa Truta, Marvin H. Sleisenger, and Young S. Kim. *BRAF* Mutation Is Frequently Present in Sporadic Colorectal Cancer with Methylated hMLH1, But Not in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer *Vol. 10, 191–195, January 1, 2004 Clinical Cancer Research*
152. Lagerstedt Robinson K, Liu T, Vandrovicova J, Halvarsson B, Clendenning M, Frebourg T, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Peltomäki P, Kolodner RD, Nilbert M, Lindblom A. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) diagnostics. *J Natl Cancer Inst*. 2007 Feb 21;99(4):291-9. PMID: 17312306
153. Jhaver M, Goel S, Wilson AJ, Montagna C, Ling YH, Byun DS, Nasser S, Arango D, Shin J, Klampfer L, Augenlicht LH, Perez-Soler R, Mariadason JM. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res*. 2008 Mar 15;68(6):1953-61. PMID: 18339877
154. King AJ, Patrick DR, Batorsky RS, Ho ML, Do HT, Zhang SY, Kumar R, Rusnak DW, Takle AK, Wilson DM (2006). "Demonstration of a genetic therapeutic index for tumors expressing oncogenic BRAF by the kinase inhibitor SB-590885". *Cancer Res* 66 (23): 11100-5. PMID 17145850.
155. Tsai J, Lee JT, Wang W, Zhang J, Cho H, Mamo S, Bremer R, Gillette S, Kong J, Haass NK, Sproesser K, Li L, Smalley KS, Fong D, Zhu YL, Marimuthu A, Nguyen H, Lam B, Liu J, Cheung I, Rice J, Suzuki Y, Luu C, Settachatgul C, Shellooe R, Cantwell J, Kim SH, Schlessinger J, Zhang KY, West BL, Powell B, Habets G, Zhang C, Ibrahim PN, Hirth P, Artis DR, Herlyn M, Bollag G (2008). "Discovery of a selective inhibitor of oncogenic B-Raf kinase with potent antimelanoma activity". *Proc Natl Acad Sci USA* 105 (8): 3041-6. PMID 18287029.

156. Sala E, Mologni L, Truffa S, Gaetano C, Bollag GE, Gambacorti-Passerini C. BRAF silencing by short hairpin RNA or chemical blockade by PLX4032 leads to different responses in melanoma and thyroid carcinoma cells. *Mol Cancer Res.* 2008 May;6(5):751-9. Epub 2008 May 5. PMID 18458053.
157. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer.* 2002 Jul;2(7):489-501.
158. Phillips WA, St Clair F, Munday AD, Thomas RJ, Mitchell CA. Increased levels of phosphatidylinositol 3-kinase activity in colorectal tumors. *Cancer.* 1998 Jul 1;83(1):41-7.
159. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Yan H, Gazdar A, Powell SM, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz S, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science.* 2004 Apr 23;304(5670):554. Epub 2004 Mar 11.
160. Lièvre A, Blons H, Laurent-Puig P. Oncogenic mutations as predictive factors in colorectal cancer. *Oncogene.* 2010 May 27;29(21):3033-43. Epub 2010 Apr 12. Review.
161. Barault L, Veyrie N, Jooste V, Lecorre D, Chapusot C, Ferraz JM, Lièvre A, Cortet M, Bouvier AM, Rat P, Roignot P, Faivre J, Laurent-Puig P, Piard F. Mutations in the RAS-MAPK, PI(3)K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers. *Int J Cancer.* 2008 May 15;122(10):2255-9.
162. Liao X, Morikawa T, Lochhead P, Imamura Y, Kuchiba A, Yamauchi M, Noshio K, Qian ZR, Nishihara R, Meyerhardt JA, Fuchs CS, Ogino S. Prognostic role of PIK3CA mutation in colorectal cancer: cohort study and literature review. *Clin Cancer Res.* 2012 Apr 15;18(8):2257-68. Epub 2012 Feb 22.
163. Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, Marrapese G, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Gambacorta M, Siena S, Bardelli A. Gene copy number for epidermal

growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol.* 2005 May;6(5):279-86.

164. De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, Kalogeras KT, Kotoula V, Papamichael D, Laurent-Puig P, Penault-Llorca F, Rougier P, Vincenzi B, Santini D, Tonini G, Cappuzzo F, Frattini M, Molinari F, Saletti P, De Dosso S, Martini M, Bardelli A, Siena S, Sartore-Bianchi A, Tabernero J, Macarulla T, Di Fiore F, Gangloff AO, Ciardiello F, Pfeiffer P, Qvortrup C, Hansen TP, Van Cutsem E, Piessevaux H, Lambrechts D, Delorenzi M, Tejpar S. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol.* 2010 Aug;11(8):753-62. Epub 2010 Jul 8.

165. Mao C, Yang ZY, Hu XF, Chen Q, Tang JL. PIK3CA exon 20 mutations as a potential biomarker for resistance to anti-EGFR monoclonal antibodies in KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol.* 2012 Jun;23(6):1518-25. Epub 2011 Oct 29. Review.

166. Liao X, Lochhead P, Nishihara R, Morikawa T, Kuchiba A, Yamauchi M, Imamura Y, Qian ZR, Baba Y, Shima K, Sun R, Nosho K, Meyerhardt JA, Giovannucci E, Fuchs CS, Chan AT, Ogino S. Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N Engl J Med.* 2012 Oct 25;367(17):1596-606. doi: 10.1056/NEJMoa1207756.

167. Song MS, Salmena L, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012 Apr 4;13(5):283-96. doi: 10.1038/nrm3330.

168. Keith T. Flaherty, M.D., Jeffery R. Infante, M.D., Adil Daud, M.D., Rene Gonzalez, M.D., Richard F. Kefford, M.D., et al Combined BRAF and MEK Inhibition in Melanoma with BRAF V600 Mutations *N Engl J Med* 2012; 367:1694-1703 November 1, 2012 DOI: 10.1056/NEJMoa1210093

169. Samowitz WS, Curtin K, Schaffer D, Robertson M, Leppert M, Slattery ML. Relationship of Ki-ras mutations in colon cancers to tumor location, stage, and survival: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:1193–7.
170. Brink M, de Goeij AF, Weijenberg MP, Roemen GM, Lentjes MH, Pachen MM, Smits KM, de Bruine AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA. K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Samowitz WS, Holden JA, Curtin K, Edwards SL, Walker AR, Lin HA, Robertson MA, Nichols MF, Gruenthal KM, Lynch BJ, Leppert MF, Slattery ML. Inverse relationship between microsatellite instability and K-ras and p53 gene alterations in colon cancer. *Am J Pathol* 2001;158:1517–24.
172. Bleeker WA, Hayes VM, Karrenbeld A, Hofstra RM, Hermans J, Buys CC, Plukker JT. Impact of KRAS and TP53 mutations on survival in patients with left- and right-sided Dukes' C colon cancer. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2953–7.
173. Elnatan J, Goh HS, Smith DR. C-KI-RAS activation and the biological behaviour of proximal and distal colonic adenocarcinomas. *Eur J Cancer A* 1996;32:491–7. *Carcinogenesis* 2003;24:703–10
174. Syrios J, Sougioultzis S, Xynos ID, Kavantzias N, Kosmas C, Agrogiannis G, Griniatsos J, Karavokyros I, Pikoulis E, Patsouris ES, Tsavaris N: Survival in patients with stage IV noncardia gastric cancer-the influence of DNA ploidy and Helicobacter pylori infection. *BMC Cancer* 12: 264, 2012. Cross Ref Medline Google Scholar
175. Chelidonis G, Kavantzias N, Patsouris E, Pagaki E, Athanasiadou AM, Agrogiannis G, Athanasiadou P: DNA ploidy, E-cadherin, beta-catenin expression and their clinicopathologic significance in imprints of non-small cell lung cancer. *Anal Quantit Cytol Histol* 31: 332-339, 2009. Google Scholar

176. Ou J, Deng J, Wei X, Xie G, Zhou R, Yu L, Liang H: Fibronectin extra domain A (EDA) sustains CD133(+)/CD44(+) subpopulation of colorectal cancer cells. *Stem Cell Res* 11(2): 820-833, 2013. [Cross Ref Medline Google Scholar](#)
177. Jiang X, Gweye Y, Russel D, Cao C, Douglas D, Hung L, Kovar H, Triche TJ, Lawlor ER: CD133 expression in chemoresistant Ewing sarcoma cells. *BMC Cancer* 10: 116-121, 2010. [Cross Ref Medline Google Scholar](#)
178. Shmelkov SV, Butler JM, Hooper AT, Hormigo A, Kusher J, Milde T, St Clair R, Baljevic M, White I, Jin DK, Chadburn A, Murphy AJ, Valenzuela DM, Gale NW, Thurston G, Yancopoulos GD, D'Angelica M, Kemeny N, Lyden D, Rafii S: CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133-metastatic colon cancer cells initiate tumors. *J Clin Invest* 118: 2111-2120, 2008. [Cross Ref Medline Google Scholar](#)
179. Li Z: CD133: A stem cell biomarker and beyond. *Exp Hematol Oncol* 2(1): 17, 2013. [Google Scholar](#)
180. Du L, Wang H, He L, Zhang J, Ni B, Wang X, Jin H, Cahuzak N, Mehrpour M, Lu Y, Chen Q: CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 14(21): 6751-6760, 2008. [Abstract/FREE Full Text](#)
181. Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, Liu R, Cho RW, Hoey T, Gurney A, Huang EH, Simeone DM, Shelton AA, Parmiani G, Casteli C, Clarke MF: Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(24): 10158-10163, 2007. [Abstract/FREE Full Text](#)
182. Lim SH, Jang J, Park JO, Kim KM, Kim ST, Park YS, Lee J, Kim HC: CD133-positive tumor cell content is a predictor of early recurrence in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol* 5(6): 447-456, 2014. [Medline Google Scholar](#)
183. Fang C, Fan C, Wang C, Huang Q, Meng W, Yu Y, Yang L, Hu J, Li Y, Mo X, Zhou Z: Prognostic value of CD133(+) CD54(+) CD44(+) circulating tumor cells in colorectal cancer with liver metastasis. *Cancer Med* 6(12): 2850-2857, 2017. [Google Scholar](#)

184. Grady WM, Carethers JM: Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 135: 1079-1099, 2008. Cross Ref Medline Google Scholar

185. Xynos ID, Kavantzias N, Tsaousi S, Zacharakis M, Agrogiannis G, Kosmas C, Lazaris A, Sarantonis J, Sougioultzis S, Tzivras D, Polyzos A, Patsouris ES and Tsavaris N: (2013) Factors Influencing survival in stage IV colorectal cancer: the influence of DNA ploidy. *ISRN Gastroenterology* 2013:490578

186. Karadima ML, Saetta AA, Chatziandreou I, Lazaris AC, Patsouris E, Tsavaris N: The prognostic influence of BRAF mutation and other molecular, clinical and laboratory parameters in stage IV colorectal cancer. *Pathol Oncol Res* 22(4): 707-714, 2016. Google Scholar

187. Eker B, Ozaslan E, Karaca H, Berk V, Bozkurt O, Inanc M, Duran AO, Ozkan M: Factors affecting prognosis in metastatic colorectal cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 16(7): 3015-3021, 2015. Google Scholar

188. Massacesi C, Pistilli B, Valeri M, Lippe P, Rocchi MB, Cellerino R, Piga A: Predictors of short-term survival and progression to chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based regimens. *Am J Clin Oncol* 25(2): 140-198, 2002. Google Scholar

189. Berretta M, Alessandrini L, De Divitiis C, Nasti G, Lleshi A, Di Francia, Facchini G, Cavaliere C, Buonerba C, Canzonieri V: Serum and tissue markers in colorectal cancer: State of art. *Crit Rev Oncol Hematol* 111: 103-116, 2017. Google Scholar

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής υπό την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του Συγγραφέα.