

**ΑΝΕΥΡΕΣΗ ΝΕΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ
ΚΑΙ ΕΓΚΑΙΡΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ Ή ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ
ΒΛΑΒΩΝ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΟΥ
ΕΛΕΓΧΟΥ ΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
του Μιχαήλ Π. Γαλανόπουλου
Γαστρεντερολόγου
Στρατιωτικού Ιατρού

ΑΘΗΝΑ 2020

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Γενικά στοιχεία

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	9
Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ.....	11
ABSTRACT.....	13
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	14
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	15
1.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	15
1.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	16
1.2.1 Γεωγραφική κατανομή ΚΠΕ.....	17
1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ... 19	
1.3.1 Γενετικοί παράγοντες.....	19
1.3.2 Κληρονομούμενα σύνδρομα.....	19
1.3.3 Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα Εντέρου.....	20
1.3.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	21
1.3.5 Προστατευτικοί παράγοντες έναντι ΚΠΕ.....	22
1.4 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....	23
1.4.1 “Κλασικό” μοντέλο εξέλιξης προς ΚΠΕ.....	25
1.4.2 Άμισχοι οδοντωτοί πολύποδες.....	25
1.4.3 Μοριακά μονοπάτια ΚΠΕ.....	27
1.4.4 Η μεθυλίωση του DNA και ο ρόλος της στην καρκινογένεση του ΚΠΕ..	37
1.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ.....	39
1.5.1 Κολοσκόπηση.....	42
1.5.2 Σιγμοειδοσκόπηση.....	44
1.5.3 Δοκιμασίας ανίχνευσης αιμοσφαιρίνης στα κόπρανα.....	44
1.5.4 Ενδοσκοπική κάψουλα.....	44
1.5.5 CT κολογραφία.....	46
1.5.6 Βιοδείκτες ορθοκολικού καρκίνου.....	47

1.6	ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ	49
1.6.1	Ενδοσκόπηση	51
1.6.2	Προσυμπτωματικός έλεγχος γενικού πληθυσμού στην πράξη.....	53
1.7	ΤΟ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝ DNA ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	55
1.7.1	CfNAs και καρκίνος παχέος εντέρου.....	55
1.7.2	Μέθοδοι ανίχνευσης των σχετιζόμενων με μεθυλίωση δεικτών του κυκλοφορούντος DNA στο αίμα.....	56
1.7.3	Βιοδείκτες κυκλοφορούντος DNA	57
1.7.4	Παθολογική μεθυλίωση του DNA: βιοδείκτης κυκλοφορούντος DNA...	62
1.7.5	Σκέψεις και διλήματα πριν την ανάλυση του κυκλοφορούντος DNA	68
1.8	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	69
2.	ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	70
2.1	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	70
2.2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	70
2.2.1	Συμμετέχοντες και δείγματα.....	70
2.2.2	Γονοτυπική ανάλυση	72
2.2.3	Στατιστική ανάλυση	73
2.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	73
3.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	78
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	83
5.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	84
6.	ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ ΓΑΛΑΝΟΠΟΥΛΟΥ ΜΙΧΑΗΛ	118

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αφιερώνεται στους γονείς μου, τα αδέρφια μου και στα κορίτσια της ζωής μου, την Ελισάβετ και τη Μελίνα που με ανυπέρβλητη αγάπη και υπομονή στέκονται πλάι μου για να συνεχίζω να μαθαίνω και να εργάζομαι για τον άνθρωπο και τις ανάγκες του.

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κ.κ. Παπανικολάου Ι., Παπαθεοδωρίδη Γ. και κα. Γαζούλη Μ. καθώς υπήρξαν υποστηρικτές και αρωγοί όλου αυτού του εγχειρήματος. Ο Αναπληρωτής Καθηγητής κ. Παπανικολάου Ιωάννης ήταν αυτός που αρχικά μου εμπιστεύτηκε την παρούσα διδακτορική διατριβή προσπαθώντας συνεχώς να συντονίσει όλες τις απαραίτητες διαδικασίες και τον ευχαριστώ ιδιαίτερα για αυτό. Ο Καθηγητής κ. Παπαθεοδωρίδης Γεώργιος ήταν πάντα δίπλα μου στα προβλήματα που ανέκυψαν κατά την διάρκεια της διατριβής μου και βοήθησε καθοριστικά στην ολοκλήρωσή της μέσω της εξαιρετικά πλούσιας ακαδημαϊκής εμπειρίας που κατέχει. Τέλος η Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Γαζούλη Μαρία αποτέλεσε την ψυχή του πειραματικού και συγγραφικού μέρους με τη μεγάλη της εμπειρία αλλά και την αστείρευτη διάθεσή της να επιτύχουμε το βέλτιστο δυνατό αποτέλεσμα. Υπήρξε η κινητήριος δύναμη για να ολοκληρωθεί η διατριβή στην ώρα της και με «στρατιωτική πειθαρχία» με έκανε ακόμα περισσότερο να αγαπήσω την επιστήμη μου, κάνοντας με πιο οργανωτικό, μεθοδικό και αποτελεσματικό. Καθοριστική ήταν επίσης η συμβολή των διευθυντών μου στον Ευαγγελισμό, του αείμνηστου κ. Καραμανώλη Δημητρίου, ο οποίος μου είχε εμπιστευτεί την παρούσα διατριβή και τον ευχαριστώ για ακόμη μία φορά και του Μάντζαρη Γεράσιμου μέσω της συνεχούς τους καθοδήγησης αλλά και της έμπρακτης χορήγησης όλων των απαραίτητων μέσων ώστε να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής, τους Αναπληρωτές Καθηγητές κ. Βεζάκη Αντώνιο, κ. Βλαχογιαννάκο Ιωάννη, κ. Καραμανώλη Γεώργιο και τον κ. Μανωλακόπουλο Σπήλιο, καθώς ο καθένας εξ αυτών μου έχει προσφέρει με τον τρόπο του και από το πόστο του γνώση, εμπειρία και μεθοδολογία επιστημονικής προσέγγισης της ιατρικής γνώσης και πληροφορίας. Δεν μπορώ παρά να μην πώ ένα μεγάλο ευχαριστώ και στους συναδέλφους μου, γιατρούς και νοσηλεύτες και νοσηλεύτριες στον Ευαγγελισμό και στο Λαϊκό Νοσοκομείο, που με την αμέριστη υποστήριξη τους με βοήθησαν και έτρεξαν

για να ολοκληρωθεί αυτή η επίπονη προσπάθεια. Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω όλους τους ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη, καθώς χωρίς τη δική τους συγκατάθεση δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί αυτή η διδακτορική διατριβή. Τέλος οφείλω να ευχαριστήσω από καρδιάς τους γονείς μου για την αμέριστη και συνεχή στήριξη όλα αυτά τα χρόνια, που υπάρχω και για ότι έχω καταφέρει μέχρι σήμερα.

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Τίτλος : «Ανεύρεση νέων μοριακών βιοδεικτών για την πρόληψη και έγκαιρη διάγνωση προκαρκινικών ή καρκινικών βλαβών παχέος εντέρου κατά την διάρκεια προληπτικού ελέγχου για καρκίνο παχέος εντέρου»

Ημερομηνία και αριθμός πρωτοκόλλου ορισμού της τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 15/06/2015 - 1415019007

Σύσταση Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

1. Παπανικολάου Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Επιβλέπων
2. Παπαθεοδωρίδης Γεώργιος, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
3. Γαζούλη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ημερομηνία ορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής: 23/07/2015

Ημερομηνία χορήγησης και αριθμός πρωτοκόλλου έγκρισης από την Επιτροπή Έρευνας και την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Λαϊκού Νοσοκομείου : 23/07/2015 - 10011

Κέντρο διεξαγωγής του πειραματικού τμήματος της μελέτης : Εργαστήριο Βιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εκθέσεις Προόδου :

1^η Έκθεση προόδου : 18/05/16 - ΑΠ 1516026158

2^η Έκθεση προόδου : 02/06/17- ΑΠ 1617028672

3^η Έκθεση προόδου : 28/06/18 - ΑΠ 1718032727

4^η Έκθεση προόδου : 05/08/19 - ΑΠ 1819041633

Σύσταση Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

1. Παπανικολάου Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ, Επιβλέπων
2. Παπαθεοδωρίδης Γεώργιος, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
3. Γαζούλη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
4. Βεζάκης Αντώνιος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
5. Βλαχογιαννάκος Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
6. Καραμανώλης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ
7. Μανωλακόπουλος Σπήλιος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

**Ορισμός 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής για την κρίση υποψηφίου
διδάκτορα: 08/10/19 – ΑΠ: 1920004409**

Επιτυχής διεκπεραίωση διδακτορικής διατριβής: 19/12/19

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὄμνυμι Απόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιόν, καὶ Υἱεῖαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἱστορας ποιεύμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε. Ἠγήσασθαι μὲν τον διδάξαντά με την τέχνην τούτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ οὐτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξῃν την τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἀνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμέ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοιῖσι τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδέ φάρμακον οὐδενι αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδέ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδέ γυναικι πεσσόν φθόριον δώσω. Ἄγνως δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τον ἐμόν καὶ τέχνην τήν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδέ μὴν λιθιώντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήσιος τήσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἀν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτός ἐών πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἐργῶν ἐπὶ τε γυναικειῶν σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἀν ἐν θεραπείῃ ἢ ἰδῶ, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἀνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἂ μὴ χρῆ ποτέ ἐκλαλέεσθαι ἐξω, σιγήσομαι, ἀρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὄρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ συγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τον αἰεὶ χρόνον, παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιόρκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Ὀρκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ἰατρό καὶ στο θεό Ἀσκληπιό καὶ στην Υἱεῖα καὶ στην Πανάκεια καὶ επικαλούμενος τη μαρτυρία ὅλων των θεῶν ὅτι θα ἐκτελέσω κατὰ τη δύναμη καὶ την κρίση μου τον ὄρκο αὐτόν καὶ τη συμφωνία αὐτή. Να θεωρῶ τον διδάσκαλό μου τῆς ἰατρικῆς τέχνης ἴσο με τους γονεῖς μου καὶ την κοινῶν του βίου μου. Καὶ ὅταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρῶ την οικογένειά του ἀδελφία μου καὶ να τους

διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία. Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο. Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη. Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης. Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραξένω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά. Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

ABSTRACT

Aim: Our aim was to perform a comparison study of the mutation rate of V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS), and v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog-B (BRAF) genes between blood-based cell-free DNA (cfDNA), and tissue sample biopsies in individuals undergoing screening colonoscopy. **Materials and Methods:** All specimens were collected from January 2015 to January 2016. A total of 92 blood samples and colonic biopsy specimens were collected from healthy individuals with no polyps undergoing screening colonoscopy (group A, n=35), patients with colorectal cancer (group B, n=27), and patients with neoplastic intestinal polyps (group C, n=30). Peripheral blood was collected from each patient and a focal tissue biopsy was conducted. **Results:** We only found a limited statistically significant difference ($p=0.046$) in the mutation analysis for codon 12 of the KRAS gene when we compared tissue biopsies from patients in group B to those from group C. In the blood samples, only the rate of mutation in codon 12 of the KRAS gene in samples of group B was significantly higher than that in group A ($p=0.013$). **Conclusion:** Blood cfDNA may be a promising tool in CRC screening as it may discriminate patients with CRC compared to healthy individuals and those with colonic polyps, even though it does not appear useful in predicting the presence of colonic polyps.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: σκοπός μας ήταν να πραγματοποιήσουμε μια μελέτη σύγκρισης του ρυθμού μετάλλαξης των V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) και v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog-B (BRAF) γονιδίων μεταξύ του κυκλοφορούντος DNA (cfDNA) σε δείγμα αίματος και στα ιστοτεμάχια από βιοψία παχέος εντέρου σε άτομα που υποβάλλονται σε προληπτική κολοσκόπηση. Υλικά και μέθοδοι: όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν μεταξύ Ιανουαρίου 2015 έως τον Ιανουάριο 2016. Συνολικά 92 δείγματα αίματος και δείγματα βιοψίας από υγιή άτομα χωρίς πολύποδες που υποβάλλονται σε προληπτική κολοσκόπηση (ομάδα Α, $n=35$), ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου (ΚΠΕ) (ομάδα Β, $n=27$), και ασθενείς με νεοπλασματικούς εντερικούς πολύποδες (Ομάδα Γ, $n=30$). Μικρή ποσότητα περιφερικού αίματος και ιστοτεμάχιο βιοψίας συλλέχθηκαν από κάθε ασθενή. Αποτελέσματα: βρήκαμε μόνο μια περιορισμένη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.046$) στην ανάλυση μετάλλαξης για το κωδικόνιο 12 του KRAS γονιδίου όταν συγκρίναμε βιοψίες ιστού παχέος εντέρου από ασθενείς της ομάδας Β με εκείνους της ομάδας Γ. Στα δείγματα αίματος, μόνο η συχνότητα μετάλλαξης στο κωδικόνιο 12 του γονιδίου KRAS σε δείγματα της ομάδας Β ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη της ομάδας Α ($p=0.013$). Συμπέρασμα: το cfDNA του αίματος μπορεί να είναι ένα ελπιδοφόρο εργαλείο στον προληπτικό έλεγχο για ΚΠΕ, καθώς μπορεί να διακρίνει ασθενείς με ΚΠΕ σε σύγκριση με υγιή άτομα και άτομα με πολύποδες κόλου, παρόλο που δεν φαίνεται χρήσιμο στην πρόβλεψη της παρουσίας πολυπόδων παχέος εντέρου.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου (ΚΠΕ) είναι μία από τις πιο συχνές κακοήθειες παγκοσμίως. Η επίπτωση του κυμαινόταν σε χαμηλά επίπεδα πολλές δεκαετίες τώρα. Παρόλα αυτά, έχει εξελιχθεί σε έναν από τους πιο συχνούς καρκίνους, ενώ η σχετιζόμενη με τον εν λόγω όγκο θνητότητα, αγγίζει το 10% περίπου στις δυτικές κοινωνίες. Η θνησιμότητα και η θνητότητα σχετιζόμενη με τον ΚΠΕ βαίνει συνεχώς αυξανόμενη και ένα ποσοστό του φαινομένου, οφείλεται στην έλλειψη της πρώιμης ανίχνευσης του. Η «άνοδος» του ορθοκολικού καρκίνου στις αναπτυσσόμενες χώρες θα μπορούσε να αποδοθεί στον ολοένα και αυξανόμενο γηρασκόμοιο πληθυσμό, στις σύγχρονες «ανθυγιεινές» τροφικές συνήθειες και στην αύξηση των παραγόντων κινδύνου όπως κάπνισμα, παχυσαρκία και έλλειψη σωματικής άσκησης. Νέες θεραπείες για τον πρωτοπαθή και μεταστατικό ΚΠΕ έχουν ανακαλυφθεί, προσφέροντας επιπρόσθετες επιλογές στους ασθενείς όπως: λαπαροσκοπική χειρουργική για τον πρωτοπαθή όγκο, επιθετική εκτομή μεταστατικής νόσου (σε μεταστάσεις στο ήπαρ και πνεύμονες), ακτινοθεραπεία για το καρκίνο του ορθού και επικουρική ή παρηγορική χημειοθεραπεία. Όμως αυτές οι θεραπευτικές επιλογές έχουν περιορισμένη αποτελεσματικότητα στα ποσοστά ίασης και μακροχρόνιας επιβίωσης. Για αυτούς τους λόγους τα προγράμματα ανίχνευσης προκαρκινωματώδων βλαβών στο παχύ έντερο έχουν κερδίσει σημαντικό έδαφος, ιδιαίτερα μετά την αποδοχή και αναγνώριση ότι ο ΚΠΕ προέρχεται από πρόδρομες πολυποειδείς βλάβες. Τα τρέχοντα εργαλεία ανίχνευσης ΚΠΕ όπως η κολοσκόπηση, είναι επεμβατικά και υψηλού κόστους ακόμα, επιδρώντας αρνητικά στην προθυμία των ασθενών να συμμετάσχουν στα προγράμματα πρώιμης ανίχνευσης νεοπλασιών. Τα τελευταία χρόνια, συνεχώς αυξανόμενη βαίνει η ένδειξη, ότι η αλληλεπίδραση παθολογικών γενετικών και επιγενετικών τροποποιήσεων, αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο για την ανάπτυξη και εξέλιξη του ΚΠΕ μέσω αλλαγής της λειτουργίας των

ογκοκατασταλτικών και επιδιορθωτικών του DNA γονιδίων όπως και ογκογονιδίων των κυττάρων του παχέος εντέρου. Οι προαναφερθείσες αλληλεπιδράσεις πλην της κατανόησης των υποκείμενων μηχανισμών καρκινογένεσης, επιτρέπουν επίσης την ταυτοποίηση κλινικών βιοδεικτών, ιδίως επιγενετικών, για την πρόωμη ανίχνευση και πρόγνωση των καρκινοπαθών ασθενών. Ένας από τους τρόπους ανίχνευσης αυτών των επιγενετικών βιοδεικτών είναι το κυκλοφορούν ελεύθερο DNA (circulating free DNA; cfDNA), ένα διαγνωστικό αιματολογικό τεστ για τον καρκίνο που εστιάζει κυρίως στην μοριακές διαφοροποιήσεις που ανευρίσκονται στα καρκινικά κύτταρα, όπως είναι οι μεταλλάξεις και η μεθυλίωση του DNA. Στην εν λόγω διατριβή λοιπόν, γίνεται μία προσπάθεια ανάδειξης αυτού του μείζονος ιατρικού επιτεύγματος μέσω της ανάλυσης των ευρημάτων της έρευνας μας με την σύμπραξη της τρέχουσας βιβλιογραφίας πάνω στους cfDNA βιοδείκτες εστιάζοντας κυρίως στην ανεύρεση μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα κωδικόνια γονιδίων (KRAS, BRAF), βάζοντας ένα μικρό λιθαράκι για περαιτέρω μεγαλύτερης έκτασης έρευνες, ώστε να καταστεί δυνατόν η γενική εφαρμογή της συγκεκριμένης αναδυόμενης τεχνικής μέσω ενός μη επεμβατικού αιματολογικού τεστ για την πρόωμη ανίχνευση του ΚΠΕ.

1.2 Επιδημιολογικά στοιχεία

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί ένα από τα βασικότερα αίτια θνητότητας και θνησιμότητας που σχετίζονται με καρκίνο παγκοσμίως. Εκτιμάται ότι διεθνώς αποτελεί την 3^η συχνότερη αιτία κακοήθειας στους άρρενες και την 2^η στις γυναίκες, με μία επίπτωση που προσεγγίζει το 1,5 εκατομμύριο περιπτώσεις ανά έτος (Ferlay et al., 2010; Siegel, DeSantis, & Jemal, 2014). Επιπρόσθετα, θεωρείται ότι πάνω από 600000 θάνατοι ανά έτος αποδίδονται σε νεοπλάσματα παχέος εντέρου, καθιστώντας τον ΚΠΕ ως την 3^η πιο συχνή αιτία θανάτου σχετιζόμενη με καρκίνο (Siegel et al., 2014). Η ολόένα και αυξανόμενη συχνότητα εμφάνισης του ΚΠΕ καθώς και η σχετιζόμενη με αυτόν θνητότητα και θνησιμότητα, φαίνεται να εξαρτάται από την σταδιακή

υιοθέτηση του δυτικού τρόπου ζωής και των αντίστοιχων διατροφικών συνηθειών, που σε συνδιασμό με την γήρανση του πληθυσμού εκτιμάται ότι θα οδηγήσει σε κατακόρυφη άνοδο εμφάνισης νέων περιπτώσεων ΚΠΕ καθώς και 80% αύξηση των θανάτων από αυτόν μέχρι το 2030, βάσει υπολογισμών του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας(Boyle & Levin, 2008).

1.2.1 Γεωγραφική κατανομή ΚΠΕ

Όσον αφορά την γεωγραφική κατανομή της νόσου, φαίνεται ότι τα υψηλότερα ποσοστά ΚΠΕ εμφανίζονται στην Αυστραλία και Νέα Ζηλανδία (44,8 και 32,2 ανά 100000 άντρες και γυναίκες αντίστοιχα), ενώ τα μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται στην Δυτική Αφρική (4,5 και 3,8 ανά 100000 για άντρες και γυναίκες αντίστοιχα) (“GLOBOCAN. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.,” 2012). Αν και θεωρείται ότι το 55% των περιπτώσεων του ΚΠΕ εμφανίζονται σε πιο αναπτυγμένες χώρες, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις υπο-εκτίμησης των ποσοστών στις αναπτυσσόμενες χώρες (πχ Αφρική) λόγω έλλειψης σωστής καταγραφής νέων περιπτώσεων ΚΠΕ (“GLOBOCAN. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.,” 2012).

Πίνακας 1. Γεωγραφική κατανομή Καρκίνου Παχέος Εντέρου

Γεωγραφική Ζώνη	Επίπτωση (ανά 100000 άτομα)		Θνητότητα (ανά 100000 άτομα)	
	Άνδρες	Γυναίκες	Άνδρες	Γυναίκες
Βόρεια Αμερική	30.1	22.7	11.3	7.8
Δυτική Ευρώπη	39.1	24,9	13.3	8.3
Βόρεια Ευρώπη	36.5	25.3	13.4	9.2
Κεντρικοανατολική Ευρώπη	34.5	21.7	20.3	11.7
Νότια Ευρώπη	39.5	24.1	15.4	8.7

Βόρεια Αφρική	8.5	6.9	5.6	4.5
Ανατολική Ασία	22.4	14.5	10.2	6.8
Αυστραλία και Νέα Ζηλανδία	44.8	32.2	11.6	8.5
Νότια Αφρική	14.2	8.7	10.0	5.8
Νότια Αμερική	17.1	14,6	9.4	7.7
Νοτιοκεντρική Ασία	7.0	5.2	5.1	3.8

Προέλευση: GLOBOCAN 2012 ("GLOBOCAN. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.," 2012)

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ο εφ' όρου ζωής κίνδυνος ανάπτυξης ΚΠΕ είναι γύρω στο 5%, ενώ 45% αυτών που διαγιγνώσκονται με την νόσο, αποβιώνουν λόγω αυτής παρά την οποιαδήποτε θεραπεία (Ferlay et al., 2010). Αυτό οφείλεται σε κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της νόσου όπως, η επιταχυνόμενη κακοήθης έκβαση της, καθώς και η καθυστερημένη παρουσίαση κλινικών σημείων και συμπτωμάτων με επακόλουθη, την αδυναμία διάγνωσης της σε πρώιμα στάδια. Αν και η πενταετής επιβίωση ασθενών με ΚΠΕ είναι 90% εφόσον η νόσος ανιχνευτεί σε πρώιμο στάδιο, τα προαναφερθέντα ειδοποιά χαρακτηριστικά, είναι υπεύθυνα για την διάγνωση μόνο του 40% των περιπτώσεων ΚΠΕ με περιορισμένης έκτασης νόσο (Jemal et al., 2011).

Όπως προαναφέρθηκε, ο ΚΠΕ έχει γίνει ο κυρίαρχος τύπος καρκίνου στις δυτικές κοινωνίες και βάσει υπολογισμών φαίνεται να αποτελεί το 10% της θνητότητας που προκαλείται από κακοήθεια. Αυτό όμως δεν ήταν πάντα έτσι, μιας και είναι γνωστό ότι το 1950 η συχνότητα του ΚΠΕ ήταν σπάνια. Τα αίτια για το φαινόμενο αυτό είναι συνδιασμός γενετικών καθώς και περιβαλλοντολογικών παραγόντων όπως θα αναλυθεί και παρακάτω.

1.3 Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου παχέος εντέρου

1.3.1 Γενετικοί παράγοντες

Είναι πλέον γνωστό ότι ο συγκερασμός γενετικών και επιγενετικών παραγόντων οδηγεί σε συνθήκες γόνιμες για την ανάπτυξη του ΚΠΕ. Η πλειονότητα των περιπτώσεων αφορούν σποραδικού τύπου νεοπλασμάτα μιας και τα $\frac{3}{4}$ των ασθενών έχουν αρνητικό οικογενειακό ιστορικό για ΚΠΕ. Παρόλα αυτά, φαίνεται ότι ακόμα και στου σποραδικού τύπου ΚΠΕ, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης του σε άτομα με θετικό οικογενειακό ιστορικό σε ορθοκολικό καρκίνο (15-20% ο ρόλος αυτός), δείχνοντας έτσι έστω και μερικώς, την χαμηλή διείσδυση γενετικών παραγόντων. Πιο συγκεκριμένα, ο κίνδυνος εφ' όρου ζωής εμφάνισης ΚΠΕ σε άτομα με πρώτου βαθμού συγγενή που είχε εμφανίσει στην 6^η με 7^η δεκαετία της ζωής του ΚΠΕ, είναι 10% περίπου, δηλαδή διπλάσια από έναν άνθρωπο χωρίς οικογενειακό ιστορικό κακοήθειας παχέος εντέρου (Kuipers et al., 2015). Ο κίνδυνος αυτός γίνεται σχεδόν 15% αν ο πρώτου βαθμού συγγενής ήταν ηλικίας <50 ετών όταν τον εμφάνισε, ενώ αν έχουν προσβληθεί περισσότερα από 2 οικογενειακά μέλη, τότε ανεβαίνει ακόμα περισσότερο ο κίνδυνος αυτός.

1.3.2 Κληρονομούμενα σύνδρομα

Από την άλλη πλευρά υπολογίζεται ότι 5-10% των ασθενών με ΚΠΕ εμφανίζουν κάποιο κληρονομούμενο σύνδρομο με το πιο κοινό να αποτελεί το *σύνδρομο Lynch*. Μετάλλαξη σε ένα από τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 ή EPCAM) οδηγεί σε διαταραχή της έκφρασης τους, που έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση μεταλλάξεων του γενετικού υλικού κυρίως σε περιοχές μικρών τμημάτων μικροδορυφορικού DNA με επαναλαμβανόμενες νουκλεοτιδικές αλληλουχίες. Δημιουργείται έτσι μια μικροδορυφορική αστάθεια (microsatellite instability; MSI) που μπορεί να ανιχνευθεί με εξέταση PCR, συγκρίνοντας φυσιολογικό και παθολογικό

γενετικό υλικό από τον ίδιο ασθενή, καθώς και με ανοσοϊστοχημεία σε παθολογικό ιστό για πιθανή ανίχνευση απώλειας έκφρασης των πρωτεϊνών επιδιόρθωσης DNA (Pérez-Carbonellet *al.*, 2012) (van Lier et al., 2012). Το δεύτερο πιο συχνό κληρονομούμενο σύνδρομο ΚΠΕ είναι η *Οικογενής Αδενωματοδής Πολυποδίαση* (familial adenomatous polyposis; FAP). Το εν λόγω σύνδρομο προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο APC (adenomatous polyposis coli gene) το οποίο ελέγχει το μονοπάτι σηματοδότησης WNT (Wingless-type MMTV integration site family), οδηγώντας σε πολυάριθμα αδενώματα παχέος εντέρου (ΠΕ) και ακολούθως, σε ΚΠΕ σε νεαρή ηλικία (Vasen, Tomlinson, & Castells, 2015). Άλλα πιο ασυνήθη κληρονομούμενα σύνδρομα είναι: η πολυποδίαση σχετιζόμενη με μεταλλάξεις στο γονίδιο MUTYH (mutY DNA glycosylase), το σύνδρομο Peutz-Jeghers, η νεανική πολυποδίαση (Juvenile polyposis) και η πολυποδίαση από οδοντωτά αδενώματα (serrated polyposis) (Πίνακας 2) (Syngal et al., 2015).

1.3.3 Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα Εντέρου

Τέλος, η χρόνια φλεγμονή του παχέος εντέρου από ιδιοπαθή εντερικά φλεγμονώδη νοσήματα σχετίζεται με ανάπτυξη ΚΠΕ στο 1% των ατόμων των δυτικών κοινωνιών με την επίπτωση εμφάνισης της νόσου να μειώνεται συνεχώς λόγω πιθανώς, της αντιφλεγμονώδους αγωγής που λαμβάνουν οι ασθενείς αυτοί λόγω της πρωτοπαθούς νόσου (Castaño-Milla, Chaparro, & Gisbert, 2014; Jess et al., 2012).

Πίνακας 2. Κληρονομούμενα σύνδρομα καρκίνου παχέος εντέρου			
	Υπεύθυνο Γονίδιο	Μέση ηλικία εμφάνισης	Κίνδυνος εμφάνισης
Σποραδικός τύπος		69	4.8%
Σύνδρομο Lynch	MLH1/MSH2/ MSH6/PMS2	27-60	10-75%
FAP	APC	38-41	100%
Εξασθενημένο FAP	APC	54-58	69%
Πολυποδίαση σχετιζόμενη με MUTYH	MUTYH	48-50	43-100%
Νεανική Πολυποδίαση	SMAD4/BMPR1A	34-44	38-68%
Σύνδρομο Peutz-Jeghers	STK11	42-46	39%
Σύνδρομο Cowden	PTEN	44-48	9-16%
Σύνδρομο Οδοντωτής Πολυποδίασης	Άγνωστο	48	>50%

1.3.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Όσον αφορά τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που ενοχοποιούνται για την ανάπτυξη ΚΠΕ, αυτοί αφορούν κυρίως τον τρόπο ζωής του ατόμου και υπολογίζεται ότι στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ, το 16-71% των περιστατικών με ΚΠΕ αποδίδονται σε αυτούς τους παράγοντες (Aleksandrova et al., 2014) (Erdrich, Zhang, Giovannucci, & Willett, 2015). Πιο συγκεκριμένα, το κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η αύξηση του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) (για κάθε μονάδα αύξησης ΔΜΣ, ο κίνδυνος για ΚΠΕ αυξάνεται κατά 2-3%), η μέτρια λήψη αλκοόλ (2-3 μονάδες/24ωρο αυξάνει τον σχετικό κίνδυνο για ΚΠΕ κατά 20%) και τέλος η κατανάλωση κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος (αύξηση κινδύνου 1,16 φορές για κάθε 100 γραμμ. ημερήσιας κατανάλωσης) αποτελούν τους βασικότερους και τροποποιήσιμους

περιβαλλοντικούς παράγοντες που φαίνεται να ευθύνονται για την εμφάνιση του ΚΠΕ (Botteri et al., 2008; Fedirko et al., 2011; Guraya, 2015).

1.3.5 Προστατευτικοί παράγοντες έναντι ΚΠΕ

Αντίθετα, φαίνεται πως αρκετοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με την μείωση του κινδύνου ανάπτυξης ΚΠΕ. Η κατανάλωση γάλακτος, δημητριακών ολικής αλέσεως, φρέσκων φρούτων και λαχανικών, καθώς και η προσθήκη στην καθημερινή διατροφή μας στοιχείων όπως ασβεστίου, φυτικών ινών, πολυβιταμινών και βιταμίνης D, φαίνεται να μειώνει την επίπτωση του ΚΠΕ. Πιο συγκεκριμένα οι μελέτες έδειξαν ότι η εν λόγω μείωση του κινδύνου για ΚΠΕ μπορεί να φτάσει έως και το 10% με την καθημερινή πρόσληψη τουλάχιστον 10 γραμμαρίων φυτικών ινών, 300 χιλιοστογραμμαρίων (mg) ασβεστίου ή 200 χιλιοστόλιτρων (ml) γάλακτος (Dahmet al., 2010; Song, Garrett and Chan, 2015). Η καθημερινή σωματική δραστηριότητα φαίνεται με την σειρά της να παίζει σημαντικό ρόλο ιδίως αν είναι διάρκειας τουλάχιστον 30 λεπτών (Aremet al., 2014). Τέλος, φαίνεται ότι αναδυόμενο ρόλο στην επίδραση επί της επίπτωσης του ΚΠΕ έχουν κάποια φαρμακευτικά/ορμονικά σκευάσματα τα οποία έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών μελετητών. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι στατίνες καθώς και τα σκευάσματα για την ορμονική θεραπεία μετα-εμμηνοπαυσιακών γυναικών, τα οποία έχουν συσχετιστεί με μία μικρή προληπτική δράση έναντι του ΚΠΕ (Bardou, Barkun, & Martel, 2010; Limsui et al., 2012; Liu et al., 2014). Όμως αυτό που έχει προσεγγίσει το περισσότερο ενδιαφέρον, είναι η δράση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (μη στεροειδή καθώς και ασπιρίνης) στην πρόληψη έναντι του ΚΠΕ, ιδίως αν η λήψη αυτών σε τακτά χρονικά διαστήματα συνδυάζεται με αλλαγές (όπως αναφέρθηκαν ανωτέρω) στον καθημερινό τρόπο ζωής. Πιο συγκεκριμένα, η μακροπρόθεσμη παρακολούθηση τυχαιοποιημένων μελετών ασπιρίνης στην πρόληψη αγγειακών επεισοδίων έδειξε ότι η ημερήσια πρόσληψη χαμηλών δόσεων ασπιρίνης μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου και άλλων καρκίνων καθώς και σχετιζόμενων με

αυτούς, μεταστάσεων (Algra & Rothwell, 2012). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον όμως φαίνεται να έχει το γεγονός ότι η λήψη ασπιρίνης ή μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων σχετίζεται μεν μείωση κινδύνου για ΚΠΕ αλλά εξαρτάται από το γονιδίωμα του ξενιστή, μιας και έχει βρεθεί ότι αυτή η μείωση παρατηρείται κυρίως σε άτομα με μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς στα χρωμοσώματά 12 (rs2965667-TT) και 15 (rs16973225-AA) (Andersen & Vogel, 2014; Nan et al., 2015).

1.4 Παθοφυσιολογία

Όπως τονίστηκε και προηγουμένως η γενεσιουργός αιτιοπαθογένεια του ΚΠΕ έγκειται στην αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων, οι οποίοι αλληλοεπιδρώντας μεταξύ τους, οδηγούν σταδιακώς τόσο σε δομικές, όσο και σε μοριακό επίπεδο, αλλαγές στα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου (D Hanahan & Weinberg, 2000). Οι μεταλλαγές αυτές σε επίπεδο κυττάρων έχουν κάποια από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου εν γένει (Πίνακας 3) (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011).

Πίνακας 3: Βασικά χαρακτηριστικά καρκίνου

- Αποφυγή ανοσιακών αμυντικών μηχανισμών που προκαλούν καταστροφή του όγκου σε πρώιμο στάδιο μέσω επαγωγής τοπικών κυτταροκινών.
- Αποφυγή ογκοκατασταλτικών παραγόντων, επάγοντας μεταλλάξεις και μειορρυθμίσεις ανασταλτικών αυξητικών παραγόντων και των υποδοχέων αυτών.
- Αστάθεια και μετάλλαξη του γονιδιώματος μέσω απενεργοποίησης επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA .
- Αναστολή μηχανισμών γήρανσης και απόπτωσης καθώς και επαγωγή δραστηριότητας τελομεράσης με αποτέλεσμα την συνεχιζόμενη αντιγραφική δραστηριότητα του όγκου.
- Απελευθέρωση της κυτταρικής ενέργειας: αερόβια γλυκόλυση (φαινόμενο Warburg) και γλουταμινόλυση
- Ανάπτυξη φλεγμονής λόγω του όγκου, μέσω επαγωγής αυξητικών και αγγειογενετικών παραγόντων, αποτέλεσμα έκκρισης πρωτεϊνών από την περιοχική φλεγμονή που προκαλεί ο καρκίνος
- Αντοχή στους μηχανισμούς κυτταρικού θανάτου
- Μέσω αναδιαμόρφωσης εξωκυττάριας ουσίας επάγεται η κυτταρική κινητικότητα οδηγώντας σε διήθηση και μετάσταση του όγκου

Ένας από τους βασικότερους μηχανισμούς με τους οποίους αυτά τα ειδοποιά γνωρίσματα του καρκίνου αποκτώνται, είναι μέσω της προοδευτικής συσσώρευσης γενετικών μεταλλάξεων και επιγενετικών διαφοροποιήσεων, που με τη σειρά τους ενεργοποιούν ογκογονίδια και απενεργοποιούν ογκοκατασταλτικά γονίδια. Αυτές δε οι αλλαγές προκαλώντας την απώλεια γονιδιωματικής και/ή επιγονιδιωματικής σταθερότητας, έχουν παρατηρηθεί στην πλειονότητα των πρώιμων νεοπλασματικών βλαβών στο ΠΕ (ήτοι ανώμαλες εστίες κρυπτών, αδενώματα και οδοντωτοί πολύποδες) και θεωρούνται πιθανώς, το κεντρικό παθοφυσιολογικό γεγονός σε μοριακό επίπεδο, στην έναρξη και δημιουργία του ορθοκολικού καρκίνου (Colussi, Brandi, Bazzoli, & Ricciardiello, 2013; Grady & Carethers, 2008). Επομένως αυτή η απώλεια σταθερότητας στο γονιδίωμα που παρατηρείται, επάγει έναν φαύλο κύκλο επιτάχυνσης της συσσώρευσης μεταλλάξεων και επιγενετικών αλλοιώσεων σε ογκογονίδια και γονίδια καταστολής όγκων, ο οποίος έχει ως αποτέλεσμα τον κακοήθη μετασχηματισμό των κυττάρων του ΠΕ μέσω επαναλαμβανόμενων κλωνικών επεκτάσεων κυττάρων με την πιο επιθετική

και κακοήθη συμπεριφορά (Fearon & Vogelstein, 1990; Kinzler & Vogelstein, 1996; Lengauer, Kinzler, & Vogelstein, 1998). Τα βλαστικά/αρχέγονα κύτταρα τα οποία εντοπίζονται στις βάσεις των κρυπτών του ΠΕ, αποτελούν στόχο των ανωτέρων μηχανισμών, σηματοδοτώντας την καρκινογένεση (Zeki, Graham, & Wright, 2011).

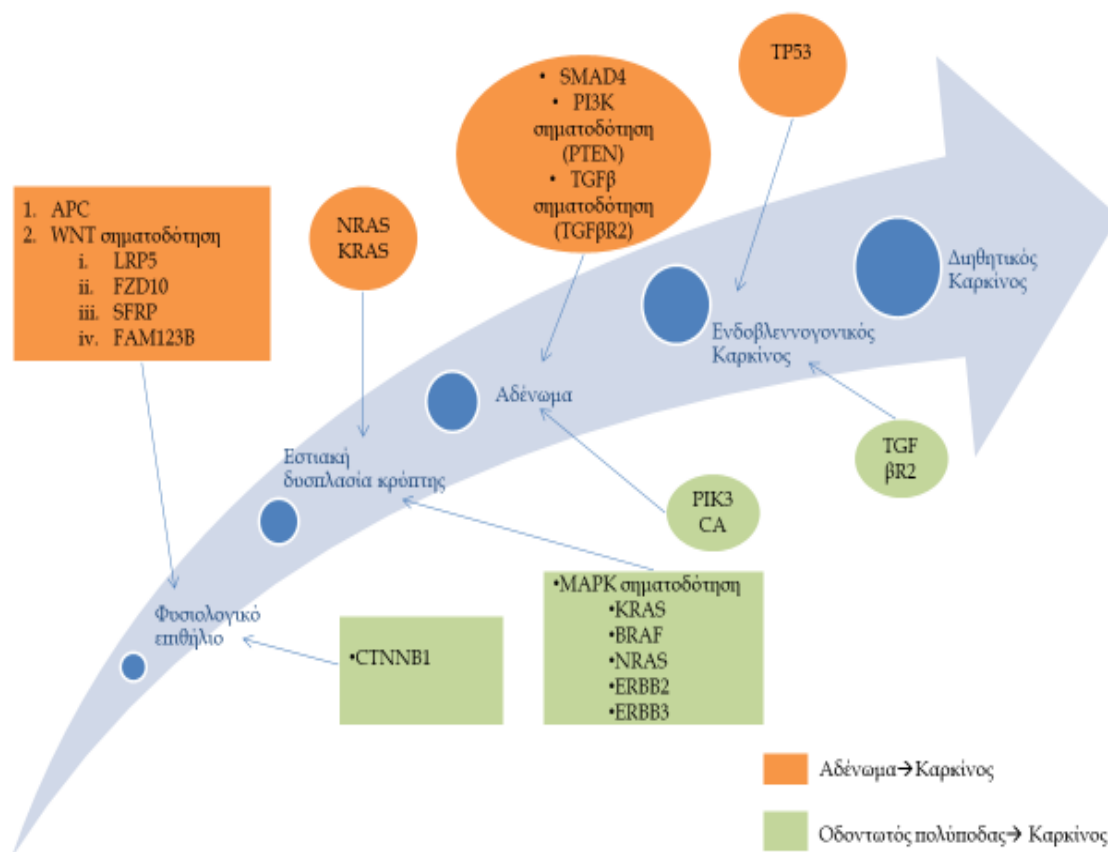
1.4.1 “Κλασσικό” μοντέλο εξέλιξης προς ΚΠΕ

Όλες οι ανωτέρω αλλαγές που συμβαίνουν σε μοριακό, γενετικό και επιγενετικό επίπεδο αποτελούν το υπόστρωμα της ιστολογικής και μορφολογικής εξέλιξης των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων του ΠΕ σε αδενοκαρκίνωμα (Σχήμα 1). Η εξέλιξη αυτή αντικατοπτρίζεται με ένα βασικό μοντέλο δημιουργίας ΚΠΕ που χαρακτηρίζεται από έναν πολύποδα (που ξεκινά από μία ανώμαλη κρύπτη) που εξελίσσεται σε ένα πρώιμο αδένωμα με μέγεθος <1 εκατοστού, με σωληνώδη ή σωληνολαχνωτά ιστολογικά χαρακτηριστικά. Εν συνεχεία, αυτό με την σειρά του εξελίσσεται σε προχωρημένο αδένωμα (>1 εκ. σε μέγεθος με ή χωρίς λαχνωτή ιστολογική διαμόρφωση) προτού μεταλλαχθεί σε ΚΠΕ. Συνήθως αυτή η αλληλουχία γεγονότων διαρκεί 10-15 χρόνια, πλην κληρονομικών συνδρόμων (βλέπε σύνδρομο Lynch) που μπορεί να επέλθει ο ΚΠΕ συντομότερα (Jones et al., 2008). Επιπρόσθετα, ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι, παρόλο που τα σωληνώδη αδενώματα εμφανίζουν μία ιστολογική ομοιογένεια, σε μοριακό επίπεδο, η βιολογία τους εμφανίζει σημαντική ετερογένεια κάτι που ίσως ευθύνεται για το ότι μόνο το 10% των αδενωμάτων εξελίσσονται σε ΚΠΕ (Y. Luo et al., 2014; van Engeland, Derks, Smits, Meijer, & Herman, 2011).

1.4.2 Άμισχοι οδοντωτοί πολύποδες

Παρά το γεγονός ότι το ανωτέρω μοντέλο εξέλιξης μιας προκαρκινωματώδους βλάβης σε ΚΠΕ θεωρείτο ότι αφορούσε αποκλειστικά τα σωληνώδη ή σωληνολαχνωτά αδενώματα, την τελευταία 10ετία ήρθε στο φως μία νέα

υποκατηγορία πολυπόδων - **οι άμισχοι οδοντωτοί πολύποδες** (sessile serrated polyps; SSPs) - που φαίνεται να ενοχοποιούνται για το 5-10% των περιπτώσεων ΚΠΕ (Goldstein, 2006; Jass, 2004). Αυτοί οι οδοντωτοί πολύποδες που φαίνεται να έχουν διαφορετική ιστολογική και μοριακή εξέλιξη απ' ότι τα σωληνώδη αδένωμα, ταξινομούνται σε 3 κατηγορίες: τους υπερπλαστικούς πολύποδες, τα άμισχα οδοντωτά αδενώματα καθώς και τα παραδοσιακά οδοντωτά αδενώματα (Bettington et al., 2013; Rex et al., 2012a). Σε αντίθεση με το «κλασσικό μοντέλο αλληλουχίας αδένωμα → ΚΠΕ» που αναλύθηκε προηγουμένως, οι SSPs φαίνεται να μεταλλάσσονται σε ΚΠΕ μέσω της αλληλουχίας «υπερπλαστικός πολύποδας→SSP→ΚΠΕ» (Goldstein, 2006; Kambara et al., 2004). Επιπρόσθετα, οι SSPs οι οποίοι εμφανίζονται κυρίως στο δεξιό κόλο (ήτοι τυφλό, ανιόν και εγκάρσιο) συνήθως εμφανίζουν μικροδορυφορική αστάθεια καθώς και έναν τύπο επιγενετικής αστάθειας που χαρακτηρίζεται από μία μεγάλη βαθμού ανώμαλη μεθυλίωση CpG νησιδίων DNA, γνωστό και ως φαινότυπος του μεθυλιωτή των νησιδίων CpG (CpG island methylator phenotype; **CIMP**) (αναλύεται παρακάτω). Αντίθετα στο αριστερό κόλο (που αποτελείται από κατión, σιγμοειδές και ορθό) οι πολύποδες είναι συνήθως μικροδορυφορικά σταθεροί, όμως συχνά φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS, ενώ ένα μέρος αυτών έχουν μία εξασθενημένη μορφή CIMP (Noffsinger 2009; Bettington et al. 2013; Jass 2004).

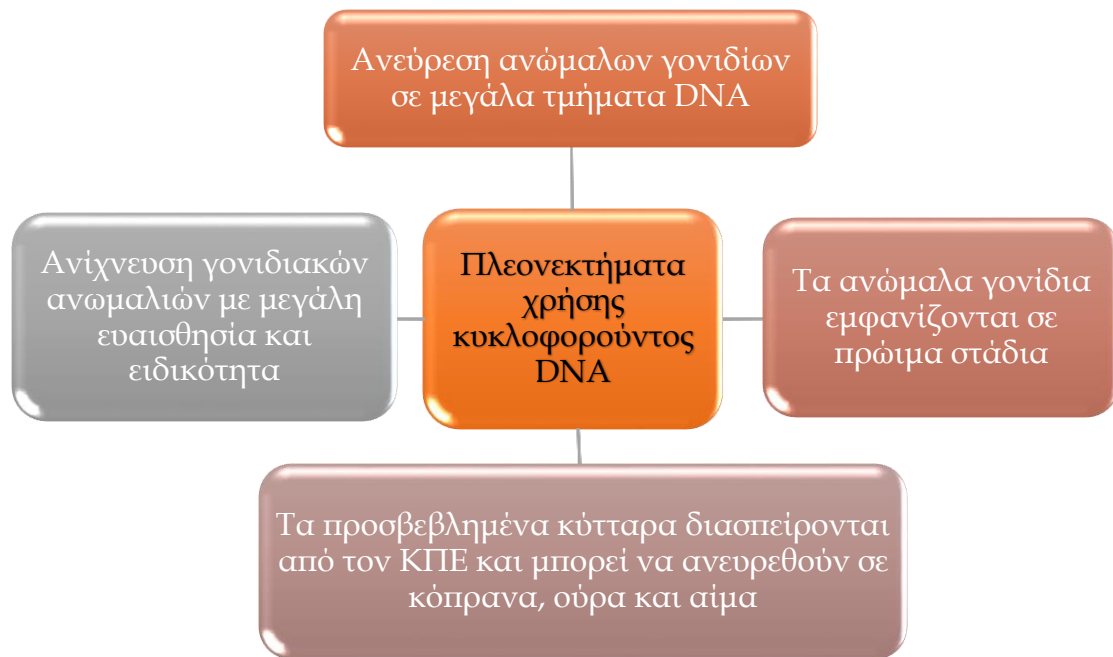


Σχήμα 1. Αλληλουχία ορθοκολικού καρκίνου. Το κλασικό ή παραδοσιακό μονοπάτι (πορτοκαλί χρώμα) το οποίο περιλαμβάνει την ανάπτυξη σωληνωδών αδενωμάτων που μπορούν εξελιχθούν σε αδενοκαρκίνωμα. Το άλλο μονοπάτι αφορά τους οδοντωτούς πολύποδες (πράσινο χρώμα). APC, adenomatous polyposis coli; CIN, chromosomal instability; CTNNB1, catenin-β1; FAM123B, family with sequence similarity 123B (also known as AMER1); FZD10, frizzled class receptor 10; LRP5, low-density lipoprotein receptor-related protein 5; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MSI, microsatellite instability; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PI3KCA, phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit-α; PTEN, phosphatase and tensin homologue; SFRP, secreted frizzled-related protein; SMAD4, SMAD family member 4; TGFβ, transforming growth factor-β; TGFβR2, TGFβ receptor 2

1.4.3 Μοριακά μονοπάτια ΚΠΕ

Όπως είδαμε ο ΚΠΕ αποτελεί μια πολυπαραγοντική ασθένεια στην οποία βασικό ρόλο παίζουν οι αλλαγές που λαμβάνουν χώρα κυρίως σε μοριακό

επίπεδο. Η κατανόηση αυτών των μονοπατιών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του ΚΠΕ όπως θα αναλύσουμε και παρακάτω, αποτελεί βασικό βοήθημα στην βελτιστοποίηση των μεθόδων πρόωμης ανίχνευσης και διάγνωσης προκαρκινωματώδων βλαβών του ΠΕ, μέσω των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων της εν λόγω κακοήθειας σε ιστοπαθολογικό και μοριακό επίπεδο (Σχήμα 2).

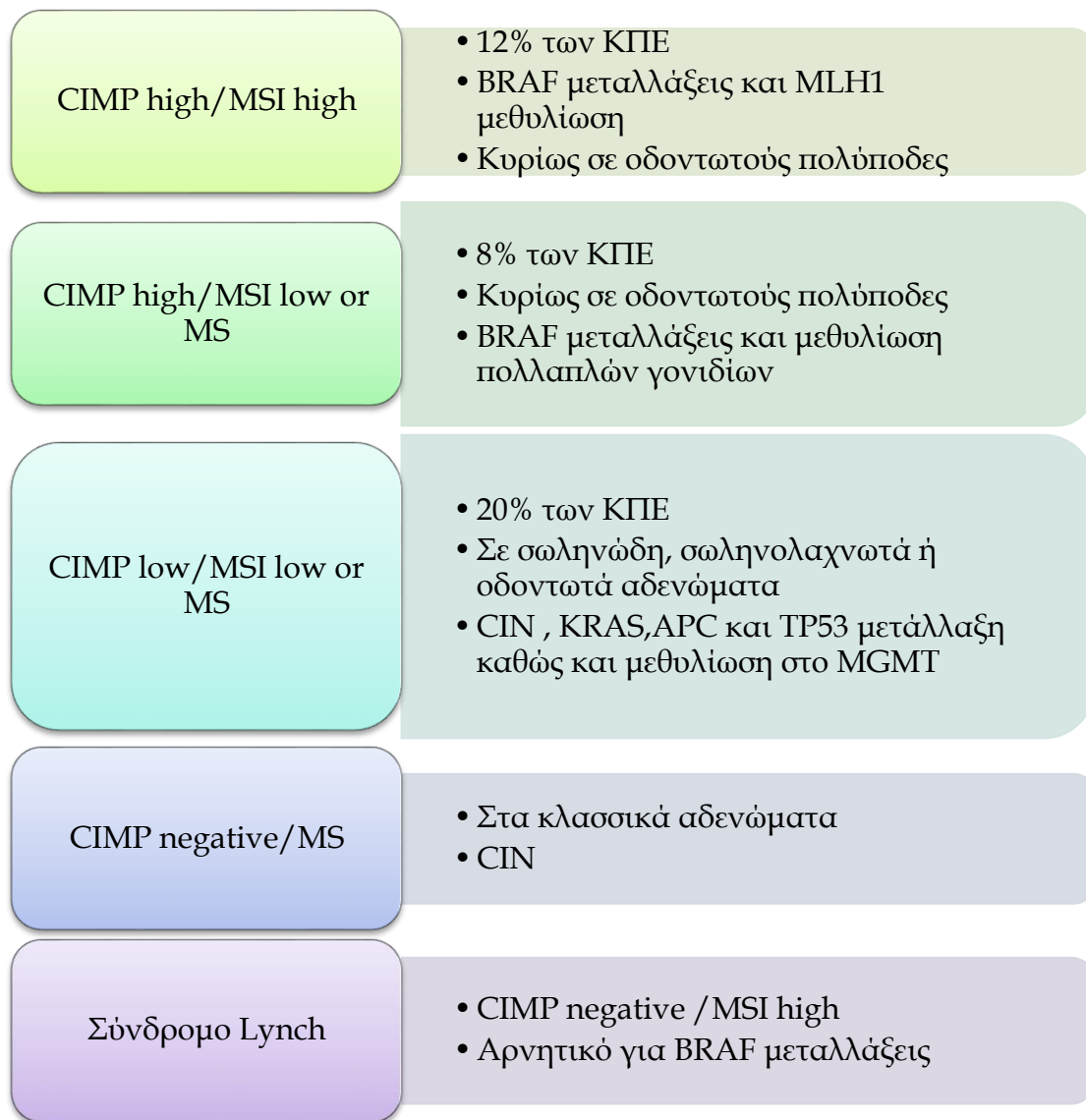


Σχήμα 2. Το σχήμα καταδεικνύει τα πλεονεκτήματα της ανίχνευσης ΚΠΕ χρησιμοποιώντας μοριακές τεχνικές για την αξιολόγηση του κυκλοφορούντος DNA

Τρία βασικά μονοπάτια στην καρκινογένεση του ορθοκολικού καρκίνου έχουν αναγνωρισθεί από το 1990 και έπειτα, ήτοι η Χρωμοσωμική αστάθεια (Chromosomal Instability; CIN), η MSI και ο CIMP (Fearon & Vogelstein, 1990).

Η Χρωμοσωμική αστάθεια, η οποία στην βιβλιογραφία αναφέρεται και ως «το κατασταλτικό μονοπάτι», την παρουσίασε πρώτος το 1990 ο Fearon και συνεργάτες, και θεωρείται η πιο συχνή αιτία της μεταλλαγής γονιδίων στον ορθοκολικό καρκίνο (Fearon & Vogelstein, 1990). Το κύριο χαρακτηριστικό της είναι η τροποποίηση ολόκληρου χρωμοσώματος ή κάποιων τμημάτων του,

επιηρεάζοντας σημαντικά γονίδια, οδηγώντας έτσι στην καρκινογένεση. Αυτά τα γονιδιωματικά ελλείμματα προκαλούν απενεργοποίηση κατασταλικών γονιδίων όπως των: Deleted in Colon Carcinoma (*DCC*), SMAD family member 2 (*SMAD2*), SMAD family member 4 (*SMAD4*), APC and tumour protein p53 (*TP53*) (Pino and Chung 2010). Η συσσώρευση αυτών των τροποποιήσεων φαίνεται να αποτελεί κομβικό σημείο στην ανάπτυξη του ΚΠΕ. Το δεύτερο μοντέλο που εμπλέκεται στην μεταλλαγή του φυσιολογικού εντερικού βλεννογόνου σε κακοήγη ιστό είναι η **μικροδορυφορική αστάθεια**. Η MSI είναι ένας ακόμα τύπος γονιδιωματικής αστάθειας η οποία όπως προαναφέρθηκε, αναφέρεται σε διαγραφές ή προσθήκες ολίγων νουκλεοτιδίων στα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την επίβλεψη και επιδιόρθωση τυχόν λαθών κατά την αντιγραφή του DNA, τα επονομαζόμενα DNA mismatch repair (MMR) γονίδια (C R Boland, Sinicrope, Brenner, & Carethers, 2000). Αυτές οι ολιγονουκλεοτιδικές τροποποιήσεις που επιτελούνται κυρίως σε επαναλαμβανόμενες νουκλεοτιδικές μονάδες του DNA (μικροδορυφορικές) σε ολόκληρο το γονιδίωμα, έχουν ως αποτέλεσμα την απενεργοποίηση των γονιδίων MMR (ήτοι *MSH2, MLH1, MSH6, PMS1-2, MLH3, MSH3, Exo1*). Επίσης, πρέπει να τονιστεί ότι αυτή η οδός καρκινογένεσης εμπλέκεται στο σύνδρομο Lynch καθώς και σε ένα σημαντικό ποσοστό εμφάνισης σποραδικού τύπου ΚΠΕ (15%-20%) (C Richard Boland & Goel, 2010). Το τρίτο μονοπάτι σχετιζόμενο με ανάπτυξη κακοήθειας του ΠΕ είναι το **CIMP** το οποίο αναφέρεται στην παρουσία ταυτόχρονης υπερμεθυλίωσης πολλαπλών γονιδίων. Ανήκει στους επιγενετικούς μηχανισμούς προκαλώντας διακοπή γονιδιακής λειτουργικότητας, επακόλουθο μεθυλίωσης του δινουκλεοτιδίου 5'-CG-3' (CpG) στην περιοχή του εκκινητή πολλών γονιδίων (*APC, MCC, MLH1, MGMT*), με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση ογκοκατασταλικών γονιδίων (Wong, Hawkins, & Ward, 2007). Το CIMP είναι υπεύθυνο για το 15%-20% των σποραδικών ΚΠΕ και βάσει της μελέτης των Jass και συνεργατών, μπορούμε να ταξινομήσουμε το ΚΠΕ βάσει της παρουσίας MSI και CIMP όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.



Σχήμα 3. Μοριακά χαρακτηριστικά ΚΠΕ. Το σχήμα δείχνει διαφορετικά μοριακά προφίλ και κλινικο-ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά κάθε κατηγορίας. CIMP: CpG Island Methylator Phenotype; MSI: Microsatellite Instability; MS: Microsatellite Stability; CRC: Colorectal Cancer; CIN: Chromosomal Instability; MGMT: O-6-methylguanine-DNA-methyltransferase; BRAF: v-raf murine sarcoma viral oncogene homologe B1; MLH1: MutL homolog 1; KRAS: Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog; APC: Adenomatosis Polyposis Coli; TP53: Tumor Protein p53

1.4.3.1 Τύποι μεταλλάξεων εντός αυτών των μοριακών μονοπατιών

Η συχνότητα συγκεκριμένων μεταλλάξεων μπορεί να ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των προαναφερθέντων μοριακών υποκατηγοριών, με αποτέλεσμα κάθε μία να παρουσιάζει εκλεκτικούς τύπους μεταλλάξεων (Network, 2012). Κάποιες μεταλλάξεις όπως αυτές στα γονίδια *APC* και *SMAD4*, είναι συχνές μεταξύ όλων των ανωτέρω μοριακών υποκατηγοριών, αναδεικνύοντας έναν κεντρικό ρόλο αυτών στον ΚΠΕ γενικά. Αντιθέτως άλλες διαφοροποιήσεις γονιδίων περιορίζονται σε κάποια συγκεκριμένη υποομάδα, όπως λόγου χάριν οι μεταλλάξεις *BRAF* σε ΚΠΕ που εμφανίζει φαινότυπο CIMP (Network, 2012). Στον ΚΠΕ φαίνεται να υφίσταται ουσιαστική ετερογένεια σε συγκεκριμένες μεταλλάξεις μεταξύ των νεοπλασιών, παρόλο που φαίνεται να αθροίζονται σε συγκεκριμένες ομάδες (πχ γονίδια που εμπλέκονται σε συγκεκριμένα μονοπάτια) (Jubb, Bell, & Quirke, 2001; Parsons et al., 2005; Starr et al., 2009). Μεταξύ των πιο συχνών μεταλλάξεων που εμπλέκονται στο ΚΠΕ είναι αυτές των γονιδίων *APC*, *catenin-β1 (CTNNB1)*, *KRAS*, *BRAF*, *SMAD4*, *transforming growth factor-β receptor 2 (TGFB2)*, *TP53*, *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate3-kinase catalytic subunit-α (PIK3CA)*, *AT-rich interactive domain 1A (ARID1A)*, *SRY (sex determining region Y) box 9 (SOX9)*, *family with sequence similarity 123 B (FAM123B; also known as AMER1)* and *ERBB2*, οι οποίες επάγουν την καρκινογένεση, είτε διαταράσσοντας την λειτουργία σημαντικών μονοπατιών σηματοδότησης μεταξύ των οποίων τα μονοπάτια των *WNT-β-catenin*, *epidermal growth factor (EGF)-mitogen-activated protein kinase (MAPK)*, *phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)* και *TGFβ*, είτε επιδρώντας σε γονίδια που ρυθμίζουν κεντρικές δράσεις κυττάρων όπως επιδιόρθωση του DNA και πολλαπλασιασμός (Πίνακας 4) (Brennan et al., 2013; Grady & Pritchard, 2014a). Η έναρξη της καρκινογένεσης του ΚΠΕ συχνά συντελείται από μεταλλάξεις που επηρεάζουν το μονοπάτι *WNT*, και στην συνέχεια τα νεοπλαστικά κύτταρα που προκύπτουν αναπτύσσονται,

καταστέλλοντας άλλα μονοπάτια σηματοδότησης όπως τα RAS-RAF-MAPK, TGFβ, και PI3K-AKT μονοπάτια (Bardelli et al., 2003a; Parsons et al., 2005).

1.4.3.2 Επιγενετικές διαφοροποιήσεις

Επιπρόσθετα των γονιδιακών μεταλλάξεων, οι επιγενετικές διαφοροποιήσεις συχνά λαμβάνουν χώρα στους πολύποδες και στους όγκους του παχέος εντέρου και μάλιστα φαίνεται να δρουν συνεργικά με τις μεταλλάξεις σε γονιδιακό επίπεδο στην διαδικασία μετάπτωσης του πολύποδα σε ΚΠΕ (Jubb et al., 2001; Y.-H. Kim et al., 2006; Lao & Grady, 2011). Όπως και αναφέρθηκε, η μεθυλίωση DNA επηρεάζει τα τμήματα του γονιδιώματος που βρίθουν νησιδίων CpG, τα οποία συχνά εντοπίζονται στο τμήμα 5' των γονιδίων και προκαλούν μεταγραφική σιγή μέσω επίδρασης στο μεταγραφικό παράγοντα σύνδεσης και δομικές αλλαγές στην χρωματίνη (Bird, 1992). Οι τροποποιήσεις στην μεθυλίωση του DNA που σχετίζονται με την ανάπτυξη του καρκίνου γενικά, εμπεριέχουν δύο θεμελιώδεις αλλαγές: την υπερμεθυλίωση των CpG νησιδίων σε γονιδιακούς υποκινητές, η οποία μπορεί να απενεργοποιήσει ογκοκατασταλτικά γονίδια και την υπομεθυλίωση επαναλαμβανόμενων γενετικών στοιχείων που μπορεί να οδηγήσει σε γονιδιωματική αστάθεια ή ενεργοποίηση ογκογονιδίων (Worthley et al., 2010). Χαρακτηριστικό παράδειγμα υπερμεθυλίωσης είναι αυτή που συμβαίνει στον εκκινητή του γονιδίου septin 9 (SEPT9), όπως θα δούμε και παρακάτω.

Πίνακας 4. Συνήθεις γενετικές και επιγενετικές τροποποιήσεις στον Καρκίνο Παχέος εντέρου

Γονίδιο ή βιοδείκτης	Χρωμόσωμα	Λειτουργία	Συχνότητα (%)	Προληπτική χρήση(?)
APC	5	Ρύθμιση μονοπατιού σηματοδότησης WNT	40-70	Όχι
ARID1A	1	Μέλος της SWI/ SNF οικογένειας, ρυθμίζει δομή χρωματίνης και μεταγραφή γονιδίου	15	Όχι
CTNNB1	3	Ρύθμιση μονοπατιού σηματοδότησης WNT	1	Όχι
DCC	18	Υποδοχέας Netrin, ρύθμιση απόπτωσης, διαγράφεται χωρίς να μεταλλάσσεται στον ΚΠΕ, ενώ είναι άγνωστος ο ρόλος του στο πρωτοπαθή καρκίνο	9-70	Όχι
FAM123B	X	Ρύθμιση μονοπατιού σηματοδότησης WNT	10	Όχι
FBXW7	4	Ρύθμιση αποδόμησης πρωτεΐνης μεσολαβούμενης από πρωτεόσωμα	20	Όχι
PTEN	10	Ρύθμιση μονοπατιού PI3K-AKT	10-30	Πιθανόν

RET	10	Ρύθμιση μονοπατιού GDNF	7-60	Όχι
SMAD4	18	Ρύθμιση μονοπατιού TGFβ και BMP	25	Πιθανόν
TGFBR2	3	Ρύθμιση μονοπατιού TGFβ	20	Όχι
TP53	17	Ρύθμιση έκφρασης των γονιδίων στόχων που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA και στην απόπτωση	50	Πιθανόν
BRAF	7	Ρύθμιση μονοπατιού MAPK	8-28	Πιθανόν
ERBB2	17	Ρύθμιση μονοπατιού EGF-MAPK	35	Όχι
GNAS	20	Ρύθμιση σηματοδότησης G πρωτεΐνης	20	Όχι
IGF2	11	Ρύθμιση μονοπατιού IGF	7-10	Όχι
KRAS	12	Ρύθμιση μονοπατιού ενδοκυττάριας σηματοδότησης MAPK	40	Yes
MYC	8	Ρύθμιση ανάπτυξης και διαφοροποίησης	2-10	Όχι
NRAS	1	Ρύθμιση μονοπατιού MAPK	2	Yes
PIK3CA	3	Ρύθμιση μονοπατιού PI3K-AKT	20	Πιθανόν
RSPO2 and	8 και 6	Ρύθμιση μονοπατιού σηματοδότησης WNT	10	Όχι

RSPO3				
SOX9	17	Ρύθμιση απόπτωσης	5-9	Όχι
TCF7L2	10	Ρύθμιση μονοπατιού WNT	10	Όχι
Chromosome instability	N/A	N/A	70	Πιθανόν
CpGisland methylator phenotype	N/A	N/A	15	Πιθανόν
Microsatellite instability	N/A	N/A	15	Πιθανόν
Mismatch-repair genes	N/A	Ρύθμιση διόρθωσης ασυμφωνιών DNA	1-15	Πιθανόν
SEPT9	17	N/A	>90	Όχι
VIM, NDRG4 and BMP3	10, 16, 4	N/A	75	Όχι
18qLOH	18	N/A	50	Πιθανόν

APC, adenomatous polyposis coli; *ARID1A*, AT-rich interactive domain 1A; *BMP*, bone morphogenetic protein; CNV, copy number variation; *CTNNB1*, catenin-β1; *DCC*, DCC netrin 1 receptor; EGF, epidermal growth factor; *FAM123B*, family with sequence similarity 123B; *FBXW7*, F-box and WD repeat domain-containing 7, E3 ubiquitin protein ligase; GDNF, glial cell-derived

neurotrophic factor; *GNAS*, guanine nucleotide-binding protein, α -stimulating complex locus; *IGF*, insulin-like growth factor; *LGR*, leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor; *LOH*, loss of heterozygosity; *MAPK*, mitogen-activated protein kinase; *N/A*, not applicable; *NDRG4*, NDRG family member 4; *PI3K*, phosphatidylinositol 3-kinase; *PIK3CA*, phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit- α ; *PTEN*, phosphatase and tensin homologue; *RSPO*, R-spondin; *SEPT9*, septin 9; *SMAD4*, SMAD family member 4; *SOX9*, SRY (sex-determining region Y) box 9; *TCF7L2*, transcription factor 7-like 2; *TGF β* , transforming growth factor- β ; *TGFBR2*, TGF β receptor 2; *VIM*, vimentin.

1.4.3.3 Ο ρόλος της τοποθεσίας του όγκου, του μικρο-περιβάλλοντος και του μικροβίωματος

Είναι σημαντικό επίσης να τονιστεί ότι, η συχνότητα πολλών από αυτών των μοριακών χαρακτηριστικών ποικίλει ανάλογα με τη θέση του όγκου στο παχύ έντερο (από το ανιόν κόλο προς το ορθό) (Rosty et al., 2013; Yamauchi et al., 2012). Αυτό έχει οδηγήσει στη αποδοχή πια, του γνωστού διαχωρισμού του «εγγύς» και του «απώτερου» καρκίνου του παχέος εντέρου σε σχέση με την υιοθεσία ενός «συνεχούς» μοντέλου. Και τα δύο μοντέλα υποστηρίζουν την ιδέα ότι το μικρο-περιβάλλον του όγκου (το μικροβίωμα του εντέρου καθώς και η φλεγμονώδης κατάσταση του γειτονικού ιστού) ρυθμίζει τον τρόπο με τον οποίο οι μεταλλάξεις επηρεάζουν την δημιουργία του καρκίνου και της εξέλιξης της νόσου. Έτσι, η σημερινή μας αντίληψη πάνω στην παθογένεση του ΚΠΕ είναι, ότι η νόσος είναι αποτέλεσμα της συσσώρευσης των μεταλλάξεων στα γονίδια που εν συνεχεία, οδηγούν στη δημιουργία του όγκου μετά από την επίδραση τοπικών παραγόντων, προερχόμενων από τους γειτονικούς ιστούς. Αυτό το παράδειγμα αποτέλεσε τη βάση για την πρόσφατη σύσταση του καθορισμού της *in situ* διήθησης των ανοσιακών κυττάρων του όγκου ως προγνωστικός δείκτης παράλληλα με την σταδιοποίηση βάσει TNM (Galon et al., 2014). Σε αντιστοιχία με τα ανωτέρω δεδομένα, πρόσφατες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στο ρόλο του

εντερικού μικροβιώματος στην ορθοκολική καρκινογένεση. Πράγματι, υπάρχουν μελέτες που έχουν δείξει την εμπλουτισμένη παρουσία των *fusobacteria*, ιδιαίτερα σε καρκίνους με φαινότυπο CIMP, που θα μπορούσαν να σχετίζονται αντιστρόφως με τα CD3+ T κύτταρα στην ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου (Kostic et al., 2012; Mima et al., 2015; Tahara et al., 2014).

1.4.4 Η μεθυλίωση του DNA και ο ρόλος της στην καρκινογένεση του ΚΠΕ

Η μεθυλίωση του DNA συμβαίνει κυρίως σε συγκεκριμένα τμήματα του γονιδιώματος που όπως είδαμε προηγουμένως, κάποια από αυτά είναι τα νησίδια CpG. Λαμβάνοντας υπόψη την σταθερότητα που παρουσιάζει η μεθυλίωση του DNA σε σύγκριση με τις μεταλλάξεις, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η μεθυλίωση αποτελεί ένα ελκυστικό πεδίο για την ανακάλυψη νέων βιοδεικτών. Η θεωρία ότι η μεθυλίωση του γονιδιώματος μπορεί να διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο σε συγκεκριμένα βήματα κατά την καρκινογένεση του ΚΠΕ είχε ήδη διατυπωθεί το 1983 από τους Feinberg και Vogelstein που έδειξαν ότι στα αρχικά στάδια του ΚΠΕ υπάρχει μία υπομεθυλίωση του DNA, κυρίως εντοπιζόμενη στα νησίδια αλληλουχιών CpG. Αυτοί επίσης, κατέδειξαν ότι αυτή η απώλεια μεθυλίωσης συνδυάστηκε με υπερμεθυλίωση και απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών ή επιδιορθωτικών του DNA γονιδίων (Feinberg & Vogelstein, 1983a, 1983b). Αυτή η επιγενετική τροποποίηση έχει πρόσφατα συσχετισθεί με την ακολουθία «εστιακά ανώμαλη κρύπτη με φυσιολογικό βλεννογόνο → αδένωμα → καρκίνωμα», παίζοντας σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του ΚΠΕ (Yamashita, Dai, Dai, Yamamoto, & Perucho, 2003).

Κατά συνέπεια, η μεθυλίωση του DNA φαίνεται να είναι ένας από τους ακρογωνιαίους λίθους της καρκινογένεσης, διότι εμφανίζεται στα πρώτα βήματα της διαδικασίας εξέλιξης του ΚΠΕ, περιλαμβάνοντας το μονοπάτι CIMP με μικροδορυφορική αστάθεια, μιας και η υπερμεθυλίωση των γονιδίων MMR οδηγεί σε σποραδικού τύπου ΚΠΕ με MSI. Επιπρόσθετα, μέσω του CIMP,

η μεθυλίωση του DNA έχει συνδεθεί με το CIN στην κακοήθεια του παχέος εντέρου (μεθυλίωση υποκινητή των GATA4, GATA5, p16 με αποτέλεσμα χρωμοσωμική απώλεια ή προσθήκη), ενώ καταλήγοντας, εμπλέκεται σε κάθε ένα από αυτά τα μονοπάτια μέσω πολλών, παθολογικά μεθυλιωμένων γονιδίων όπως πρόσφατες έρευνες έχουν αναδείξει (Σχήμα 4) (Goel & Boland, 2012; Goel et al., 2007; L. Luo, Chen, & Pretlow, 2005; Subramaniam et al., 2009; Umetani et al., 2004; Wendt et al., 2006).

Βήμα 1ο : Ανάπτυξη εστιακής δυσπλασίας κρυπτών από φυσιολογικά κύτταρα παχέος εντέρου

- SFRP1, SFRP2, CRABP1, RUNX3, CDH13, SLC5A8, MINT1, MINT31, WNT5A

Βήμα 2ο : Μετάπτωση εστιακής δυσπλασίας κρυπτών σε αδένωμα

- p14, HMTF, ITGA4, ESR1, CDKN2A/p16, CDH1

Βήμα 3ο : Μετάπτωση αδενώματος σε καρκίνο

- CXCL12, ID4, IRF8, TIMP3, MGMT, hMLH1

Σχήμα 4: Το σχήμα αναδεικνύει τα πιο συχνά μεθυλιωμένα γονίδια που εμπλέκονται στην αλληλουχία αδένωμα-καρκίνωμα στα πλαίσια ανάπτυξης ΚΠΕ. SFRP1: secreted frizzled-related protein 1; SFRP2: secreted frizzled-related protein 2; CRABP1: cellular retinoic acid binding protein 2; RUNX3: Runt-related transcription factor 3; CDH13: Cadherin 13; SLC5A8: Sodium solute symporter family 5 member 8; MINT1: Methylated in tumor locus 1; MINT31: Methylated in tumor locus 31; WNT5A: wingless-type MMTV integration site family, member 5A; p14: Tumor protein 14; HMTF: Helicase-like transcription factor; ITGA4: integrin, alpha 4; ESR1: Estrogen receptor 1; CDKN2A/p16: Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A; CDH1: E-cadherin; CXCL12: Chemokine (C-X-C) ligand 12; ID4: Inhibitor of DNA binding 4; IRF8: interferon regulatory factor 8; TIMP3: Tissue inhibitor of metalloproteinase 3;

MGMT: O-6-methylguanine-DNA methyltransferase; hMLH1: MutL homolog
1

Ο σχεδιασμός των γενετικών και επιγενετικών βιοδεικτών ιδιαίτερα εκείνων που σχετίζονται με ανίχνευση ανώμαλα μεθυλιωμένων γονιδίων, ικανών να προσφέρουν την μέγιστη κάλυψη της εντερικής νεοπλασίας, φαίνεται να είναι μια λογική προσέγγιση. Κατά συνέπεια, αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί την τελευταία δεκαετία, για τη δυνητική χρήση των δεικτών DNA σε διαφορετικά βιολογικά υγρά, ως στρατηγική για την πρόωμη ανίχνευση του ορθοκολικού καρκίνου (Notterman et al. 2001).

1.5 Μέθοδοι διάγνωσης καρκίνου παχέος εντέρου

Η ταχεία ανάπτυξη της γνώσης σχετικά με τα μοριακά και βιολογικά χαρακτηριστικά του ΚΠΕ, έχει δώσει χρήσιμες πληροφορίες για την παθογένεια του συγκεκριμένου τύπου νεοπλασμάτων και του καρκίνου γενικά. Επίσης, έχουν αποκτηθεί νέες γνώσεις σχετικά με την πρωτοβάθμια πρόληψη. Επειδή, συνήθως ο ΚΠΕ αναπτύσσεται σε μακρά περίοδο ως αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της γενετικής προδιάθεσης και των περιβαλλοντικών επιδράσεων, έχει καταστεί δυνατό, να εντοπιστούν αποτελεσματικότερα, προνεοπλασματικές και πρόωμες νεοπλαστικές βλάβες, με βελτίωση έτσι, των ποσοστών επιβίωσης. Η ταχεία εξέλιξη της γνώσης σχετικά με την παθογένεση του ΚΠΕ, ειδικά στις ομάδες υψηλού κινδύνου, επιτρέπει την ανάπτυξη νέων εργαλείων για τον εντοπισμό εκείνων, που θα ωφεληθούν περισσότερο από την παρακολούθηση του καρκίνου και από την επικουρική θεραπεία μετά από ενδεχόμενη θεραπευτική επέμβαση.

Η διάγνωση του καρκίνου του παχέος εντέρου προέρχεται, είτε από την κλινικοεργαστηριακή, απεικονιστική και ενδοσκοπική εξέταση ασθενούς που παρουσιάζεται με συμπτώματα ή ως εύρημα στα πλαίσια προσυμπτωματικής ανίχνευσης του όγκου. Η σημειολογία της νόσου μπορεί να περιλαμβάνει την παρουσία αίματος στα κόπρανα, την αλλαγή στις συνήθειες του εντέρου και

τον κοιλιακό πόνο. Άλλα σημεία και συμπτώματα περιλαμβάνουν κόπωση, συμπτώματα που σχετίζονται με την αναιμία, όπως ωχρότητα, δύσπνοια και απώλεια βάρους. Η προγνωστική αξία αυτών των συμπτωμάτων για την παρουσία καρκίνου του παχέος εντέρου σε ηλικιωμένο ασθενή είναι περιορισμένη, αλλά δικαιολογούν περαιτέρω διερεύνηση.

Με την ευρεία εισαγωγή του προσυμπτωματικού ελέγχου του γενικού πληθυσμού για τον καρκίνο του παχέος εντέρου, πολλά άτομα διαγιγνώσκονται σε προκλινικό στάδιο. Σε συμπτωματικούς ασθενείς υπάρχουν διάφορες στρατηγικές για την πρόωμη ανίχνευση του ΚΠΕ σήμερα. Η πιο αποδεκτή είναι η κολοσκόπηση και ο συνδυασμός σιγμοειδοσκόπησης και της δοκιμασίας ανίχνευσης αιμοσφαιρίνης στα κόπρανα (Faecal occult blood test; FOBT). Η υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα έχει καθιερώσει την κολοσκόπηση ως τον ακρογωνιαίο λίθο για την πρόωμη ταυτοποίηση των κακοηθειών του παχέος εντέρου στον, ενδιάμεσου ρίσκου γενικό πληθυσμό (Hermann Brenner, Chang-Claude, et al., 2014; European Colorectal Cancer Screening Guidelines Working Group et al., 2013). Παρόλα αυτά και άλλες ενδοσκοπικές μέθοδοι είναι επίσης διαθέσιμες ή βρίσκονται σε διαδικασία ανάπτυξης (Πίνακας 5). Για τον αρχικό έλεγχο του γενικού πληθυσμού λοιπόν, μπορεί να χρησιμοποιηθούν και μια σειρά άλλων μεθόδων οι οποίες ακολουθούνται από την διενέργεια κολοσκόπησης σε περίπτωση θετικού αρχικού αποτελέσματος.

Πίνακας 5. Δοκιμασίες ανίχνευσης ορθοκολικού καρκίνου

Δοκιμασία ανίχνευσης ΚΠΕ	Χρονικό διάστημα επανελέγχου	Περιορισμοί	Σχετικά με τον ασθενή
Fecal immunochemical test (FIT) με υψηλή ευαισθησία για καρκίνο	Ετήσια	<ul style="list-style-type: none">Μη συμμόρφωση στο ετήσιο τεστΛιγότερο αποτελεσματικό για την ανίχνευση προχωρημένου αδενώματος	<ul style="list-style-type: none">Γίνεται στο σπίτιΧρειάζεται συνήθως ένα μόνο δείγμαΆνευ περιορισμών διαίτας ή φαρμάκων

gFOBT με υψηλή ευαισθησία για καρκίνο	Ετήσια	<ul style="list-style-type: none"> Μη συμμόρφωση στο ετήσιο τεστ Λιγότερο αποτελεσματικό για την ανίχνευση προχωρημένου αδενώματος 	<ul style="list-style-type: none"> Γίνεται στο σπίτι Χρειάζεται συνήθως πολλαπλά δείγματα Χρειάζονται περιορισμοί διαίτας ή φαρμάκων Υψηλότερα ποσοστά ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων σε σχέση με FIT οδηγώντας σε κολοσκόπηση
mt-sDNA (multi target stool DNA)	Ανά 3τία (βάσει κατασκευαστή)	<ul style="list-style-type: none"> Αβεβαιότητα διαχείρισης περιστατικού με αρνητική κολοσκόπηση μετά από θετικό τεστ. Νέο τεστ με περιορισμένα βιβλιογραφικά δεδομένα, χρήζει περαιτέρω έρευνα. 	<ul style="list-style-type: none"> Μπορεί να γίνει στο σπίτι Υψηλότερα ψευδώς θετικά ποσοστά από τη FIT
Κολοσκόπηση	Κάθε 10 χρόνια	<ul style="list-style-type: none"> Κίνδυνος διάτρησης / αιμορραγίας και καρδιοπνευμονικών επιπλοκών λόγω αναισθησίας Η απόδοση εξαρτάται από επάρκεια της προετοιμασίας του εντέρου, χρόνου απόσυρσης, και του ποσοστού ανίχνευσης αδενωμάτων Το επίπεδο συμμόρφωσης στο ανα 10ετία έλεγχο είναι άγνωστο Χαμηλότερη ευαισθησία ανίχνευση νεοπλασίας δεξιό κόλον 	<ul style="list-style-type: none"> Χρειάζεται πλήρη προετοιμασία Χρειάζεται απουσία από εργασία
Αξονική κολογραφία	Ανά 5ετία	<ul style="list-style-type: none"> Μπορούν να ανακαλυφθούν εξωεντερικά ευρήματα που απαιτούν περαιτέρω έλεγχο Έκθεση σε 	<ul style="list-style-type: none"> Απαιτείται πλήρης καθαρισμός του εντέρου Απαιτείται κολοσκόπηση εάν η εξέταση

		ακτινοβολία χαμηλής δόσης	είναι θετική.
Ορθοσιγμοειδοσκόπηση	Ανά 5ετία	<ul style="list-style-type: none"> • Δεν εξετάζει το δεξιό κόλο • Ανευ ποιοτικών στάνταρ και αδυναμίας επίτευξης ολοκληρωμένης εξέτασης 	<ul style="list-style-type: none"> • Πόνος και δυσφορία • Χρήζει εφαρμογής ενέματος • Παθολογικά ευρήματα χρήζουν περαιτέρω εξέτασης

1.5.1 Κολοσκόπηση

Η κολοσκόπηση θεωρείται η εξέταση εκλογής για την διάγνωση του ΚΠΕ. Έχει υψηλή διαγνωστική ακρίβεια και μπορεί να αξιολογήσει την τοποθεσία εντόπισης του όγκου. Είναι σημαντικό ότι η τεχνική αυτή επιτρέπει την ταυτόχρονη λήψη ιστοτεμαχίων βιοψίας και, συνεπώς, την ιστολογική επιβεβαίωση της διάγνωσης καθώς και υλικό για αξιολόγηση του μοριακού προφίλ της βλάβης. Η κολοσκόπηση είναι επίσης η μόνη πρακτικά, τεχνική ανίχνευσης που παρέχει τόσο διαγνωστικό όσο και θεραπευτικό αποτέλεσμα. Η αφαίρεση αδενωμάτων χρησιμοποιώντας την ενδοσκοπική πολυποδεκτομή μπορεί να μειώσει τη συχνότητα και τη θνητότητα από τον ΚΠΕ (Kaminski et al., 2010a; Morris, Rutter, Finan, Thomas, & Valori, 2015; Pox et al., 2012; Valori et al., 2012; Zauber et al., 2012a). Πράγματι, η αποτελεσματικότητα της κολοσκόπησης για τη μείωση της επίπτωσης και της θνητότητας του καρκίνου του παχέος εντέρου αποδείχθηκε σαφώς, με μία μεγάλη αμερικάνικη μελέτη πάνω στους πολύποδες (Winawer et al., 1993; Zauber et al., 2012a). Τα στοιχεία παρακολούθησης των τελευταίων 20 ετών από τη μελέτη αυτή έδειξαν μείωση της θνητότητας του ΚΠΕ κατά 53%, το οποίο ως ένα ενθαρρυντικό αποτέλεσμα, έχει επιβεβαιωθεί από μια πιο πρόσφατη μελέτη (Nishihara et al., 2013; Zauber et al., 2012a). Η ποιότητα της κολοσκόπησης είναι ένας καθοριστικός παράγοντας στη διαγνωστική ακρίβεια ανεύρεσης ενός αδενώματος ή ΚΠΕ,

ώστε να αποφευχθεί η ύπαρξη όγκου στο μεσοδιάστημα των ενδοσκοπικών πράξεων (Corley et al., 2014; Kaminski et al., 2010a; Sanduleanu et al., 2015; Valori et al., 2012). Η ποιότητα της εικόνας της κολοσκόπησης έχει σημειώσει αξιοσημείωτη βελτίωση τα τελευταία 20 χρόνια, με τα αρχικά ινδοοπτικά ενδοσκόπια να αντικαθίστανται σταδιακά με βιντεοενδοσκόπια. Τα τελευταία βελτιώθηκαν περαιτέρω με την πάροδο των ετών, εμφανίζοντας υψηλότερη ανάλυση με ευρεία οπτική γωνία. Η τρέχουσα τεχνολογία εκλογής για διενέργεια ενδοσκόπησης, συνδυάζει ενδοσκόπια υψηλής ευκρίνειας λευκού φωτός. Αν και πλήθος τεχνολογιών για περαιτέρω ενίσχυση της ευκρίνειας της εικόνας στην κολοσκόπηση έχουν εισαχθεί κατά την τελευταία δεκαετία (Narrow band imaging, autofluorescence endoscopy, FICE, Third Eye Retroscope device), δεν φαίνεται να βελτιώνουν αισθητά τη διάγνωση των πολύποδων και του καρκίνου του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τα ενδοσκόπια υψηλής ευκρίνειας λευκού φωτός (high definition- white light endoscopy; HD-WLE) (DeMarco et al., 2010; Leufkens et al., 2011; Nagorni, Bjelakovic, & Petrovic, 2012; Waye et al., 2010). Μόνο η τεχνολογία που χρησιμοποιεί την χρωμοενδοσκόπηση έχει αποδειχθεί ανώτερη της HD-WLE στην ταυτοποίηση των αδενωμάτων (Pohl et al., 2011).

1.5.1.1 Μειονεκτήματα κολοσκόπησης

Υπάρχουν ορισμένα μειονεκτήματα που περιορίζουν την επιθυμητή ευρεία αποδοχή της εν λόγω εξέτασης. Ως επεμβατική εξέταση, οι επιπλοκές μπορεί να είναι αναπόφευκτες, οι πιο συχνές αφορούν καρδιαγγειακά συμβλήματα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, την αιμορραγία και τη διάτρηση μετά την πολυποδεκτομή (European Colorectal Cancer Screening Guidelines Working Group et al., 2013). Άλλα συνοδά μειονεκτήματα, είναι η πιθανή απώλεια προκαρκινωματώδων βλαβών ακόμα και μεγάλου μεγέθους, όπως επίσης, το υψηλό κόστος και το χαμηλό επίπεδο αποδοχής από τον πληθυσμό της εξέτασης αυτής (Corley, Jensen, & Marks, 2011). Επομένως, η επεμβατική φύση της κολοσκόπησης αποτελεί φραγμό για τους περισσότερους υποψήφιους με

αποτέλεσμα να επηρεάζει την προθυμία τους για την συμμετοχή τους σε προγράμματα ανίχνευσης του ΚΠΕ. Τα τελευταία έτη διάφορες εναλλακτικές διαγνωστικές μέθοδοι έχουν εισαχθεί στην καθημερινή κλινική πράξη όπως η ενδοσκοπική κάψουλα και έλεγχος βιοδεικτών.

1.5.2 Σιγμοειδοσκόπηση

Σε σύγκριση με την κολοσκόπηση, η σιγμοειδοσκόπηση έχει λιγότερα μειονεκτήματα λόγω χαμηλού κόστους, λιγότερου χρόνου προετοιμασίας και χωρίς την ανάγκη χορήγησης καταστολής (Schoen et al., 2012). Το κύριο πρόβλημα παρόλα αυτά, είναι η ικανότητα της να ανιχνεύει μόνο τις βλάβες του περιφερικού τμήματος του ΠΕ, δημιουργώντας έτσι ακόμα και σήμερα μία διχογνωμία για την επακόλουθη ή όχι ανάγκη διενέργειας κολοσκόπησης.

1.5.3 Δοκιμασίας ανίχνευσης αιμοσφαιρίνης στα κόπρανα

Η τρίτη και πιο συχνά εφαρμοσμένη δοκιμασία ανίχνευσης ΚΠΕ είναι η FOBΤ (Shaukat et al., 2013). Παρόλο που η δοκιμασία αυτή είναι ευκολότερη στην εκτέλεση από την κολοσκόπηση ή σιγμοειδοσκόπηση, σχετίζεται με ψευδώς θετικά και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα λόγω διαίτας, και άλλων καταστάσεων όπως η κολίτιδα και οι αιμορροΐδες και η επίδραση της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος στα δείγματα κοπράνων (Kaminski et al., 2010b). Επιπρόσθετα η δοκιμασία FOBΤ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική δοκιμασία προσυμπτωματικού ελέγχου μιας και σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, χρειάζεται η περαιτέρω διερεύνηση με κολοσκόπηση (Binefa, Rodríguez-Moranta, Teule, & Medina-Hayas, 2014).

1.5.4 Ενδοσκοπική κάψουλα

Η ενδοσκοπική κάψουλα βασίζεται σε μία ασύρματη συσκευή η οποία καταπίνεται από τον εξεταζόμενο και επιτρέπει τον έλεγχο σχεδόν ολόκληρου

του γαστρεντερικού συστήματος άνευ χρήσης συμβατικής ενδοσκοπηση (Cristiano Spada et al., 2010, 2011; Van Gossum et al., 2009). Η ενδοσκοπική κάψουλα είναι χρήσιμη στη διάγνωση των αδενωμάτων και του ΚΠΕ. Η κάψουλα πρώτης γενιάς βρέθηκε να είναι ικανή να ανιχνεύει πολύποδες μεγαλύτερους των 6 χιλιοστών σε μέγεθος, με ευαισθησία περίπου 60% και ειδικότητα μεγαλύτερη του 80% (Van Gossum et al., 2009). Η ανίχνευση του καρκίνου επιτεύχθηκε στο 74% των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου (Van Gossum et al., 2009).

Με την ανάπτυξη της δεύτερης γενιάς ενδοσκοπικών καψουλών για το παχύ έντερο [PillCam® Colon2 (GivenImagingLtd, Yokne'am Illit, Ισραήλ)], η ταχύτητα λήψης καρέ εικόνων αυξήθηκε από τις τέσσερις εικόνες ανά δευτερόλεπτο, σε 4-35 εικόνες ανά δευτερόλεπτο ανάλογα με την κίνηση της κάψουλα. Η γωνία θέασης διευρύνθηκε από τις 156 ° έως 172 ° και στα δύο άκρα της κάψουλας, παρέχοντας μία θέαση 344 μοιρών. Σε μία μεγάλη μελέτη που διενεργηθεί στις Ηνωμένες Πολιτείες και το Ισραήλ, αξιολογήθηκε η ακρίβεια αυτής της νέας κάψουλας για τη διάγνωση της νεοπλασίας του παχέος εντέρου. Στους 884 ασθενείς που περιλήφθηκαν, η ευαισθησία ήταν της τάξης του 88% και η ειδικότητα της 82% για την ανίχνευση των αδενωμάτων μεγαλύτερων των 6 χιλιοστών σε μέγεθος (Rex et al., 2015). Οι κατευθυντήριες οδηγίες από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ενδοσκοπησης Γαστρεντερικού (ESGE) για την κάψουλα παχέος εντέρου προτείνει την ενδοσκοπική κάψουλα ως ένα εφικτό και ασφαλές εργαλείο για την απεικόνιση του βλεννογόνου του παχέος εντέρου σε ασθενείς που δεν υποβλήθηκαν ή ημιτελώς υποβλήθηκαν σε κολοσκόπηση (C. Spada et al., 2012). Αυτή η σύσταση ενσωματώθηκε στη συνέχεια και στις αντίστοιχες οδηγίες από την Ασία για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του ΠΕ (Sung et al., 2015). Οι ενδείξεις για την ενδοσκοπηση με ασύρματη κάψουλα περιορίζονται σε ασθενείς που αρνούνται τη συμβατική κολοσκόπηση και σε εκείνους στους οποίους δεν δύναται να διενεργηθεί κολοσκόπηση για ανατομικούς λόγους. Η παρουσία στένωσης είναι αντένδειξη για την χρήση ασύρματης ενδοσκοπικής κάψουλας, μιας και ελλοχεύει ο κίνδυνος της κατακράτησης αυτής.

1.5.5 CT κολογραφία

Η CT κολογραφία χρησιμοποιεί χαμηλής δόσης CT σάρωση για να αποκτήσει μια εσωτερική εικόνα του παχέος εντέρου. Η τεχνική έχει καθιερωθεί ως μία διαγνωστική μέθοδος για τον ορθοκολικό καρκίνο (D. H. Kim et al., 2007). Σε μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση που περιελάμβανε περισσότερα από 11.000 άτομα από 49 κέντρα, αποδείχθηκε ότι έχει ευαισθησία 96% για την ανίχνευση του ορθοκολικού καρκίνου (Pickhardt, Hassan, Halligan, & Marmo, 2011a). Αυτή η απόδοση είναι παρόμοια με εκείνη της συμβατικής κολοσκόπησης. Πρόσφατη μελέτη έδειξε παρόμοια απόδοση της CT κολογραφίας και της ασύρματης ενδοσκοπικής κάψουλας σε ασθενείς με προηγούμενη ανολοκλήρωτη κολοσκόπηση (Cristiano Spada et al., 2015). Σε μεγάλη κλίμακας μελέτη που περιλάμβανε 411 ασθενείς με αποφρακτικού τύπου καρκίνους, αναδείχθηκε η εξαιρετική απόδοση της CT κολογραφίας στην αξιολόγηση των εγγύτερων, σύγχρονων βλαβών (Park et al., 2012). Σε μελέτη παρατήρησης βασισμένη σε δεδομένα από την Αγγλία 2.731 ατόμων με θετικό FOBΤ, ο ρυθμός ανίχνευσης προχωρημένης νεοπλασίας ήταν σημαντικά χαμηλότερος στην επακόλουθη CT κολογραφία από ό,τι για την επακόλουθη κολοσκόπηση (Plumb et al., 2013). Επιπλέον, τα ποσοστά ανίχνευσης και διαγνωστικής ακρίβειας για την προχωρημένη νεοπλασία ήταν καλύτερα σε κέντρα μεγάλου όγκου ασθενών. Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν την ανάγκη επαρκούς διασφάλισης ποιότητας παρόμοιας με τα αντίστοιχα μέτρα που εφαρμόζονται για την κολοσκόπηση. Η CT κολογραφία απαιτεί πλήρη προετοιμασία του εντέρου (λήψη καθαρτικών), χορήγηση αέρα και εναλλαγή θέσης των ασθενών κατά τη διάρκεια της εξέτασης. Η δυσφορία των εξεταζόμενων που υποβάλλονται σε CT κολογραφία είναι παρόμοια με την κολοσκόπηση σε έμπειρα χέρια, ιδίως λόγω της ανάγκης για σημαντική εμφύσηση αέρα στο έντερο, αλλά έχει το πλεονέκτημα ότι αποφεύγει τη χρήση της καταστολής και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος σταδιοποίησης σε επιβεβαιωμένο ΚΠΕ (de Wijkerslooth et al., 2012).

1.5.5.1 Μειονεκτήματα CT κολογραφίας

Ωστόσο, η CT κολογραφία έχει χαμηλή ευαισθησία για μικρές (6-9 χιλιοστά) και επίπεδες αλλοιώσεις (de Haan, van Gelder, Graser, Bipat, & Stoker, 2011). Η τεχνική σχετίζεται με υψηλά ποσοστά παραπομπής σε κολοσκόπηση (μέχρι 30%) και υψηλά ποσοστά εξωεντερικών ευρημάτων σε περιπτώσεις χωρίς ΚΠΕ, οι οποίες μεταφράζονται σε περιττές εξετάσεις και αυξημένο άγχος για τους εξεταζόμενους (Pooler, Kim, Lam, Burnside, & Pickhardt, 2014; Stoop et al., 2012). Το κόστος της CT κολογραφίας και η ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση σε υποσύνολο εξεταζόμενων, περιορίζουν τη χρησιμότητα αυτής της μεθόδου για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του γενικού πληθυσμού στις περισσότερες χώρες. Η CT κολογραφία έχει προταθεί ως μία από τις επιλογές για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του ορθοκολικού καρκίνου στις κατευθυντήριες οδηγίες στις Ηνωμένες Πολιτείες και στην Ευρώπη (Cristiano Spada et al., 2014; Yee et al., 2014). Σε πολλές χώρες, η συγκεκριμένη εξέταση αντικατέστησε το βαριούχο υποκλυσμό διπλής αντίθεσης (την συμβατική με ακτίνες Χ απεικονιστική μέθοδο για το παχύ έντερο) και όλο και περισσότερο χρησιμοποιείται ως εναλλακτική λύση στη συμβατική κολοσκόπηση. Ωστόσο, φαίνεται να μην έχει γίνει απολύτως αποδεκτή στην Ευρώπη εξαιτίας της ακτινοβολίας, του κόστους, και των υψηλών ποσοστών παραπομπής σε κολοσκόπηση (Sung et al., 2015).

Επομένως γίνεται όλο και πιο αντιληπτό ότι υπάρχει μια αναδυόμενη ανάγκη για νέες δοκιμασίες προσυμπτωματικού ελέγχου ΚΠΕ, βασισμένες σε μη επεμβατικές μεθόδους όπως ο έλεγχος στηριζόμενος σε μία απλή εξέταση αίματος που θα ανίχνευε νωρίτερα τον ΚΠΕ, θα αύξανε την συμμετοχή των εξεταζόμενων με ελάχιστο κίνδυνο για επιπλοκές, ψευδώς θετικών ή αρνητικών αποτελεσμάτων και με χαμηλά κόστη.

1.5.6 Βιοδείκτες ορθοκολικού καρκίνου

Η μοριακή ανίχνευση του καρκίνου του παχέος εντέρου προσφέρει μια μη

επεμβατική εξέταση που είναι αρκετά ελκυστική στους ασθενείς αλλά και στους ιατρούς, μιας και δείγματα από πολλούς ασθενείς μπορούν να αναλυθούν μαζικά. Ο ιδανικός μοριακός δείκτης πρέπει να έχει την δυνατότητα να διακρίνει επαρκώς τον ΚΠΕ και τα προχωρημένα αδενώματα από άλλες βλάβες, να μπορεί να ανιχνεύεται συνεχώς στον εντερικό αυλό ή στην κυκλοφορία (ορός, πλάσμα αίματος) και τέλος, να εξαφανίζεται ή μειώνεται μετά την αντιμετώπιση ή αφαίρεση της βλάβης. Πράγματι, αναλυτές που χρησιμοποιούν πρωτεΐνες, RNA και DNA στο αίμα, τα κόπρανα και τα ούρα έχουν αναπτυχθεί, αλλά με ποικίλους βαθμούς επιτυχίας (Πίνακας 4).

1.5.6.1 Βιοδείκτες σε δείγματα κοπράνων

Τα τεστ κοπράνων βασίζονται στο γεγονός ότι οι καρκίνοι πρώιμου σταδίου καθώς και προχωρημένες προκαρκινωματώδεις αλλοιώσεις μπορούν να αιμορραγούν και να αποβάλλουν κύτταρα στον αυλό του εντέρου που μπορούν να ανιχνευθούν. Ο αιματολογικός έλεγχος δίνει την δυνατότητα να αποφεύγεται ο χειρισμός βιολογικών υγρών όπως κόπρανα και ούρα και μπορεί να πραγματοποιείται παράλληλα με τον έλεγχο ρουτίνας για το σάκχαρο και τη χοληστερόλη στο αίμα ηλικιωμένου ειδικά, πληθυσμού. Το SEPT9 ανήκει σε μία ομάδα GTPασών και η υπερμεθυλίωση της περιοχής του υποκινητή του συνδέεται με τον ΚΠΕ. Η παθολογική μεθυλίωση του SEPT9 στο επίπεδο ιστού διαχωρίζει την νεοπλασία του παχέος εντέρου από τον φυσιολογικό βλεννογόνο. Πρώιμες μελέτες ελέγχου περιπτώσεων από κέντρα αναφοράς έδειξαν ότι ο έλεγχος μεθυλίωσης του SEPT9 απέδωσε μια μέτρια ευαισθησία της τάξης του 50-70% για τον ορθοκολικό καρκίνο, με ειδικότητα περίπου στο 85-90% (Grützmann et al., 2008). Ωστόσο, μια πιο πρόσφατη, μεγαλύτερης κλίμακας μελέτη σε πληθυσμό με ενδιάμεσο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου, ανέδειξε ένα ποσοστό ανίχνευσης ΚΠΕ μικρότερο από 50% όταν χρησιμοποιείται το τεστ μεθυλίωσης του SEPT9 (Church et al., 2014). Το ποσοστό ανίχνευσης προχωρημένου αδενώματος ΠΕ βασισμένο στην κατάσταση μεθυλίωσης του SEPT9 υπολογίζεται μόνο, περίπου στο 10%. Ως εκ

τούτου, οι ποσοτικές δοκιμασίες ανοσοϊστοχημείας κοπράνων (FITs) φαίνεται να υπερέχουν των αντίστοιχων της ανίχνευσης μεθυλιωμένου SEPT9.

Οι μεταλλάξεις των γονιδίων APC και KRAS έχουν ελεγχθεί από το DNA των επιθηλιακών κυττάρων που απομονώνονται από τα δείγματα κοπράνων. Η πρώτη γενιάς έλεγχοι του DNA των κοπράνων προσέφεραν μόλις ικανοποιητικά αποτελέσματα για ανίχνευση ΚΠΕ με πολύ χαμηλή ευαισθησία στην ανεύρεση προχωρημένων αδενωμάτων ΠΕ (Ahlquist et al., 2008). Έκτοτε, αρκετές τεχνολογικές βελτιώσεις έχουν πραγματοποιηθεί, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης ρυθμιστή σταθεροποίησης, η προσθήκη άλλων δεικτών με μεγαλύτερη διαφοροδιαγνωστική δυνατότητα [μεταλλάξεις KRAS, παθολογικό μέλος 4 της οικογένειας NDRG (NDRG4), μεθυλίωση οστικής μορφογενετικής πρωτεΐνης 3 (BMP3) και παρουσία της β-ακτίνης], τη χρήση πιο ευαίσθητων, αναλυτικών μεθόδων και τη βελτιστοποίηση καθοριστικού αλγορίθμου, τα οποία έχουν βελτιώσει την ακρίβεια της μεθόδου (Imperiale et al., 2014). Άλλοι δυνητικά χρήσιμοι δείκτες που εξετάζονται και θα αναλυθούν και παρακάτω περιλαμβάνουν εκ του όγκου κυκλοφορούντα mRNA, microRNA και κυτοκερατίνες (Bosch et al., 2011).

1.6 Πρόληψη και ανίχνευση

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι ο πιο κατάλληλος τύπος κακοήθειας για μαζικό έλεγχο στον γενικό πληθυσμό, λόγω ενός συνδυασμού παραγόντων (Kuijpers, Rösch, & Bretthauer, 2013). Πρώτον, η επίπτωση της νόσου είναι υψηλή και η πρόγνωση για ένα σημαντικό ποσοστό πασχόντων είναι φτωχή παρά την εντατικοποιημένη, μεγάλου κόστους και πολλές φορές επιβαρυντική θεραπεία (Kuijpers, 2014). Ο ΚΠΕ έχει επίσης, μια μακρά προκλινική φάση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το γεγονός ότι σε μεγάλης κλίμακας επιδημιολογική μελέτη (Ολλανδικό Μητρώο Καρκίνου: www.cijfersoverkanker.nl), 7,151 Ολλανδοί άνδρες ηλικίας 55-75 ετών διαγνώστηκαν με νέο ΚΠΕ το 2012, που αντιστοιχεί στο 0,2% των 3,5 εκατομμυρίων ανθρώπων σε αυτή την ηλικιακή ομάδα. Μια τέτοια επίπτωση

είναι σύμφωνη με παρόμοιες ετήσιες επιπτώσεις και σε άλλες χώρες της Δυτικής Ευρώπης. Ωστόσο, μελέτες που αφορούν προσυμπτωματικές κολοσκοπήσεις τείνουν γενικά να προσδιορίζουν την συχνότητα του ΚΠΕ στο 0,5-0,9% των εξεταζόμενων της ίδιας ηλικιακής ομάδας (Bardelli et al., 2003b; Grady & Pritchard, 2014b; Rex et al., 2012b). Αυτά τα δεδομένα είναι ενδεικτικά ότι ο καρκίνος του παχέος εντέρου εξελίσσεται κατά μέσο όρο για αρκετά χρόνια πριν γίνει συμπτωματικός. Επιπλέον, ο ΚΠΕ έπεται του αδενώματος του παχέος εντέρου, και ο χρόνος αυτής της μεταλλαγής σε ασθενείς με ΚΠΕ σποραδικού τύπου (μη-κληρονομούμενου) μπορεί να διαρκεί τουλάχιστον 5 έως 10 έτη (H. Brenner, Altenhofen, Stock, & Hoffmeister, 2013). Το μακρύ προκλινικό στάδιο της νόσου προσφέρει ένα μεγάλο παράθυρο ευκαιρίας για την πρώιμη ανίχνευση του ΚΠΕ. Δεύτερον, ο ορθοκολικός καρκίνος είναι, εκτός των άλλων, κατάλληλος για προσυμπτωματικό έλεγχο διότι τα αδενώματα και οι πρώιμοι (ενδοβλεννογονικοί) καρκίνοι είναι ανιχνεύσιμες καθώς, και θεραπεύσιμες οντότητες, σε αντίθεση με τις πρόδρομες μορφές άλλων συχνών καρκίνων όπως του μαστού, του προστάτη και τον πνεύμονα. Τέλος, τόσο η ενδοσκοπική αφαίρεση των αδενωμάτων όσο και η θεραπεία των καρκίνων πρώιμου σταδίου, έχει μια σημαντική επίδραση στη θνητότητα από τον ΚΠΕ. Μετά από 20 χρόνια παρακολούθησης εθνικής μελέτης κοόρτης για πολύποδες στις ΗΠΑ, η θνητότητα σχετιζόμενη με ΚΠΕ ήταν περίπου 50% χαμηλότερη μεταξύ των ατόμων που είχαν υποβληθεί στην αρχική ενδοσκόπηση αναφοράς σε ενδοσκοπική αφαίρεση των αδενωμάτων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου που δεν είχαν υποβληθεί σε κολοσκόπηση αναφοράς (Zauber et al., 2012b). Επιπροσθέτως, τα ποσοστά επιβίωσης 5 ετών για τους ασθενείς με καρκίνο πρώιμου σταδίου είναι περίπου 90%, σε σύγκριση με το 10% για τους ασθενείς με διαγνωσμένη μεταστατική νόσο προχωρημένου σταδίου. Όλοι αυτοί οι παράγοντες αποτελούν το υπόβαθρο για διάφορους διεθνείς οργανισμούς να συνθέσουν κατευθυντήριες οδηγίες για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του παχέος εντέρου. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος στις περισσότερες χώρες έχει ως στόχο να εντοπίσει άνδρες και γυναίκες οι οποίοι είναι 50-75 ετών, αν και διαφορετικές ηλικιακές ομάδες

χρησιμοποιούνται σε διάφορα προγράμματα ανάλογα με το διαθέσιμους πόρους (Schreuders et al., 2015). Για παράδειγμα, αποτελέσματα αναλύσεων μοντέλων ανέδειξαν την αποτελεσματικότητα της στρατηγικής διενέργειας προσυμπτωματικού ελέγχου για ΚΠΕ στα 45 έτη, οδηγώντας την Αμερικάνικη ογκολογική εταιρεία να συστήσει σε άτομα μέσου κινδύνου για ΚΠΕ να υποβάλλονται σε προληπτικό έλεγχο σε ηλικία ≥ 45 έτη με ενδοσκοπική/απεικονιστική μέθοδο ή με εξέταση κοπράνων, αναλόγως προτίμησης του ασθενούς και διαθεσιμότητας εξέτασης (Wolf et al., 2018) . Η υιοθέτηση μέτρων σχετικά με τον τρόπο ζωής μπορεί να επηρεάσει επίσης σημαντικά την επίπτωση του καρκίνου του παχέος εντέρου.

1.6.1 Ενδοσκόπηση

Δεδομένου ότι η ενδοαυλική απεικόνιση του παχέος εντέρου μπορεί επιβεβαιώσει ή να αποκλείσει την νεοπλασία του παχέος εντέρου, οι κλινικοί γιατροί προτιμούν συχνά την μέθοδο αυτή για τον προσυμπτωματικό έλεγχο. Τα ορθοκολικά αδενώματα και οι καρκίνοι πρώιμου σταδίου μπορεί να απεικονισθούν άμεσα με ενδοσκόπηση, αξονική κολογραφία ή με ενδοσκόπηση με ασύρματη κάψουλα (Pickhardt, Hassan, Halligan, & Marmo, 2011b; Cristiano Spada et al., 2011; Stoop et al., 2012; Zauber et al., 2012b). Τυχαίοποιημένη συγκριτική μελέτη μεταξύ αξονικής κολογραφίας και κολοσκόπησης για πρωτογενή έλεγχο του πληθυσμού, ανέδειξε ελαφρώς υψηλότερη αποδοχή και διενέργεια της πρώτης, αν και εμφανίζει χαμηλότερη ευαισθησία για προχωρημένη νεοπλασία (Stoop et al., 2012). Ο προσυμπτωματικός έλεγχος με ασύρματη ενδοσκοπική κάψουλα μπορεί να γίνει στο προσεχές μελλοντικό διάστημα, καθιστώντας την μια εναλλακτική μέθοδο απεικόνισης του εντερικού σωλήνα (Cristiano Spada et al., 2011). Συνολικά, η κολοσκόπηση έχει την υψηλότερη ακρίβεια, θεωρείται γενικά η εξέταση εκλογής για τον προσυμπτωματικό έλεγχο, ενώ εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα (Πίνακας 5). Πρόσφατες μεγάλες μελέτες παρατήρησης έδειξαν ότι η κολοσκόπηση ελέγχου μείωσε τον κίνδυνο καρκίνου του παχέος εντέρου

κατά περίπου 80%, και είχε παρόμοια επίδραση στη σχετική θνητότητα (Hermann Brenner, Stock, & Hoffmeister, 2014; Singh et al., 2010). Αυτή η προληπτική επίδραση της κολοσκόπησης εξαρτάται σημαντικά από την ποιότητα της διαδικασίας που ακολουθείται όπως προαναφέρθηκε, η οποία μπορεί να υπολογιστεί με βάση το ποσοστό ανίχνευσης ενός αδενώματος (adenoma detection rate; ADR) του ενδοσκοπίου που διενεργεί την εν λόγω εξέταση (Kaminski et al., 2010a). Άλλοι δείκτες για τον έλεγχο της ποιότητας της διαδικασίας περιλαμβάνουν το επίπεδο προετοιμασίας του εντέρου, τα ποσοστά εισόδου εντός τυφλού, τα ποσοστά επιπλοκών, τη μέση δόση κατασταλτικής φαρμακευτικής αγωγής και τον βαθμό δυσφορίας του ασθενούς (Valori et al., 2012). Σε μια μελέτη από τις Ηνωμένες Πολιτείες, το ποσοστό ανίχνευσης αδενωμάτων ανά ενδοσκόπιο κυμαίνεται από 7% στο χαμηλότερο πεμπτημόριο της ανίχνευσης και στο 50% στο υψηλότερο πεμπτημόριο - μια διαφορά που συνδέεται με σχεδόν διπλάσιο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου στο μεσοδιάστημα των ενδοσκοπήσεων (Corley et al., 2014). Η συσχέτιση μεταξύ του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου μετά την κολοσκόπηση και των ποσοστών ανίχνευσης αδενωμάτων μελετήθηκε σε έρευνα από την Πολωνία (Kaminski et al., 2010a). Τέλος, η εκπαίδευση και τα μέτρα διασφάλισης της ποιότητας, καθώς και η τήρηση των κατευθυντήριων οδηγιών, επίσης επηρεάζουν το ποσοστό των καρκίνων μετά από κολοσκόπηση (le Clercq et al., 2015; Morris et al., 2015). Η σιγμοειδοσκόπηση, η οποία απεικονίζει το ορθό και το σιγμοειδές κόλο και μπορεί να αναδείξει και το περιφερικό τμήμα του παχέος εντέρου, έχει δειχθεί σε αρκετές τυχαίοποιημένες προοπτικές μελέτες ότι μειώνει την επίπτωση του ΚΠΕ περίπου κατά 33% και την σχετιζόμενη θνητότητα κατά 38-59% (Atkin, Edwards, Kralj-Hans, Wooldrage, Hart, Northover, Parkin, Wardle, Duffy, & Cuzick, 2010; Atkin, Edwards, Kralj-Hans, Wooldrage, Hart, Northover, Parkin, Wardle, Duffy, Cuzick, et al., 2010; Hoff, Grotmol, Skovlund, Bretthauer, & Norwegian Colorectal Cancer Prevention Study Group, 2009; Kuipers et al., 2013). Η ευρεία χρήση κολοσκόπησης και σιγμοειδοσκόπησης για πρωτογενή ανίχνευση σε διάφορες χώρες δικαιολογεί την είσοδο ενδοσκοπίων χωρίς απαραίτητα να είναι ιατροί,

οι οποίοι μπορούν να διενεργήσουν μία διαγνωστική ενδοσκόπηση βάσει των διεθνών κανόνων (van Putten et al., 2012). Περισσότερες μελέτες χρειάζονται για την αξιολόγηση της συγκεκριμένης πρακτικής και την σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας της εν λόγω πολιτικής (Stephens et al., 2015).

1.6.2 Προσυμπτωματικός έλεγχος γενικού πληθυσμού στην πράξη

Δεδομένης της σημαντικής αύξησης στο κόστος θεραπείας του ΚΠΕ, ο προσυμπτωματικός έλεγχος για τον ορθοκολικό καρκίνο θεωρείται μία πρακτική εξοικονόμησης δαπανών σε πολλές χώρες. Όπως είδαμε και προηγουμένως, ο έλεγχος αυτός μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας μια σειρά μεθόδων, τόσο επεμβατικών όσο και μη (Πίνακας 5). Τα περισσότερα προγράμματα βασίζονται σε μία πρωταρχική εξέταση, ακολουθούμενη από κολοσκόπηση σε αυτούς με ευρήματα (Schreuders et al., 2015). Ανάλογα με τις εκάστοτε πολιτικές των κρατών, προσφέρεται στους εξεταζόμενους η επιλογή μεταξύ διαφορετικών μεθόδων ελέγχου, οι οποίες ενδέχεται να αυξήσουν ή να μειώσουν τα ποσοστά συμμετοχής (Schreuders et al., 2015; van Dam, Kuipers, Steyerberg, van Leerdam, & de Beaufort, 2013; Vijan et al., 2012). Είναι σημαντικό τα αποτελέσματα του προσυμπτωματικού ελέγχου να παρουσιάζονται με όρους ταυτοποίησης των ατόμων με προχωρημένη νεοπλασία ανά 1.000 που υποβλήθηκαν στον έλεγχο και σε αριθμούς που απαιτούνται για ενδοσκόπηση (number needed to treat; NNT). Μια πολύ ακριβής εξορισμού εξέταση πρώιμης ανίχνευσης δεν έχει καμία επίδραση στην επίπτωση του καρκίνου και την θνητότητα σε έναν πληθυσμό εάν δεν εφαρμοστεί ευρέως (Kuipers, 2014; Kuipers et al., 2013). Ομοίως, οι περιορισμοί στην ικανότητα ενδοσκόπησης αποκλείουν τη χρήση κολοσκόπησης για πρωτογενή έλεγχο. Για τους λόγους αυτούς, πολλές χώρες προτιμούν μία προσέγγιση με δυο κυρίως βήματα για τον προσυμπτωματικό έλεγχο, αρχικώς χρησιμοποιώντας μία μη επεμβατική μέθοδο, ώστε να επιλεγθούν ακολούθως για κολοσκόπηση, οι εξεταζόμενοι με υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ΚΠΕ.

Τυπικά, χρησιμοποιείται ως πρωτογενή δοκιμασία η εξέταση ελέγχου για λανθάνουσα απώλεια αίματος με τα κόπρανα, είτε χρησιμοποιώντας τα FOBTs είτε FITs. Τα FITs είναι σήμερα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα από τα FOBT λόγω της ευκολίας χειρισμού, με αποτέλεσμα να υιοθετούνται κατά μέσο όρο σε ποσοστό 10% υψηλότερα σε σύγκριση με το άλλο, εμφανίζοντας υψηλότερη ευαισθησία για προχωρημένη νεοπλασία, καθώς και αυτοματοποιημένη ανάλυση (Hol et al., 2010; van Rossum et al., 2008). Πράγματι, τα ποσοτικού προσδιορισμού FITs προσφέρουν το πρόσθετο πλεονέκτημα ότι οι cut-off τιμές τους μπορούν να ρυθμιστούν ώστε να αντιστοιχούν στην ποιότητα της κολοσκόπησης (Wilschut et al., 2011). Για το βέλτιστο αποτέλεσμα σε επίπεδο του γενικού πληθυσμού, απαιτείται επαρκής διασφάλιση της ποιότητας όλου του φάσματος του προγράμματος προσυμπτωματικού ελέγχου, όπως οργανώνεται με τις τηλεφωνικές επικοινωνίες και τις στρατηγικές επανελέγχου (Kuipers et al., 2013). Το ποσοστό ανίχνευσης καρκίνου ήταν παρόμοιο και στις δύο ομάδες, αλλά ένα σημαντικό ποσοστό καρκίνων στην ομάδα της κολοσκόπησης ανιχνεύθηκε στην πραγματικότητα εξαρχής από την δοκιμασία FIT μετά από την άρνηση των εξεταζόμενων να υποβληθούν σε κολοσκόπηση. Παρομοίως, σε μια σειρά μελετών ανίχνευση ΚΠΕ στην περιοχή του Ρότερνταμ, Ολλανδίας, το υψηλότερο ποσοστό ανίχνευσης παρατηρήθηκε με επαναλαμβανόμενες εξετάσεις FIT (Kapidzic et al., 2014; Umetani et al., 2004). Αυτό το ποσοστό ανίχνευσης μπορεί να αυξηθεί περαιτέρω με τη χρήση δύο δειγμάτων ανά κύκλο προσυμπτωματικού ελέγχου, ειδικά αν γίνει στον πρώτο κύκλο, αν και αυτή η προσέγγιση είναι λιγότερο αποτελεσματική βάση εξοικονόμησης δαπανών σε σχέση με την ανίχνευση με ένα δείγμα (Goede et al., 2013; van Roon et al., 2011). Ο προσυμπτωματικός έλεγχος με FOBT πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ένα μεσοδιάστημα μεταξύ των εξετάσεων της τάξης του ενός με δυο χρόνια, ενώ ο έλεγχος με το FIT προσφέρει την δυνατότητα να γίνει επέκτασης αυτού του μεσοδιαστήματος στα τρία έτη (van Roon et al., 2013).

1.7 Το κυκλοφορούν DNA ως βιοδείκτης

Το 1948 οι Mandel και Metais ήταν οι πρωτοπόροι που ανακάλυψαν την παρουσία των κυτταρο-απαλλαγμένων νουκλεϊκών οξέων (cell-free nucleic acids; cfNAs) στο αίμα, με αποτέλεσμα να υπάρχει ένας σαφής διαχωρισμός ασθενών που είχαν προσβληθεί από τους υγιείς μάρτυρες, παρόλο που η πρώτη αναφορά των cfNAs φαίνεται να χρονολογείται ήδη από το 1869 (Ashworth, 1869; MANDEL & METAIS, 1948). Έκτοτε, πραγματοποιήθηκαν αρκετές μελέτες σχετιζόμενες ειδικότερα με την παθογένεση του καρκίνου, δείχνοντας ότι τα «κακοήγη» νουκλεϊκά οξέα θα μπορούσαν να υπάρχουν σε διάφορα «σωματικά υγρά» (όπως στα κόπρανα, στο αίμα ή στα ούρα). Επομένως, ήταν θέμα χρόνου η επιβεβαίωση των δυνητικών πλεονεκτημάτων χρησιμοποιώντας τα cfNAs, ως μία μη επεμβατική μέθοδο ανίχνευσης νεοπλασίας (Imperiale et al., 2004a; Müller et al., 2004a).

1.7.1 CfNAs και καρκίνος παχέος εντέρου

Η πρώτη αναφορά πάνω στην ανίχνευση των «παθολογικών» cfNAs σε ασθενείς με ΚΠΕ ήταν το 1992, όταν ο Vogelstein και συνεργάτες ανακάλυψαν μετάλλαξη του γονιδίου KRAS σε δείγματα κοπράνων ατόμων που πάσχουν από ΚΠΕ (Sidransky et al., 1992). Έκτοτε, ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει πραγματοποιήσει αξιολογώντας και άλλες τροποποιήσεις του γονιδιώματος που εκφράζονται στα cfNAs. Αυτές οι τροποποιήσεις χαρακτηρίζονται κυρίως από την ανάλυση γονιδίων με υψηλή συχνότητα μετάλλαξης (όπως τα KRAS, TP53, και APC), από την παρουσία MSI, την απώλεια ετεροζυγωτίας (Loss of Heterozygosity; LOH), και τις μεταβολές στην μεθυλίωση των DNA και microRNA. Εκτός από το τελευταίο, όλα τα άλλα είναι βασικοί παράγοντες της ορθοκολικής καρκινογένεσης που θα μπορούσαν να εκφραστούν με αυξημένες συγκεντρώσεις κυκλοφορούντος DNA στο αίμα των ασθενών με ΚΠΕ σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, όπως για πρώτη φορά αναφέρθηκε από τους Leon και συνεργάτες το 1977, μελέτη ακολουθούμενη από πολλές άλλες στην

συνέχεια (Chen et al., 2013; Leon, Shapiro, Sklaroff, & Yaros, 1977; Qi et al., 2013).

Επομένως, δεδομένου ότι το cfDNA στο αίμα αντικατοπτρίζει σημαντικές μεταβολές του γονιδιώματος που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης του ΚΠΕ, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί πιο συστηματικά ως ένας πιθανός βιοδείκτης για την έγκαιρη ανίχνευση κακοήθων όγκων του παχέος εντέρου, ειδικά μετά τις πρόσφατες εξελίξεις της τεχνολογίας αλληλουχίας της επόμενης γενιάς (next generation sequencing; NGS) (Kaiser, 2010). Παρακάτω ακολουθεί η παράθεση των μεθόδων για την ανίχνευση δεικτών που βασίζονται στο κυκλοφορούν DNA στο αίμα καθώς και μελέτες που εστιάζουν στην περιγραφή αυτών των δεικτών, ήτοι η ανώμαλη μεθυλίωση και μεταλλάξεις του DNA, οι μικροδορυφορικές μεταβολές, οι τροποποιήσεις του DNA στα μιτοχόνδρια, όπως επίσης η ακεραιότητα και ποσοτικοποίηση του DNA.

1.7.2 Μέθοδοι ανίχνευσης των σχετιζόμενων με μεθυλίωση δεικτών του κυκλοφορούντος DNA στο αίμα

Οι μεθοδολογίες που είναι κατάλληλες να διερευνήσουν και να ανιχνεύσουν στον ορό ή στο πλάσμα συχνά μεθυλιωμένες περιοχές του γονιδιώματος προσφέροντας ένα υψηλό ποσοστό ανίχνευσης, είναι κάτι περισσότερο από έναν στόχο. Αυτοί οι ιδανικοί δείκτες θα πρέπει να έχουν χαμηλά επίπεδα μεθυλίωσης ως βάση αναφοράς, ώστε να αποφεύγεται η μειωμένη ειδικότητα και τα αυξημένα ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Επί του παρόντος, αρκετές μοριακές προσεγγίσεις εκτελούνται για τον εντοπισμό του cfDNA στο αίμα. Η συμβατική ειδική για την μεθυλίωση PCR τεχνική, αν και πολύ ευαίσθητη μέθοδος παρουσιάζει υψηλά επίπεδα ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων και η ποιοτική της μέθοδος για την ερμηνεία των ευρημάτων, περιορίζει την κλινική της χρησιμότητα (Herman, Graff, Myöhänen, Nelkin, & Baylin, 1996). Από την άλλη πλευρά, οι μέθοδοι που βασίζονται στην ποσοτική PCR ειδική για την μεθυλίωση (δηλ. MethyLight, SMART-

methylation-specific PCR) προσφέρουν την δυνατότητα να επιλεχθούν ευκολότερα τα κατώφλια μεθυλίωσης ώστε να αποφευχθούν τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα που αναγνωρίζουν την ατελή μετατροπή του διθειώδους (Kristensen, Mikeska, Kryuy, & Dobrovic, 2008). Άλλες προσεγγίσεις περιλαμβάνουν τεχνικές όπως Methylation Array, DNA array, Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS), and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Μια άλλη ενδιαφέρουσα και πιο «ψηφιακή» μεθοδολογία, ονόματι «Methyl-BEAMing», καταδείχθηκε από τους Li και συνεργάτες ώστε να ποσοτικοποιηθεί ψηφιακά το vimentin DNA προερχόμενο από τον καρκίνο, αντιμετωπίζοντας τα προβλήματα με το μικρό κλάσμα του cfDNA στο αίμα (Li et al., 2009). Λαμβάνοντας υπόψη τις μεγάλες ανησυχίες που προκάλεσαν οι προηγούμενες προσεγγίσεις σχετικά με την αδυναμία αναπαραγωγιμότητας και την υψηλή ευαισθησία, πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα αναδύθηκαν με την μελέτη του Leary (Leary et al., 2012). Η χρήση της τεχνολογίας NGS έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, διαχωρίζοντας τους ασθενείς με ΚΠΕ σε προχωρημένο στάδιο από τους υγιείς μάρτυρες. Έτσι, η μέθοδος NGS θα μπορούσε να παρέχει υψηλή ευαισθησία, καλύπτοντας μεγάλες περιοχές του γονιδιώματος για την έγκαιρη ανίχνευση του ΚΠΕ.

1.7.3 Βιοδείκτες κυκλοφορούντος DNA

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών, το cfDNA έχει καταστεί ένας δυναμικός βιοδείκτης για τη διάγνωση κακοήθων όγκων, προβάλλοντας τις γενετικές και επιγενετικές τροποποιήσεις τους. Υπάρχει στο πλάσμα ή στον ορό, αποτελώντας πηγή αποπτωτικών, νεκρωμένων καρκινικών κυττάρων ή ακόμη και ζωντανών κυττάρων. Μπορεί να εμφανιστεί ως μη συνδεδεμένο μόριο DNA, ως τμήμα ιστόνης στο νουκλεόσωμα ή ως τμήμα αποπτωτικών κυττάρων. Όπως ήδη αναφέρθηκε, υπάρχουν αρκετές μέθοδοι αξιολόγησης του cfDNA ως πιθανού βιοδείκτη για την ανίχνευση του ΚΠΕ σε πρώιμο στάδιο. Ενδεικτικά, παρακάτω συνοψίζονται τα κύρια χαρακτηριστικά κάθε

μεθόδου, παραθέτοντας αντιπροσωπευτικές μελέτες που αντικατοπτρίζουν την πιθανή κλινική χρήση αυτών των μεθόδων βασιζόμενων στο κυκλοφορούν DNA.

1.7.3.1 Ποσοτικοποίηση επιπέδων cfDNA

Μια από αυτές τις μεθόδους είναι η ποσοτικοποίηση των επιπέδων του κυκλοφορούντος DNA στο αίμα, που έχει μελετηθεί διεξοδικά σε ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνο από την έρευνα των Leon και συνεργατών από το 1977, που απέδειξε ότι η συγκέντρωση του cfDNA στους ασθενείς αυτούς ήταν υψηλότερη από αυτή των υγιών ατόμων (Leon et al., 1977). Πρόσθετες μελέτες, όπως αυτές που πραγματοποιήθηκαν από τους Frattini, Schwarzenbach και συνεργάτες, επαλήθευσαν τα αυξημένα επίπεδα cfDNA στο πλάσμα αίματος των ατόμων με ΚΠΕ συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες (Schwarzenbach, Stoehlmacher, Pantel, & Goekkurt, 2008). Παρόλο που οι ασθενείς με κακοήθεια μπορεί να παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα cfDNA σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα, πρέπει να τονιστεί ότι το κυκλοφορούν DNA στο πλάσμα μπορεί επίσης να παρατηρηθεί και σε άλλες κλινικές οντότητες όπως στο τραύμα, σε φλεγμονώδεις διαταραχές ακόμη και σε υγιή άτομα (Leon et al., 1977).

1.7.3.2 CfDNA ως δείκτης ακεραιότητας του DNA

Τα τελευταία χρόνια, είναι εδραιωμένο πια ότι ο τρόπος με τον οποίο το κυκλοφορούν DNA απελευθερώνεται στο αίμα, αντανακλά το μέγεθος και τη μορφολογία αυτού του νουκλεϊκού οξέος. Ο ακριβής μηχανισμός δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί, αλλά πιστεύεται ότι το cfDNA εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω μίας αποπτωτικής διαδικασίας και στη συνέχεια κατακερματίζεται από τη δράση των νουκλεασών ή των φαγοκυττάρων σε μικρά σωματίδια μήκους 185 έως 200 bp (Rykova et al., 2012). Ο υπολογισμός του πηλίκου των μακρών τμημάτων του cfDNA προς τα αντίστοιχα μικρά

αντανακλά την ακεραιότητα του κυκλοφορούντος DNA. Έχει διεξαχθεί ένας μεγάλος αριθμός μελετών, που καταδεικνύουν ανακόλουθα αποτελέσματα (Πίνακας 6) όσον αφορά την ευαισθησία και την ειδικότητα του δείκτη ακεραιότητας του cfDNA για την έγκαιρη ανίχνευση του ΚΠΕ (da Silva Filho et al., 2013; Leszinski, Lehner, Gezer, & Holdenrieder, n.d.; Mead, Duku, Bhandari, & Cree, 2011; Mouliere, El Messaoudi, Pang, Dritschilo, & Thierry, 2014; Mouliere et al., 2011; Umetani et al., 2006; Yörüker et al., 2015). Ενδιαφέρον παρουσιάζει πρόσφατη έρευνα από Hao και συνεργάτες που έδειξε ότι η ανίχνευση του συνδυασμού του δείκτη ακεραιότητας DNA (ALU247/115 και ALU115) και του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (carcinoembryonic antigen; CEA) μπορεί να είναι μια αποτελεσματική και επαναλήψιμη μέθοδος για την έγκαιρη διάγνωση του ΚΠΕ (Hao et al., 2014). Ως εκ τούτου, θα πρέπει να γίνουν μεγαλύτερες κλινικές μελέτες προκειμένου να περιοριστούν οι ανακολουθίες που παρουσιάζει η μέθοδος αξιολόγησης της ακεραιότητας του cfDNA.

Πίνακας 6. Δείκτης ακεραιότητας DNA στους ασθενείς με ΚΠΕ

Μελέτη	Αυξημένη ακεραιότητα DNA	Μειωμένη ακεραιότητα DNA
Umetani et al.(2006)	ΝΑΙ	-
Da Silva Filho et al.(2013)	ΝΑΙ	-
Leszinski et al.(2014)	ΝΑΙ	-
Mouliere et al. (2011)	-	ΝΑΙ
Mead et al. (2011)	-	ΝΑΙ
Mouliere et al. (2014)	-	ΝΑΙ
Yörüker et al. (2015)	-	ΝΑΙ

1.7.3.3 Μικροδορυφορικές μεταλλάξεις

Οι μικροδορυφορικές διαφοροποιήσεις αποτελούν ένα άλλο πεδίο έρευνας που σχετίζεται με την ογκογένεση του ΚΠΕ και περιλαμβάνουν την MSI και LOH. Λόγω της παρουσίας τους στο cfDNA, υποτίθεται ότι θα μπορούσαν να είναι δυνητικοί βιοδείκτες του ΚΠΕ για την έγκαιρη διάγνωση προσβεβλημένων ατόμων. Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, η MSI αναφέρεται σε απαισιόφες ή προσθήκες ολίγων νουκλεοτιδίων (1-6 bp σε μήκος) στα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση λαθών κατά την αντιγραφή του DNA, δηλαδή των γονιδίων MMR, ενώ η ανάλυση της LOH επισημαίνει την απώλεια χρωμοσωμικών τμημάτων που φέρουν ογκοκατασταλτικά γονίδια (C R Boland et al., 2000). Αυτές οι σωματικές διαφοροποιήσεις έχουν ανιχνευθεί στο αίμα, σχεδόν στο 35% των ασθενών με ΚΠΕ. Η ύπαρξη μικρών τμημάτων κυκλοφορούντος DNA σχετιζόμενων με μικροδορυφορική αστάθεια είναι γνωστή από το τέλος του 20ου αιώνα, ακολουθούμενη από πολλές μελέτες που επικεντρώνονται στην παρουσία MSI και LOH στο cfDNA (Lazarev et al., n.d.). Μία από αυτές από τους Hibi και συνεργάτες, έδειξε το 1999 ότι, παρόλο που τα LOH και τα MSI βρέθηκαν στο 80% ασθενών με ΚΠΕ όταν εξετάστηκαν οι μικροδορυφορικές μεταβολές του DNA τους, αυτές οι αλλαγές δεν επαληθεύτηκαν στο αντίστοιχο cfDNA του ορού αίματος. Συνεπώς, τα διαθέσιμα δεδομένα αποκαλύπτουν τη σχετικά, χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα στη διάγνωση του ΚΠΕ σε πρώιμα στάδια όταν διερευνώνται οι μικροδορυφορικές μεταβολές.

1.7.3.4 Κυκλοφορούν μιτοχονδριακό DNA

Παρόμοια απογοητευτικά αποτελέσματα έχουν προκύψει από τη μελέτη του κυκλοφορούντος μιτοχονδριακού DNA (circulating mitochondrial DNA; mtDNA) ως πιθανού βιοδείκτη βασισμένο στο κυκλοφορούν DNA για την πρώιμη διάγνωση της νεοπλασίας του παχέος εντέρου. Τα μιτοχόνδρια παίζουν βασικό ρόλο στον ενεργειακό μεταβολισμό, τη γήρανση και την

απόπτωση, διαδραματίζοντας κρίσιμο σκοπό στη μετάπτωση του κυττάρου από τον προγραμματισμένο θάνατο στην ανώμαλη κυτταρική ανάπτυξη, γεγονός που πιθανόν συμβάλει στην καρκινογένεση (Cavalli & Liang, 1998). Ένα σημαντικό μέρος του mtDNA είναι το D-loop τμήμα, μια μη κωδικοποιημένη περιοχή η οποία περιλαμβάνει την έκφραση και οργάνωση του μιτοχondριακού γονιδιώματος. Υποθέτουμε ότι αυτό το τμήμα του mtDNA είναι ένα καίριο σημείο των μεταλλάξεων που οδηγούν σε αστάθεια του DNA, άποψη η οποία έχει επαληθευτεί σε διάφορους τύπους καρκίνων, όπως του εγκεφάλου, του ορθοκολικού, του στομαχιού, προστάτη και του μαστού (Zhu et al., 2004). Παρά τις αρχικές ενθαρρυντικές ενδείξεις, το mtDNA δείχνει μειωμένο ποσοστό ανίχνευσης ΚΠΕ πρώιμου σταδίου, όπως αποκάλυψε η μελέτη του Hibi και συνεργατών, όπου η ανακάλυψη τροποποιήσεων του mtDNA (σωματική μετάλλαξη στην περιοχή D-loop) στους ιστούς των ασθενών με πρώιμο ΚΠΕ, δεν έχει ανευρεθεί στο cfDNA τους (K Hibi et al., 2001).

1.7.3.5 Γονίδια αυξημένης συχνότητας μετάλλαξης και ανάλυση του cfDNA

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το κυκλοφορούν DNA στο αίμα ασθενών με ορθοκολικό καρκίνο αποτελείται από σημαντικά μόρια τα οποία εμπλέκονται στη διαδικασία της ογκογένεσης. Από το 1992, όταν οι Vogelstein και συνεργάτες ανακάλυψαν την γονιδιακή μετάλλαξη του KRAS σε δείγματα κοπράνων ατόμων προσβεβλημένων από ΚΠΕ, γονίδια με αυξημένη συχνότητα μετάλλαξης όπως το KRAS, TP53 και APC, έχουν χρησιμοποιηθεί ως δυνητικοί δείκτες στην ανάλυση του cfDNA για την έγκαιρη διάγνωση κακοηθών βλαβών (Diehl et al., 2005; Thierry Lecomte et al., 2002; Sidransky et al., 1992). Τα αποτελέσματα δεν ήταν αρκετά ελκυστικά λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης του νεοπλασματικού cfDNA (με βάση την ανάλυση των σωματικών μεταλλάξεων των γονιδίων TP53 / APC) σε ασθενείς με ΚΠΕ σε σύγκριση με το wild-type cfDNA σε άτομα χωρίς ΚΠΕ (Diehl et al., 2005). Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμη και η χρήση της μεθόδου ανίχνευσης

NGS cfDNA, δεν φαίνεται να προσφέρει βελτίωση στην ανίχνευση αυτών των μεταλλάξεων του DNA (Yin, Liang, Yan, Liu, & Su, 2013). Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, γονίδια όπως το APC, το TP53 μεταλλάσσονται σε μεγάλο βαθμό σε περιπτώσεις ΚΠΕ, επεκτεινόμενες σε διαφορετικά τμήματα του γονιδιώματος, καθιστώντας δύσκολη τη αξιολόγηση της μετάλλαξης. Έτσι, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι πολύ μεγάλες γονιδιωματικές περιοχές θα πρέπει να αξιολογηθούν προκειμένου να αποκτήσουν μια σημαντική ευαισθησία και σε συνδυασμό της μοναδικής παρουσίας τροποποιημένων γονιδίων σε κάθε ασθενή, εξακολουθεί να είναι αρκετά δύσκολο να χρησιμοποιηθούν αυτές οι σωματικές μεταλλάξεις για πρόιμη ανίχνευση του ΚΠΕ.

1.7.4 Παθολογική μεθυλίωση του DNA: βιοδείκτης κυκλοφορούντος DNA

Όπως έχει ήδη τονιστεί, ο κρίσιμος ρόλος της μη φυσιολογικής μεθυλίωσης του DNA σε συγκεκριμένα στάδια της καρκινογένεσης του ΚΠΕ έχει αναδειχθεί ήδη από το 1983 από τους Feinberg και Vogelstein (Feinberg & Vogelstein, 1983a). Έκτοτε και τα τελευταία χρόνια, πολλές μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι αυτή η επιγενετική τροποποίηση έχει συσχετιστεί με την αλληλουχία φυσιολογικός βλεννογόμος-ανώμαλη κρύπτη-αδένωμα, καρκίνωμα, παίζοντας σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του ΚΠΕ, κυρίως στα πρώτα στάδια (Goel & Boland, 2012; L. Luo et al., 2005; Subramaniam et al., 2009; Umetani et al., 2004; Wendt et al., 2006; Yamashita et al., 2003). Είναι γνωστό ότι κατά την μεθυλίωση του DNA, οι DNA μεθυλοτρανσφεράσες (DNA methyltransferases; DNMTs) καταλύουν την προσθήκη μίας ομάδας μεθυλίου (CH₃) στην πέμπτη θέση άνθρακα στις κυτοσίνες εντός των δινουκλεοτιδίων CpG. Τα τελευταία, αν και παρόντα σε όλο το ανθρώπινο γονιδίωμα, ανακαλύπτονται συχνά στις περιοχές υποκινητή σχεδόν στο 70% των γονιδίων, που συνήθως, όπως είδαμε, ονομάζονται "νησίδια CpG" (Jia, Jurkowska, Zhang, Jeltsch, & Cheng, 2007). Επιπροσθέτως, είναι ήδη καθιερωμένο ότι η υπερμεθυλίωση γονιδίων

υποκινητών όγκου μπορεί να προκαλέσει καταστολή του γονιδίου μεταγραφής, με αποτέλεσμα την ανώμαλη κυτταρική σηματοδότηση και συνεπώς την πιθανή έναρξη της διαδικασίας ογκογένεσης (Esteller, 2008).

Επιπλέον, είναι ενδιαφέρον ότι η μεθυλίωση θα μπορούσε να συμβεί σε θέσεις CpG σε όλο το γονιδιωματικό σώμα και όχι απαραίτητα μόνο σε περιοχές του υποκινητή, οδηγώντας παρόλα αυτά σε μεταγραφική ενεργοποίηση (Hellman & Chess, 2007). Από την άλλη πλευρά, η καθολική υπομεθυλίωση, η οποία εμφανίζεται συχνά πρόωρα κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης, παρουσιάζει απώλεια της μεθυλίωσης του DNA σε όλο το γονιδίωμα, με αποτέλεσμα την CIN και τη μετάλλαξη των κυττάρων (Peeters et al., 2013). Κατά συνέπεια, η σημασία της ανώμαλης μεθυλίωσης του DNA οδήγησε στην έρευνα και ανακάλυψη βασισμένων στο αίμα κυρίως, λόγω της μη επεμβατικής φύσης και της σχέσης κόστους-αποτελεσματικότητας, βιοδεικτών ανίχνευσης ΚΠΕ.

1.7.4.1 Μεθυλίωση SEPT9

Ένα από τα πλέον διερευνηθέντα γονίδια είναι το γονίδιο SEPT9 που εμπλέκεται στον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Η μεθυλίωση της περιοχής υποκινητή $\nu 2$ του SEPT9 έχει καταδειχθεί σε βλάβες από βιοψία σε άτομα με ΚΠΕ σε σύγκριση με φυσιολογικούς ιστούς. Σύμφωνα με τον Grützmann και συνεργάτες, η ανίχνευσή του στο πλάσμα των ασθενών με ΚΠΕ επέδειξε ευαισθησία 72% και ειδικότητα 90%, κάτι που επικυρώθηκε από τη μελέτη του Warren (Grützmann et al., 2008; Warren et al., 2011). Παρόλα αυτά, μια πρόσφατη προοπτική μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Church και συνεργάτες, διερεύνησε τη μεθυλίωση SEPT9 σε 7941 ασυμπτωματικά άτομα κατά τη διάρκεια προσυμπτωματικού ελέγχου με μία διαθέσιμη μέθοδο ανίχνευσης, δείχνοντας ποσοστό ανίχνευσης ΚΠΕ έως 48,2% και ειδικότητα έως 91,5% (Church et al., 2014). Προφανώς, η ανάγκη περαιτέρω ερευνών σε αυτή τη δοκιμασία που διατίθεται στο εμπόριο είναι απαραίτητη όχι μόνο για

να βελτιωθεί το ποσοστό ανίχνευσης της, αλλά και για να ανακαλυφθούν νέες τεχνικές για την ανίχνευση μεθυλίωσης του SEPT9.

1.7.4.2 Ανάλυση πολλαπλών γονιδίων για ανεύρεση μεθυλιωμένου DNA

Επιπλέον, οι ερευνητές έχοντας αντιληφθεί τη χρησιμότητα του SEPT9 έχουν αξιολογήσει πιθανούς συνδυασμούς με άλλους βιοδείκτες μεθυλίωσης. Οι Tänzler και συνεργάτες έδειξαν ότι το μεθυλιωμένο DNA από προχωρημένες προκαρκινωματώδεις εντερικές βλάβες θα μπορούσε να ανακαλυφθεί χρησιμοποιώντας το πάνελ των δεικτών *aristaless-like homeobox 4* (ALX4) και SEPT9 (Tänzler et al., 2010). Παρόμοια, ο Kostin και συνεργάτες συνέκριναν την κατάσταση μεθυλίωσης των γονιδίων SEPT9, παράγοντα μεταγραφής δικήν Helicase (*Helicase-like transcription factor*; HLTf) και ALX4 σε βλάβες συμβατές με ορθοκολικό καρκίνο και σε μορφολογικά άθικτες περιοχές του παχέος εντέρου, που δείχνουν ότι αυτή η ομάδα βιοδεικτών χαρακτηρίζεται από ευαισθησία κοντά στο 74-88% και ειδικότητα 90-96% για την έγκαιρη ταυτοποίηση του ΚΠΕ (Kostin et al., 2010). Τέλος, οι He και συνεργάτες κατέδειξαν υψηλές ευαισθησίες (81 -84%) και ειδικότητες (87%-90%) για τον μη επεμβατικό αιματολογικό έλεγχο πρώιμου σταδίου ΚΠΕ, χρησιμοποιώντας την πολλαπλή ανάλυση MethyLight PCR για την ανίχνευση ταυτόχρονα ανώμαλα μεθυλιωμένων μοτίβων στα γονίδια ALX4, SEPT9, και της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης δικήν EGF με δύο περιοχές που μοιάζουν με φολλιστατίνη 2 (*transmembrane protein with EGF-like, and two follistatin-like domains 2*; TMEFF2) (He et al., 2010).

Εκτός από τα προαναφερθέντα συνδυαστικά πάνελ με το SEPT9, υπάρχουν πρόσφατες μελέτες που δείχνουν ακόμη μεγαλύτερα ποσοστά ανίχνευσης ΚΠΕ εάν χρησιμοποιείται συνδυασμένη ανάλυση αρκετών γονιδίων. Οι Alhquist και συνεργάτες παρουσίασαν υψηλή συνολική ευαισθησία (87%) για την ανίχνευση του ορθοκολικού καρκίνου σε σύγκριση με το SEPT9 (60%),

χρησιμοποιώντας τον συνδυασμό μεθυλιωμένων γονιδίων όπως την μορφογενετική πρωτεΐνη των οστών (bone morphogenetic protein; BMP3), N-myc downstream regulated family member 4 (NDRG4), βιμεντίνη (vimentin), αναστολέα 2 του μονοπατιού του ιστικού παράγοντα (tissue factor pathway inhibitor-2; TFPI2), μεταλλαγμένο KRAS και β-ακτίνη (Ahlquist et al., 2012). Σύμφωνα με τους Carmona και συνεργάτες, υπάρχει ευαισθησία 78% για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου παχέος εντέρου όταν συνδυάζονται γονίδια όπως ο τύπος 1 του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης 2 (AGTR1), wiggless-type MMTV integration site family member 2 (WNT2), slit homolog 2 (Drosophila) (SLIT2) (Carmona et al., 2013). Επιπλέον, ο Cassinotti εξέθεσε την πιθανή χρήση γονιδιακού πίνακα, που αποτελείται από το γονίδιο κυκλίνης τύπου D (D-type cyclin; CYCD2), hypermethylated in Cancer 1 (HIC1), PAX5, Ras association domain family 1, isoform A (RASSF1A) καταστολέα ρετινοβλαστώματος (retinoblastoma tumor suppressor, RB1) και ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου (sheep red blood cells, SRBC) με ευαισθησία σχεδόν 84% και ειδικότητα 68% (Cassinotti et al., 2012). Συγκρίσιμα αποτελέσματα που αποκαλύφθηκαν από άλλες μελέτες καθιστούν αυτά τα πάνελ ισχυρά εργαλεία για μελλοντικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας (Πίνακας 7) (deVos et al., 2009a, 2009b; Ebert et al., 2006; Glockner et al., 2009; Herbst et al., 2011; Kenji Hibi et al., 2010, 2011; Lange et al., 2012; Lee et al., 2009; Leung et al., 2005; Lind et al., 2011; Lo et al., 1998; Lofton-Day et al., 2008; Nishio et al., 2010; Oh et al., 2013; Pack et al., 2013; Pedersen et al., 2014; Potter et al., 2014; Suzuki, Yamamoto, Maruyama, Niinuma, & Kai, 2014; Takada et al., 2010; Tan et al., 2007; Wallner et al., 2006; Warton et al., 2014).

Παράλληλα, πολλά μεθυλιωμένα γονίδια στην κυκλοφορία του αίματος έχουν μελετηθεί είτε μεμονωμένα ή ενσωματωμένα σε ομάδες γονιδίων για χρήση αυτών ως πιθανοί βιοδείκτες όπως ήδη καταδείχθηκε προηγουμένως και παρουσιάζονται στον Πίνακα 7 βάσει των ποσοστών ανίχνευσης ΚΠΕ (Church et al., 2014; Grützmann et al., 2008; Li et al., 2009; Tänzer et al., 2010; Warren et al., 2011). Μερικά από αυτά (SEPT9, ALX4, SDC2, RUNX3, TMEFF2, NEUROG1) παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την

ανίχνευση του ΚΠΕ στα αρχικά του στάδια όταν αναλύουμε την κατάσταση μεθυλίωσης του cfDNA (He et al., 2010; Tänzer et al., 2010). Παρόλο που η αξιολόγηση ορισμένων από αυτών των εκτρεπόμενων μεθυλωμένων γονιδίων μπορεί να καταγράψει καλύτερα διαγνωστικά αποτελέσματα από την ανάλυση SEPT9, η οικονομική τους αποδοτικότητα, η περαιτέρω τεχνική βελτίωση και τα χαμηλά ποσοστά διενέργειας των εξετάσεων εμποδίζουν τη χρήση τους σε κλινικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας (Ahlquist et al., 2012; Potter et al., 2014). Έτσι, το SEPT9 ως ο πιο συχνός βιολογικός δείκτης ανάλυσης μεθυλίωσης στην κυκλοφορία τους αίματος αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο παράδειγμα για την περαιτέρω διενέργεια μελετών πάνω στην μεθυλίωση του cfDNA, για την πρόωρη διάγνωση των ατόμων μέσω κινδύνου από ΚΠΕ.

Πίνακας 7. Πιθανοί βιοδείκτες κυκλοφορούντος DNA στο αίμα βασισμένοι σε παθολογικά μεθυλωμένα γονίδια

Πιθανοί βιοδείκτες	Ευσαιθησία για ΚΠΕ (%)	Ειδικότητα για ΚΠΕ (%)
ALX4	40-83	70-82
TFPI2	76-89	-
SDC2	92	-
RUNX3	65	100
NEUROG1	52-64	91
MGMT	39	96
RARβ2	24	100
NGFR	51	84
SEPT9	48-90	86-93
TMEFF2	65	69
Vimentin	59	93
RASSF2A	58	100
Wif-1	74	98
APC	6	100

hMLH1	43	98
HTLF	21-34	98-100
SFRP2	67	94
CDKN2A/P16	71	100
Panel: SEPT9, HLTf and ALX4	74-88	90-96
Panel: SEPT9 and ALX4	-	-
Panel:MGMT,RASSF2A,Wif-1 gene	86.5	-
Panel: BMP3, NDRG4, vimentin, TFPI2, mutant KRAS and β - actin	87	-
Panel: AGTR1, WNT2, SLIT2	78	-
Panel: CINP1,FBN1,INA,SNCA,MAL and SPG20	90-99	-
Panel: CYCD2, HIC1, PAX5, RASSF1A, RB1 and SRBC	84	68
Panel: THBD and C9orf50	71	80
RASSF1A, E-cadherin,	-	-
CAHM	-	-
FRP2, TPEF/HPP1	-	-

ALX4: aristaless-like homeobox 4; TFPI2: tissue factor pathway inhibitor 2; SDC2: syndecan 2; RUNX3: Runt-related transcription factor 3; NEUROG1: neurogenin 1; MGMT: O-6-methylguanine-DNA methyltransferase; RAR β 2: retinoic acid receptor β 2; NGFR: nerve growth factor receptor; SEPT9: Septin 9; TMEFF2: transmembrane protein with EGF-like, and two follistatin-like domains 2 ; RASSF2A: Ras association domain family 2 (isoform A); Wif-1: Wnt inhibitory factor-1; APC: Adenomatosis Polyposis Coli; hMLH1: MutL homolog 1; HLTf: Helicase-like transcription factor; SFRP2: secreted frizzled-related protein 2; CDKN2A/P16: Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A; BMP3: bone morphogenetic protein; NDRG4: N-myc downstream regulated family member 4; KRAS: Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog; AGTR1:

tissue facangiotensin II receptor type 1; WNT2: wingless-type MMTV integration site family member 2; SLIT2: slit homolog 2 (*Drosophila*); CINP1 FBN1: fibrillin 1; INA SNCA: α -synuclein gene; MAL SPG20: spastic paraplegia-20; CYCD2: D-type cyclin gene; HIC1: Hypermethylated in Cancer 1; PAX5: paired box gene 5; RASSF1A: Ras association domain family 1 (isoform A); RB1: retinoblastoma tumor suppressor; SRBC: sheep red blood cells; THBD: Thrombomodulin; C9orf50: chromosome 9 open reading frame 50; CAHM FRP2: frizzled related protein 2; TPEF/HPP1: transmembrane protein containing epidermal growth factor, follistatin domain/hyperplastic polyposis 1

1.7.5 Σκέψεις και διλλήματα πριν την ανάλυση του κυκλοφορούντος DNA

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η ανάλυση της μεθυλίωσης του γονιδίου SEPT9 θα μπορούσε να αποτελέσει αντικείμενο περαιτέρω τεχνικής προόδου (Potter et al., 2014). Ως εκ τούτου, είναι εύλογο να υποθέσουμε ότι διάφοροι παράγοντες θα μπορούσαν να διαδραματίσουν κρίσιμο ρόλο, όπως η δειγματοληψία αίματος και η επεξεργασία του cfDNA. Είναι καλά εδραιωμένο ότι το κυκλοφορούν στο αίμα DNA μπορεί να εξαχθεί τόσο από το πλάσμα όσο και από τον ορό, με το τελευταίο να παρουσιάζει υψηλότερη συγκέντρωση DNA (Lo et al., 1998; Warton et al., 2014). Ωστόσο, υπάρχουν μελέτες που υποδηλώνουν ότι αυτή η υψηλή συγκέντρωση DNA στον ορό αντανakλά την *in vitro* λύση των λευκοκυττάρων όταν λαμβάνουν χώρα διαδικασίες πήξης και/ή ινωδόλυσης (Warton et al., 2014). Μια άλλη θεωρία υπογραμμίζει τη σημαντική επίδραση που έχουν οι χημικές διαφορές μεταξύ του ορού και του πλάσματος κατά την εξαγωγή του DNA (Jung, Klotzek, Lewandowski, Fleischhacker, & Jung, 2003). Άλλοι παράγοντες που πρέπει να λάβουν υπόψη οι έρευνες είναι οι εξής: ο χρόνος μεσοδιαστήματος μεταξύ λήψης αίματος και φυγοκέντρησης, τη μέθοδο αποθήκευσης δείγματος, το αντιπηκτικό που χρησιμοποιείται, τη θερμοκρασία, και το πρωτόκολλο απομόνωσης του DNA

από το πλάσμα (Jung et al., 2003). Όλες αυτές οι παράμετροι παρουσιάζουν τεράστια σημασία όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και την ποιότητα της ανάλυσης κυκλοφορούντος DNA, που απεικονίζουν την αξιοπιστία που θα έπρεπε να έχουν οι νεότερες μέθοδοι της ανάλυσης του cfDNA.

1.8 Συμπεράσματα

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι μία από τις πιο θανατηφόρες κακοήθειες μέχρι σήμερα παρόλο που διατίθενται διάφορες τεχνικές για την πρόληψη και την ανίχνευση της εμφάνισής του. Αν και αυτές οι προληπτικές τεχνικές (σιγμοειδοσκόπηση, κολοσκόπηση, FOBT, FIT) παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την ανίχνευση του ΚΠΕ, το ποσοστό αποδοχής τους από τον γενικό πληθυσμό παραμένει χαμηλό. Παράλληλα, η ταχεία εξέλιξη της μοριακής βιολογίας έχει αποκαλύψει νέα πεδία έρευνας πάνω στην μετάφραση των γονιδίων που σχετίζονται με ανακάλυψη πιθανών βιοδεικτών για τον ορθοκολικό καρκίνο σε διάφορα «βιολογικά υγρά». Αυτοί οι δείκτες αξιολογούν τα θραύσματα του DNA, RNA ή πρωτεϊνών στο αίμα ή στα κόπρανα επιδεικνύοντας έναν ολοένα και αυξανόμενο οικονομικά αποδοτικό και ευαίσθητο τρόπο ανίχνευσης προκαρκινωματοδών τροποποιήσεων του γονιδιώματος σε άτομα μέσου κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου. Έτσι, με αυτήν την διατριβή προσπαθήσαμε να επισημάνουμε την νέα αυτή εξέλιξη στην προσυμπτωματική ανίχνευση του ΚΠΕ βασιζόμενοι στο κυκλοφορούν DNA του αίματος. Φαίνεται γενικά ότι τέτοιοι βιοδείκτες προσφέρουν ένα εύκολο, οικονομικό και με ελάχιστη επεμβατικότητα διαγνωστικό πλεονέκτημα για την ανεύρεση μίας νεοπλαστικής βλάβης του παχέος εντέρου. Πιστεύουμε ότι αυτή η έρευνα αποδεικνύει σε βάθος την ανάγκη να διεξαχθούν περαιτέρω μελέτες οι οποίες θα πρέπει να είναι μεγάλης κλίμακας και τυχαιοποιημένες, που θα προσπαθήσουν να αξιολογήσουν και να διευκρινίσουν την κλινική αξία όλων αυτών των νέων προτεινόμενων δοκιμασιών ανίχνευσης, οι οποίες θα μπορούσαν να συνδυαστούν με τις ήδη

συμβατικές μεθόδους ως μια στρατηγική βελτίωσης της ποιότητας του υπάρχοντος προσδόκιμου ζωής.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σκοπός της μελέτης

Το κυκλοφορούν ελεύθερο DNA (circulating free DNA; cfDNA) προερχόμενο από το πλάσμα αίματος ατόμων συνήθους κινδύνου και από ασθενείς με προκαρκινωμάτωσης και νεοπλασματικές βλάβες παχέος εντέρου, αποτελεί μία σημαντική πηγή νεοπλασματικού γονιδιώματος. Ο σκοπός της εν λόγω διατριβής ήταν η συγκριτική μελέτη της ύπαρξης και συχνότητας των μεταλλάξεων των γονιδίων V-Ki-ras 2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS), καθώς και v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog-B (BRAF) μεταξύ του cfDNA που ανευρίσκεται στο αίμα και αυτού της βιοψίας εντερικού ιστοτεμαχίου σε άτομα που υποβάλλονται σε κολοσκόπηση προληπτικού ελέγχου. Για να μπορέσουμε λοιπόν να εξάγουμε αξιόπιστα αποτελέσματα για την επίτευξη του ανωτέρου σκοπού, κατανεμήθηκαν τα άτομα της μελέτης σε τρεις ομάδες: Ομάδα Α: υγιή άτομα που υποβλήθηκαν σε προληπτική κολοσκόπηση και στα οποία δεν βρέθηκαν πολύποδες, ομάδα Β: ασθενείς με ΚΠΕ, και την ομάδα Γ: ασθενείς με νεοπλασματικούς εντερικούς πολύποδες.

2.2 Υλικά και Μέθοδοι

2.2.1 Συμμετέχοντες και δείγματα

Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν στο Γαστρεντερολογικό τμήμα του νοσοκομείου ΓΝΑ «Ευαγγελισμός», στην Αθήνα, από τον Ιανουάριο 2015 έως τον Ιανουάριο 2016. Συλλέχθηκαν συνολικά 92 δείγματα αίματος και 92 δείγματα βιοψίας από το παχύ έντερο από υγιή άτομα που υποβλήθηκαν σε

κολοσκόπηση χωρίς πολύποδες (ομάδα Α, ν = 35), ασθενείς με ανεύρεση ΚΠΕ (ομάδα Β, ν=27) και ασθενείς με νεοπλαστικούς εντερικούς πολύποδες (ομάδα Γ, ν=30). Λεπτομερή δεδομένα παρατίθενται στον Πίνακα 8. Συλλέχθηκε μικρή ποσότητα αίματος (5 ml) από περιφερική φλέβα από κάθε ασθενή και ελήφθησαν στην ίδια επίσκεψη και ιστοτεμάχια εντερικού ιστού κατά την διάρκεια κολοσκόπησης. Όλα τα δείγματα φυλάχθηκαν στους -80 ° C για περαιτέρω ανάλυση. Ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό συνδρόμων αδενωματοδούς πολυποδίασης ή συνδρόμου Lynch αποκλείστηκαν από τη μελέτη αυτή. Η μελέτη μας διεξήχθη σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Επιτροπής Ηθικής του Νοσοκομείου. Έγγραφη συγκατάθεση μετά από ενημέρωση ελήφθη από όλους τους συμμετέχοντες της μελέτης.

Πίνακας 8. Κλινικά δεδομένα των συμμετεχόντων.		Φύλο (ν)			Ηλικία (έτη)	
Ομάδα		Σύνολο	Άρρενες	Θήλειες	Εύρος	Μέση ± SD
Ομάδα Α (υγιή άτομα)		35	15	20	38-78	62,5 ± 9,1
Ομάδα Β (καρκίνος του παχέος εντέρου)	Σωληνώδες αδενοκαρκίνωμα	11	7	4	48-85	67,4 ± 8,2
	Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα	3	2	1	41-68	58,2 ± 9,6
	Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα	1	1	0		44
	Μικτό αδενοκαρκίνωμα	11	6	5	61-74	68,2 ± 4,5
	Πλακώδες αδενοκαρκίνωμα	1	0	1		58
Ομάδα Γ (νεοπλαστικοί πολύποδες)	Σωληνωτό αδένωμα	13	9	4	47-84	68,4 ± 9,2
	Λαχνωτό αδένωμα	4	2	2	43-69	57,2 ± 10,7
	Σωληνολαχνωτό αδένωμα	9	6	3	44-76	63,5 ± 10,3
	Οδοντωτό αδένωμα	4	3	1	57-63	60,2 ± 2,5

2.2.2 Γονοτοπική ανάλυση

Το DNA από τα δείγματα βιοψίας του παχέος εντέρου εξήχθησαν χρησιμοποιώντας εμπορικό κιτ (Nucleospin Tissue, Macherey-Nagel, Düren Germany). Το κυκλοφορούν ελεύθερο DNA από τα δείγματα πλάσματος μετά από την συλλογή αίματος περιφερικής φλέβας, απομονώθηκε χρησιμοποιώντας κιτ High Pure Viral Nucleic Acid (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η συγκέντρωση του DNA προσδιορίστηκε σε ένα φασματοφωτομετρητή Nanodrop ND-100 (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA). Η παρουσία μιας μετάλλαξης στο κωδικόνιο 12 και το κωδικόνιο 13 του KRAS προσδιορίστηκε με μία εμπλουτισμένη αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ακολουθούμενη από πολυμορφισμό μεγέθους περιοριστικών τμημάτων (PCR-RFLP) όπως περιγράφηκε προηγουμένως (Goutas et al., n.d.; Hatzaki et al., 2001). Εν ολίγοις χρησιμοποιήθηκαν ένας ψευδής ανάντη εκκινητής για ενίσχυση του κωδικονίου 12, και ένας ψευδής κατάντη εκκινητής για ενίσχυση κωδικονίου 13, οι οποίοι εισήγαγαν μία εστία περιορισμού των *BstNI* και *HaeIII* στο αλληλόμορφο ευρέως τύπου, αντίστοιχα. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ακόλουθοι: KRAS12F: 5'-ACTGAATATAAACTTGTGGTAGTTGGACCT-3', KRAS12R: 5'-CTGTATCAAAGAATGGTCCTGCACCAGTA-3' και KRAS13F: 5'-GTACTGGTGGAGTATTTGATAGTGTATTA-3', KRAS13R: 5'-GTATCGTCAAGGCACTCTTGCCTAGG-3'. Τα αναμενόμενα μεγέθη των προϊόντων της PCR είναι 162 bp και 159 bp για το κωδικόνιο 12 και 13 αντίστοιχα. Η δράση του ενζύμου *BstNI* στο κωδικόνιο 12 του wild-type αλληλίου, αποδίδει 2 ζώνες των 133 και 29 bp, ενώ ο mutant τύπος παραμένει άθικτος (162 bp). Η δράση του ενζύμου *HaeIII* στο wild-type κωδικόνιο 13 αλληλόμορφο δίδει θραύσματα μήκους 85, 48 και 26 bp, ενώ τα μεταλλαγμένα αλληλία αποδίδουν μόνο δύο θραύσματα των 85 και 74 bp, λόγω ενός εσωτερικού σημείου του *HaeIII* στο νουκλεοτίδιο 85. Όσον αφορά

την μετάλλαξη στο V600E *BRAF*, χρησιμοποιήθηκαν δύο εμπρόσθιοι εκκινητές με παραλλαγές στα νουκλεοτίδια του άκρου 3' κατά τέτοιο τρόπο ώστε ο καθένας ήταν ειδικός για την wild-type (V, AGGTG ATTTTGGTCTAGCTACAGT) ή την μεταλλαγμένη παραλλαγή (E, AGG TGATTTTGGTCTAGCTACAGA) και έναν αντίστροφο εκκινητή (AS, TAGTAACTCAG-CAGCATCTCAGGGC), όπως περιγράφηκε προηγουμένως (31,32). Η ανάλυση αλληλουχίας αντιπροσωπευτικών PCR προϊόντων επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα.

2.2.3 Στατιστική ανάλυση

Η συχνότητα και οι ευαισθησίες μεταλλάξεων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας το τεστ χ^2 . Οι αναλογίες πιθανοτήτων (Odds ratios; OR) και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% (confidence intervals; CI) υπολογίστηκαν με το αντίστοιχο τεστ κατανομής χ^2 . Οι τιμές p που ελήφθησαν ήταν της μορφής two-tailed και προσδιορίστηκαν ως σημαντικές όταν $p < 0,05$. Η ισορροπία Hardy-Weinberg επαληθεύτηκε με τον υπολογισμό των αναμενόμενων συχνοτήτων και εξετάστηκε χωριστά σε ασθενείς και μάρτυρες χρησιμοποιώντας τη goodness-of-fit χ^2 τεστ. Όλες οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό GraphPad έκδοση 3.00 (GraphPad Software Inc., SanDiego, CA, USA).

2.3 Αποτελέσματα

Συνολικά 92 συμμετέχοντες είχαν υποβληθεί τόσο σε λήψη βιοψιών από το παχύ έντερο όσο και σε συλλογή δειγμάτων αίματος για την αξιόπιστη ανίχνευση μεταλλάξεων στα γονίδια *KRAS* και *BRAF*. Η κατάσταση των εν λόγω μεταλλάξεων σε δείγματα από βιοψίες και αίμα παρατίθενται στους Πίνακες 9 και 10.

Πίνακας 9. Ανάλυση των Μεταλλάξεων στα δείγματα βιοψίας από το κόλον. Τα δεδομένα αποτυπώνονται ως αριθμός ατόμων						
	KRAS		KRAS		BRAF	
	κωδικόνιο 12		κωδικόνιο 13		(V600E)	
Ομάδα	+	-	+	-	+	-
A (υγιή άτομα)	1	34	0	35	6	29
B (καρκίνος του παχέος εντέρου)	12	15	0	27	8	19
χ^2 (έναντι ομάδας A)	13.49		-	-	0,74	
p - τιμή	0,0002		-	-	0,39	
Γ (νεοπλαστικοί πολύποδες)	5	25	0	30	8	22
χ^2 (έναντι ομάδας A)	2.21		-	-	0,39	
p-τιμή	0.14		-	-	0,53	
χ^2 (έναντι ομάδας B)	3.99		-	-	0,062	
p -τιμή	0,046		-	-	0.80	
+: Μεταλλάξεις που υπάρχουν -: δεν υπάρχει μετάλλαξη						

Η ανιχνευθείσα συχνότητα μετάλλαξης στο κωδικόνιο 12 του γονιδίου *KRAS* στις βιοψίες της ομάδας B (ΚΠΕ) ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτή της ομάδας Γ (νεοπλασματικοί πολύποδες) ($p = 0,046$) και της ομάδας A (υγιή άτομα) ($p < 0,001$) ενώ δεν ανεδείχθη σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων A και Γ. Πιο συγκεκριμένα, όταν μελετήσαμε την συχνότητα των μεταλλάξεων της ομάδας B σε σχέση με την ομάδα A στα ιστοτεμάχια βιοψίας από το παχύ έντερο, στατιστική σημαντικότητα παρουσιάστηκε στην συγκριτική μελέτη των μεταλλάξεων στο κωδικόνιο 12 (χ^2 : 13.49, p : 0.0002) μιας και 12 από τους 27 ασθενείς της ομάδας B ήταν θετικοί σε μετάλλαξη για το συγκεκριμένο γονίδιο. Όσον αφορά την συγκριτική ανάλυση για το ίδιο γονίδιο για την ομάδα Γ σε σχέση με την ομάδα A και την ομάδα B, τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν στατιστική σημαντικότητα μόνο σε σχέση με την ομάδα B (ΚΠΕ) και πιο συγκεκριμένα χ^2 : 2,21 με p : 0,14 και χ^2 : 3,99 με p : 0,046 αντίστοιχα. Κανένας από τους ασθενείς ή τους μάρτυρες δεν βρέθηκε να φέρει μεταλλάξεις στο κωδικόνιο 13 του γονιδίου *KRAS*. Όσον αφορά τη μετάλλαξη *BRAF* V600E, ο ρυθμός ανίχνευσης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των εξεταζόμενων ομάδων. Πιο αναλυτικά, 6 από τους 35 μάρτυρες της ομάδας A και 8 από τους 27 ασθενείς με ΚΠΕ της ομάδας B ήταν θετικοί σε

μετάλλαξη στο γονίδιο *BRAF* V600E. Η συγκριτική μελέτη των 2 αυτών ομάδων δεν ανέδειξε σημαντική διαφορά όταν μελετήσαμε την συχνότητα των μεταλλάξεων στα ιστοτεμάχια βιοψιών παχέος εντέρου (χ^2 : 0,74, p : 0,39). Στην ομάδα Γ με τους νεοπλασματικούς πολύποδες 8 από τους 30 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί στην μετάλλαξη στο προαναφερθέν γονίδιο. Όταν μελετήσαμε το ρυθμό των μεταλλάξεων μεταξύ των ασθενών της ομάδας Γ και των αντίστοιχων ατόμων των ομάδων Β και Α (ΚΠΕ και υγιών αντίστοιχα) δεν βρήκαμε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των εξεταζομένων, ήτοι χ^2 : 0,062 με p : 0,80 και χ^2 : 0,39 με p : 0,53 αντίστοιχα.

Πίνακας 10. Ανάλυση των Μεταλλάξεων στα δείγματα αίματος . Τα δεδομένα αποτυπώνονται ως αριθμός ατόμων						
	<i>KRAS</i>		<i>KRAS</i>		<i>BRAF</i>	
	κωδικόνιο 12		κωδικόνιο 13		(V600E)	
Ομάδα	+	-	+	-	+	-
A (υγιή άτομα)	2	33	0	35	4	31
B (καρκίνος του παχέος εντέρου)	9	18	0	27	4	23
χ^2 (έναντι ομάδας A)	6.19		-	-	0,0001	
p - τιμή	0,013		-	-	0,99	
Γ (νεοπλασματικοί πολύποδες)	3	27	0	30	6	24
χ^2 (έναντι ομάδας A)	0,03		-	-	0,37	
p-τιμή	0.86		-	-	0,54	
χ^2 (έναντι ομάδας B)	3.36		-	-	0,03	
p -τιμή	0,06		-	-	0.87	
+: Μεταλλάξεις που υπάρχουν. -: δεν υπάρχει μετάλλαξη						

Στα δείγματα αίματος, ο ρυθμός ανίχνευσης της μετάλλαξης στο κωδικόνιο 12 του γονιδίου *KRAS* στην ομάδα Γ δεν έδειξε σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με το ρυθμό μετάλλαξης στις ομάδες Α και Β. Πιο συγκεκριμένα στην ομάδα Γ με τους νεοπλασματικούς πολύποδες υπήρχαν 3 από τους 30 ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί στην μετάλλαξη στο προαναφερθέν κωδικόνιο. Όταν μελετήσαμε το ρυθμό των μεταλλάξεων μεταξύ των ασθενών της ομάδας Γ και των αντίστοιχων ατόμων των ομάδων Β και Α (ΚΠΕ και υγιών αντίστοιχα) δεν

βρήκαμε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των εξεταζομένων, ήτοι χ^2 : 3,36 με p : 0,06 και χ^2 : 0,03 με p : 0,86 αντίστοιχα.

Αντίθετα, ο ρυθμός μετάλλαξης στο κωδικόνιο 12 του γονιδίου *KRAS* στα δείγματα αίματος της ομάδας Β (9 από τους 27 ασθενείς της ομάδας βρέθηκαν θετικοί στην μετάλλαξη) ήταν σημαντικά υψηλότερος από αυτόν της ομάδας Α (χ^2 : 6,19, p =0,013). Κανένας από τους ασθενείς ή τους μάρτυρες δεν βρέθηκε να φέρει μετάλλαξη στο κωδικόνιο 13 του γονιδίου *KRAS* στα δείγματα αίματος αυτών. Όσον αφορά τη μετάλλαξη *BRAF* V600E, ο ρυθμός ανίχνευσης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των εξεταζόμενων ομάδων. Πιο αναλυτικά, 4 από τους 35 μάρτυρες της ομάδας Α και 4 από τους 27 ασθενείς με ΚΠΕ της ομάδας Β ήταν θετικοί σε μετάλλαξη στο γονίδιο *BRAF* V600E. Η συγκριτική μελέτη των 2 αυτών ομάδων δεν ανέδειξε σημαντική διαφορά όταν μελετήσαμε την συχνότητα των μεταλλάξεων στα δείγματα αίματος (χ^2 : 0,0001 , p : 0,99). Στην ομάδα Γ με τους νεοπλασματικούς πολύποδες υπήρχαν 6 από τους 30 ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί στην μετάλλαξη στο προαναφερθέν γονίδιο. Όταν μελετήσαμε το ρυθμό των μεταλλάξεων μεταξύ των ασθενών της ομάδας Γ και των αντίστοιχων ατόμων των ομάδων Β και Α (ΚΠΕ και υγιών αντίστοιχα) δεν βρήκαμε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των εξεταζομένων, ήτοι χ^2 : 0,03 με p : 0,87 και χ^2 : 0,37 με p : 0,54 αντίστοιχα.

Τα δεδομένα που προκύπτουν μετά τη σύγκριση της κατάστασης μετάλλαξης μεταξύ των αντιστοιχισμένων βιοψιών παχέος εντέρου και των δειγμάτων αίματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Σύγκριση της παρουσίας μετάλλαξης μεταξύ των αντιστοιχισμένων δειγμάτων βιοψίας και αίματος. Τα δεδομένα αποτυπώνονται ως αριθμός ατόμων			
Ομάδα		<i>KRAS</i>	<i>BRAF</i>
		κωδικόνιο 12 μετάλλαξη	(V600E) μετάλλαξη
A (υγιή άτομα)	Βιοψία	0	2
	Αίμα	1	0
	Βιοψία + αίμα	1	4
B (καρκίνος του παχέος εντέρου)	Βιοψία	5	5
	Αίμα	2	1
	Βιοψία + αίμα	7	3
Γ (νεοπλαστικοί πολύποδες)	Βιοψία	2	4
	Αίμα	0	2
	Βιοψία + αίμα	3	4

Όσον αφορά τη συνολική αντιστοιχία μεταξύ της κατάστασης μετάλλαξης στις βιοψίες και στο αίμα, υπήρξε μια μετάλλαξη του κωδικονίου 12 του *KRAS* στην ομάδα A και σε ένα δείγμα βιοψίας από έναν ασθενή που κατέδειξε επίσης μετάλλαξη *KRAS* στο δείγμα αίματος. Υπήρχε μία μόνο περίπτωση που παρατηρήθηκε σε ένα υγιές άτομο το οποίο είχε ανιχνεύσιμη μετάλλαξη στο αίμα αλλά όχι στο δείγμα βιοψίας του παχέος εντέρου. Για την ομάδα B, επτά ασθενείς είχαν μεταλλάξεις στο *KRAS* σε δείγματα βιοψίας και αίματος ταυτόχρονα, πέντε μόνο σε βιοψίες και δύο μόνο σε δείγματα αίματος. Στην ομάδα Γ, τρεις από τους ασθενείς είχαν μεταλλάξεις τόσο σε δείγματα βιοψιών όσο και σε δείγματα αίματος, ενώ μόνο δύο ασθενείς είχαν μεταλλάξεις αποκλειστικά στα δείγματα βιοψιών παχέος εντέρου.

Όσον αφορά τη μετάλλαξη *BRAF* V600E, έξι ασθενείς στην ομάδα A ήταν φορείς της μετάλλαξης. Σε τέσσερις άλλους, η μετάλλαξη ανιχνεύθηκε τόσο σε βιοψία όσο και σε δείγματα αίματος, ενώ σε δύο ασθενείς ήταν παρούσα μόνο σε δείγματα βιοψίας. Στην ομάδα B, τρεις ασθενείς είχαν τη μετάλλαξη τόσο στην βιοψία όσο και σε δείγματα αίματος, ενώ πέντε ασθενείς παρουσίασαν μετάλλαξη στη βιοψία και ένας μόνο στο δείγμα αίματος. Σε τέσσερις ασθενείς της ομάδας Γ, η μετάλλαξη ανιχνεύθηκε τόσο σε δείγματα βιοψίας όσο και σε

αυτά του αίματος, ενώ σε τέσσερις ασθενείς η μετάλλαξη βρέθηκε αποκλειστικά σε βιοψίες και σε 2 ασθενείς στο δείγμα αίματος.

3. Συζήτηση

Μια νέα μη επεμβατική μέθοδος ανίχνευσης και παρακολούθησης του ΚΠΕ προσέλυσε πρόσφατα το ενδιαφέρον των ερευνητών: ο μοριακός χαρακτηρισμός του κυκλοφορούντος ελεύθερου DNA στην κυκλοφορία του αίματος. Εκτός της περιφερικής κυκλοφορίας (πλάσμα, ορός), cfDNA μπορεί επίσης να βρεθεί και σε άλλα σωματικά υγρά (Su, Wang, Brenner, Norton, & Block, 2008). Αυτό που είναι ουσιαστικά καινοτόμο, είναι ότι αναφορές στην πρόσφατη βιβλιογραφία έδειξαν ότι το cfDNA έχει προγνωστική αξία σε ασθενείς με ΚΠΕ (Schwarzenbach et al., 2008; K. L. G. Spindler, Pallisgaard, Andersen, Brandslund, & Jakobsen, 2015; Karen-Lise Garm Spindler et al., 2014). Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, το cfDNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο ως διαγνωστικό εργαλείο όσο και ως προγνωστικός δείκτης και μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί στην ανίχνευση ειδικών για τον όγκο μεταλλάξεων στο κυκλοφορικό σύστημα των ασθενών με ΚΠΕ (Karen-Lise Garm Spindler et al., 2015). Οι συχνότερες μεταλλάξεις που εμφανίζονται σε καρκινικά κύτταρα ΚΠΕ είναι KRAS. Ωστόσο, η κλινική σημασία της μετάλλαξης KRAS στον ΚΠΕ είναι βάσει κάποιων ερευνών υπό διερεύνηση ακόμα, όπως έχουμε ήδη προαναφέρει, μιας και αρκετές μελέτες δεν ανέφεραν σημαντική επίδραση στην επιβίωση, ενώ άλλες πρότειναν ότι οι ασθενείς με ΚΠΕ με μετάλλαξη στο KRAS έχουν χειρότερη πρόγνωση (Andreyev et al., 2001; Richman et al., 2009; Roth et al., 2010; Summers et al., 2017; Westra et al., 2005). Οι μεταλλάξεις KRAS και BRAF οδηγούν στη δομική ενεργοποίηση της σηματοδότησης υποδοχέα του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (endothelial growth factor receptor; EGFR) μέσω της ογκογονικής οδού RAS / RAF / MEK / ERK. Λόγω αυτών των μεταλλάξεων, τα κύτταρα προερχόμενα από το ΚΠΕ αναπτύσσουν αντοχή στα μονοκλωνικά αντισώματα του EGFR, καθώς και σε ευρέως χρησιμοποιούμενες στοχευμένες θεραπείες EGFR (Misale

et al., 2014). Προκειμένου να αποφευχθεί αυτό το πιθανό αποτέλεσμα, συνιστάται πριν από την έναρξη των θεραπειών τους, όλοι οι ασθενείς που είναι κατάλληλοι για αντι-EGFR σχήμα, να εξετάζονται για μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS. Ταυτόχρονα, θα πρέπει να εντοπιστούν οι σημειακές μεταλλάξεις BRAF V600E, καθώς βρίσκονται στο 9% των περιπτώσεων και ενδεχομένως παρεμβαίνουν στις στοχευμένες θεραπείες (Wan et al., 2004). Το γονίδιο BRAF αποτελεί κατάντη του KRAS και συμβάλλει στην ενεργοποίηση των ίδιων ενδοκυτταρικών οδών. Σύμφωνα με αρκετές αναφορές, η πλειοψηφία των μεταλλάξεων KRAS και BRAF που βρέθηκαν, αλληλοαναιρούνται (De Roock, Claes, et al., 2010). Μία μετάλλαξη στο BRAF θεωρείται αρνητικός προγνωστικός παράγοντας (Corcoran et al., 2010). Ακόμα, λόγω αλληλοσυγκρουόμενων αναφορών, η κατάσταση μετάλλαξης του γονιδίου BRAF δεν έχει ακόμη συμπεριληφθεί στις τυποποιημένες οδηγίες θεραπείας του ΚΠΕ ως οδηγός για τη θεραπεία με σχήμα αντι-EGFR (Karapetis et al., 2014; Laurent-Puig et al., 2009; Tol et al., 2010; Yokota, 2012). Διάφορες μέθοδοι χρησιμοποιούνται επί του παρόντος στην ανάλυση της κατάστασης μετάλλαξης του KRAS ασθενών με ορθοκολικό καρκίνο. Στην πραγματικότητα, η μέθοδος προσδιορισμού της από ιστοτεμάχια του όγκου κάθε ασθενούς παρουσιάζεται ως ένα από τα πρώτα παραδείγματα εξατομικευμένης ιατρικής στον τομέα της ογκολογίας (Moorcraft, Smyth, & Cunningham, 2013). Ανίχνευση των μεταλλάξεων BRAF περιλαμβάνονται στον έλεγχο των ασθενών στους οποίους δεν έχουν εντοπιστεί μεταλλάξεις KRAS, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες. Είναι σημαντικό να επισημάνουμε ότι, μολονότι η μοριακή ανάλυση των μεταλλάξεων συνήθως εκτελείται σε ιστοτεμάχιο του όγκου, υπάρχουν αρκετοί προβληματισμοί ότι αυτή η μέθοδος δεν αντικατοπτρίζει τη βιολογία της νόσου κατά την έναρξη της θεραπείας με EGFR (Karen-Lise Garm Spindler et al., 2015). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι συχνά διαρκεί αρκετά χρόνια η μετάπτωση από τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης του όγκου μέχρι το χρόνο της χειρουργικής επέμβασης ή θεραπείας του. Επιπλέον, δεν συνιστώνται επαναλαμβανόμενες βιοψίες επειδή θεωρούνται ανήθικες και μη πρακτικές. Ως

εκ τούτου, η χρήση του cfDNA για την ανίχνευση αυτών των ειδικών για τον όγκο γενωμικών αλλαγών, μπορεί να γίνει μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική για την επιλογή στοχευμένων θεραπειών. Σήμερα είναι γνωστό ότι οι μεταλλάξεις DNA των γονιδίων KRAS και BRAF έχουν μεγάλη επίδραση στην εξέλιξη του ορθοκολικού αδενώματος σε καρκίνωμα. Συγκεκριμένα, πάνω από το 50% των ανθρώπινων ορθοκολικών καρκινωμάτων και αδενωμάτων φέρουν μεταλλάξεις KRAS, που εμφανίζονται πρώιμα στην αλληλουχία πολύποδας-αδένωμα-νεοπλασία συνηθέστερα στα κωδικόνια 12 και 13 (Brink et al., 2003; Fearon & Vogelstein, 1990; Hayashi et al., 1996). Επιπλέον, οι μεταλλάξεις στο BRAF έχουν συνδεθεί με υψηλόβαθμης κακοήθειας καρκίνο παχέος εντέρου δεξιού κόλου, με το γυναικείο φύλο, την μεγαλύτερη ηλικία και την αυξημένη μικροδορυφορική αστάθεια στους όγκους (De Roock, Jonker, et al., 2010; Tol et al., 2010). Επιπλέον, ο πολύ σημαντικός ρόλος του γονότυπου του KRAS και του BRAF είναι η πολύτιμη συνεισφορά τους στην συστηματική χημειοθεραπεία, προβλέποντας τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα της αντι-EGFR θεραπείας. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η κατάσταση του KRAS είναι ο μόνος επιβεβαιωμένος προγνωστικός βιοδείκτης στην κλινική πρακτική για την αξιολόγηση της απόκρισης σε αναστολείς του EGFR που χρησιμοποιούνται για τον ΚΠΕ, όπως το cetuximab ή panitumumab, εξαιτίας του γεγονότος ότι το μεταλλαγμένο γονίδιο KRAS σχετίζεται με αντίσταση στην ανοσοθεραπεία με αντι-EGFR.

Σύμφωνα με τους Amado και συνεργάτες, αυτά τα μονοκλωνικά αντισώματα προκαλούν μία ανταπόκριση της τάξης του 17-40% των ασθενών με ΚΠΕ με wild-type γονίδιο KRAS σε σύγκριση με το 0% των ασθενών με μεταλλάξεις στο KRAS (Amado et al., 2008). Πρόσφατη μετα-ανάλυση του Qiu και συνεργατών, οι οποίοι ανέλυσαν 22 μελέτες, στις οποίες συμπεριλήφθηκαν 2.188 ασθενείς που έλαβαν αντι-EGFR θεραπεία, έδειξαν ότι η συνολική κατάσταση της μετάλλαξης στο KRAS συσχετίστηκε με μη ανταπόκριση και βραχεία συνολική επιβίωση (Qiu et al., 2010). Όσον αφορά τον προγνωστικό ρόλο της μετάλλαξης BRAF στην ανταπόκριση στην θεραπεία με αναστολή του EGFR, δεν είναι τόσο

εξακριβωμένο όσο για τη μετάλλαξη KRAS, και το μεταλλαγμένο BRAF γονίδιο δεν αποτελεί ακόμη κριτήριο αποκλεισμού για αυτόν τον τύπο θεραπείας (Di Nicolantonio et al., 2008; Loupakis et al., 2009; Van Cutsem et al., 2011).

Παρ'όλα αυτά, οι Charman και συνεργάτες έδειξαν ότι υπάρχει καλύτερη επιβίωση με αντι-EGFR θεραπεία σε ασθενείς με μελάνωμα και με μετάλλαξη BRAF V600E (Charman et al., 2011). Συμπερασματικά, ο γονοτυπικός προσδιορισμός της κατάσταση μετάλλαξης των KRAS και BRAF θεωρείται εξέταση εκλογής για την κατηγοριοποίηση του ΚΠΕ ώστε να ληφθούν οι αντίστοιχες κλινικές αποφάσεις. Δυστυχώς, η δειγματοληψία ιστοτεμαχίων των πρωτοπαθών όγκων δεν είναι πάντοτε διαθέσιμη, δεδομένου ότι μερικές φορές είναι δύσκολο να ληφθούν αυτές ή να διαρκέσει χρόνια το διάστημα προτού εμφανιστούν οι μεταστάσεις, ενώ η κατάσταση μετάλλαξης των πρωτοπαθών βλαβών μπορεί να αλλάξει με την πάροδο του χρόνου (Artale et al., 2008; Tie et al., 2011). Για να ξεπεραστούν αυτά τα μειονεκτήματα, ένας μη επεμβατικός και οικονομικός βιοδείκτης θα μπορούσε να είναι μια ιδανική μέθοδος για την αποτύπωση της κατάστασης ολόκληρου του γονιδιώματος του όγκου σε διάφορα σημεία κατά τη διάρκεια της νόσου. Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι Mandel και Metais το 1948 ήταν οι πρώτοι ερευνητές που ανακάλυψαν την ύπαρξη cfNAs στην κυκλοφορία του αίματος, χωρίζοντας τους "προσβεβλημένους ασθενείς από τους υγιείς μάρτυρες" (MANDEL & METAIS, 1948). Επομένως, ήταν θέμα χρόνου η χρήση του cfNA ως μη επεμβατική μέθοδος ανίχνευσης νεοπλασίας (Imperiale et al., 2004b; Müller et al., 2004b; Roperch et al., 2013). Εφόσον οι μεταλλάξεις στο DNA βρέθηκαν σε καρκινικά κύτταρα «υγρών βιοψιών», είναι λογικό να υποθέσουμε ότι αυτές οι αλλοιώσεις αντανακλώνται στο cfDNA που απελευθερώνεται από τον νεοπλασματικό ιστό στο αίμα. Επιπλέον, η ανάλυση του cfDNA είναι μη επεμβατική τεχνική που θα μπορούσε να προσφέρει ανεκτίμητες πληροφορίες για την έγκαιρη ανίχνευση διασποράς των καρκινικών κυττάρων, με σημαντικές κλινικές και βιολογικές εφαρμογές κατόπιν αυτού. Επομένως, είναι

εφικτό ότι η χρήση του cfDNA ως υγρή βιοψία, θα συμβάλει σε αυτή τη μελέτη μοριακής παρακολούθησης που φαίνεται να είναι επειγόντως αναγκαία.

Στην εν λόγω διατριβή λοιπόν, περιγράφουμε μια συγκριτική μελέτη των μεταλλάξεων που επισυμβαίνουν σε θέσεις μονο-νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (single nucleotide polymorphism; SNP) των γονιδίων K-RAS και BRAF σε ανθρώπους που υποβάλλονται σε προσυμπτωματική κολοσκόπηση. Από την ανάλυση του νεοπλασματικού ιστού μέσω της τυπικής βιοψίας και του περιφερικού αίματος (χρησιμοποιώντας την μέθοδο PCR-RFLP σχεδιασμένη ειδικά για την ανάλυση του cfDNA) μπορέσαμε να καθορίσουμε τα δεδομένα σχετικά με την κατάσταση των μεταλλάξεων των γονιδίων K-RAS και BRAF (για τα κωδικόνια 12, 13 και V600E αντίστοιχα). Ένα σύνολο λοιπόν, 92 δειγμάτων αίματος και 92 δειγμάτων ιστοτεμαχίων από βιοψία κόλου συλλέχθηκαν από: υγιή άτομα που υποβλήθηκαν σε κολοσκόπηση ανίχνευσης βλαβών χωρίς πολύποδες (Ομάδα Α), ασθενείς που ανευρέθηκε ΚΠΕ (Ομάδα Β) και ασθενείς με νεοπλαστικούς εντερικούς πολύποδες (Ομάδα Γ). Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, παρόμοιες έρευνες που συγκρίνουν την συχνότητα ανίχνευσης του status των μεταλλάξεων στα γονίδια αυτά σε αίμα και βιοψίες εντερικού ιστού είναι ολιγάριθμες περικλείοντας μικρό αριθμό ασθενών (T. Lecomte, Ceze, Dorval, & Laurent-Puig, 2010; Ryan et al., 2003; K.-L. G. Spindler, Pallisgaard, Vogelius, & Jakobsen, 2012; Trevisiol et al., n.d.; Yen et al., 2009).

Βρήκαμε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο κατά την ανάλυση μετάλλαξης για το κωδικόνιο 12 του γονιδίου KRAS όταν συγκρίναμε βιοψίες ιστών από ασθενείς της ομάδας Β (ΚΠΕ) με την ομάδα Γ (νεοπλασματικοί πολύποδες) ($\chi^2 = 3.99$; $p=0,046$) και με την ομάδα Α (υγιείς μάρτυρες) ($p<0.001$). Στα δείγματα αίματος, ο ρυθμός ανίχνευσης των μεταλλάξεων στο κωδικόνιο 12 του KRAS στην ομάδα Γ δεν έδειξε σημαντική διαφορά όταν συγκρίθηκε με το ρυθμό μετάλλαξης των ομάδων Α και Β, αν και το ποσοστό ανίχνευσης στην ομάδα Β βρέθηκε να είναι υψηλότερο από ό,τι στην ομάδα Γ. Επίσης, στατιστικώς σημαντική διαφορά ($\chi^2=3.99$; $p=0,013$) αναδείχτηκε όταν συγκρίναμε το ποσοστό των μεταλλάξεων στο κωδικόνιο 12 στις βιοψίες και στο cfDNA

προερχόμενο από το αίμα στην Ομάδα Β και Ομάδα Α, μία αντιστοιχία που επιβεβαιώνεται και από την βιβλιογραφία (Anker et al., 1997; Trevisiol et al., n.d.). Πιο συγκεκριμένα, 12 ασθενείς είχαν μετάλλαξη στο 12 κωδικόνιο του KRAS στον πρωτοπαθή τους όγκο και βρέθηκαν πανομοιότυπες μεταλλάξεις στο DNA του πλάσματος σε 9 από αυτούς τους ασθενείς. Παρόμοια ευρήματα παρουσιάστηκαν από τους Lecomte και συνεργάτες, οι οποίοι ανέφεραν ότι το ποσοστό ανίχνευσης των μεταλλάξεων στο περιφερικό αίμα κυμαινόταν μεταξύ 9% (3/16) και 100% (5/5) (T. Lecomte et al., 2010). Πρόσφατα, οι Yen και βοηθοί, έδειξαν στη μελέτη τους, η οποία αποτελείται από 76 ασθενείς, υψηλότερο ποσοστό ανίχνευσης μετάλλαξης σε δείγματα αίματος, ποσοστό κοντά στο 84,4% (Yen et al., 2009).

Σχετικά με τις τροποποιήσεις του γονιδιακού υλικού στο κωδικόνιο 13 του γονιδίου K-RAS, κανένας από τους ασθενείς και μάρτυρες δεν παρουσίασαν κάποια τέτοια τροποποίηση. Καταλήγοντας, όσον αφορά την μετάλλαξη στο V600EBRAF, το ποσοστό ανίχνευσης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων που εξετάστηκαν.

Σχετικά με την συγκριτική μελέτη της συνολικής κατάστασης των μεταλλάξεων μεταξύ των αντιστοιχισμένων δειγμάτων από βιοψία και αίμα, μια συμφωνία της μεταλλαξιγόνου κατάστασης της τάξεως του 26% εμφανίστηκε στο κωδικόνιο 12 του τροποποιημένου γονιδίου K-RAS στη ομάδα Β, και 10% στην Ομάδα Γ. Η ανάλογη αντιστοιχία για το γονίδιο BRAF (V600E) είναι 13, 3% για την Ομάδα Γ και 11, 1% για την Ομάδα Β.

4. Συμπέρασμα

Συμπερασματικά, η εν λόγω μελέτη αξιολογεί την συχνότητα του ποσοστού των μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα κωδικόνια των γονιδίων K-RAS και BRAF, στο εξαγόμενο από το αίμα κυκλοφορούν DNA και στις βιοψίες από το παχύ έντερο, αντίστοιχα. Παρόλο που η στατιστική διαφορά δεν επιβεβαιώθηκε σε όλες τις συγκρινόμενες ομάδες ασθενών, ήταν δυνατό να ανιχνευθούν γονιδιωματικές αλλοιώσεις, ειδικά μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS, όχι μόνο σε

δείγματα ιστών ΠΕ, αλλά και σε κυκλοφορούν DNA που εξήχθη από δείγματα αίματος υγιών ατόμων που υποβλήθηκαν σε προσυμπτωματική κολοσκόπηση, σε ασθενείς με νεοπλασματικούς πολύποδες και ασθενείς με ΚΠΕ. Το πιο σημαντικό είναι ότι το cfDNA αίματος μπορεί να είναι ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο στον προληπτικό έλεγχο για ΚΠΕ, καθώς μπορεί να διακρίνει ασθενείς με ΚΠΕ από υγιή άτομα και από αυτούς με πολύποδες παχέος εντέρου, αν και δεν φαίνεται χρήσιμο στην πρόβλεψη της παρουσίας εντερικών πολυπόδων. Αν και αυτό δεν αποδείχτηκε στην εν λόγω διατριβή με στατιστική σημαντικότητα, παρόλα αυτά υπάρχουν οι ενδείξεις ότι ειδικά η χρήση πάνελ μεθυλιωμένων γονιδίων στην κυκλοφορία του αίματος θα αποτελέσει σε μεγαλύτερο βαθμό στο μέλλον το υπόστρωμα για την δημιουργία νέων πιθανών βιοδεικτών. Αν αυτά τα προσδοκώμενα αποτελέσματα επιβεβαιωθούν σε μεγαλύτερης κλίμακας μελέτες, η γενετική ανάλυση του DNA προερχόμενου από τα παράγωγα του αίματος μπορεί να έχει πιο τεκμηριωμένες κλινικές εφαρμογές στο μέλλον όχι μόνο στην πρόγνωση του ΚΠΕ υπό αντί-EGFR θεραπεία αλλά και στην πρόωμη ανίχνευση και διάγνωση της εντερικής κακοήθειας αντιστοίχως.

5. Βιβλιογραφία

- Ahlquist, D. A., Sargent, D. J., Loprinzi, C. L., Levin, T. R., Rex, D. K., Ahnen, D. J., ... Hillman, S. L. (2008). Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia. *Annals of Internal Medicine*, 149(7), 441-450, W81. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18838724>
- Ahlquist, D. A., Taylor, W. R., Mahoney, D. W., Zou, H., Domanico, M., Thibodeau, S. N., ... Lidgard, G. P. (2012). The Stool DNA Test Is More Accurate Than the Plasma Septin 9 Test in Detecting Colorectal Neoplasia. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(3), 272-277.e1. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2011.10.008>

- Aleksandrova, K., Pischon, T., Jenab, M., Bueno-de-Mesquita, H. B., Fedirko, V., Norat, T., ... Boeing, H. (2014). Combined impact of healthy lifestyle factors on colorectal cancer: a large European cohort study. *BMC Medicine*, 12(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s12916-014-0168-4>
- Algra, A. M., & Rothwell, P. M. (2012). Effects of regular aspirin on long-term cancer incidence and metastasis: a systematic comparison of evidence from observational studies versus randomised trials. *The Lancet Oncology*, 13(5), 518–527. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70112-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70112-2)
- Amado, R. G., Wolf, M., Peeters, M., Van Cutsem, E., Siena, S., Freeman, D. J., ... Chang, D. D. (2008). Wild-Type *KRAS* Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 26(10), 1626–1634. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.7116>
- Andersen, V., & Vogel, U. (2014). Systematic review: interactions between aspirin, and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and polymorphisms in relation to colorectal cancer. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 40(2), 147–159. <https://doi.org/10.1111/apt.12807>
- Andreyev, H. J. N., Norman, A. R., Cunningham, D., Oates, J., Dix, B. R., Iacopetta, B. J., ... Urosevic, N. (2001). Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *British Journal of Cancer*, 85(5), 692–696. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.1964>
- Anker, P., Lefort, F., Vasioukhin, V., Lyautey, J., Lederrey, C., Chen, X., ... Farthing, M. (1997). K-ras mutations are found in DNA extracted from the plasma of patients with colorectal cancer. *Gastroenterology*, 112(4), 1114–1120. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(97\)70121-5](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(97)70121-5)
- Arem, H., Moore, S. C., Park, Y., Ballard-Barbash, R., Hollenbeck, A., Leitzmann, M., & Matthews, C. E. (2014). Physical activity and cancer-specific mortality in the NIH-AARP Diet and Health Study cohort. *International Journal of Cancer*, 135(2), 423–431. <https://doi.org/10.1002/ijc.28659>
- Artale, S., Sartore-Bianchi, A., Veronese, S. M., Gambi, V., Sarnataro, C. S., Gambacorta, M., ... Siena, S. (2008). Mutations of *KRAS* and *BRAF* in

- Primary and Matched Metastatic Sites of Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 26(25), 4217–4219.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.7286>
- Ashworth, T. R. (1869). A Case of Cancer in Which Cells Similar to Those in the Tumours Were Seen in the Blood after Death. *The Medical Journal of Australia*, (14), 146–147.
- Atkin, W. S., Edwards, R., Kralj-Hans, I., Wooldrage, K., Hart, A. R., Northover, J. M., ... Cuzick, J. (2010). Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*, 375(9726), 1624–1633. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60551-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60551-X)
- Atkin, W. S., Edwards, R., Kralj-Hans, I., Wooldrage, K., Hart, A. R., Northover, J. M., ... UK Flexible Sigmoidoscopy Trial Investigators. (2010). Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*, 375(9726), 1624–1633. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60551-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60551-X)
- Bardelli, A., Parsons, D. W., Silliman, N., Ptak, J., Szabo, S., Saha, S., ... Velculescu, V. E. (2003a). Mutational Analysis of the Tyrosine Kinome in Colorectal Cancers. *Science*, 300(5621), 949–949. <https://doi.org/10.1126/science.1082596>
- Bardelli, A., Parsons, D. W., Silliman, N., Ptak, J., Szabo, S., Saha, S., ... Velculescu, V. E. (2003b). Mutational Analysis of the Tyrosine Kinome in Colorectal Cancers. *Science*, 300(5621), 949–949. <https://doi.org/10.1126/science.1082596>
- Bardou, M., Barkun, A., & Martel, M. (2010). Effect of statin therapy on colorectal cancer. *Gut*, 59(11), 1572–1585. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.190900>
- Bettington, M., Walker, N., Clouston, A., Brown, I., Leggett, B., & Whitehall, V. (2013). The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology*, 62(3), 367–386. <https://doi.org/10.1111/his.12055>

- Binefa, G., Rodríguez-Moranta, F., Teule, A., & Medina-Hayas, M. (2014). Colorectal cancer: From prevention to personalized medicine. *World Journal of Gastroenterology*, 20(22), 6786. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i22.6786>
- Bird, A. (1992). The essentials of DNA methylation. *Cell*, 70(1), 5–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1377983>
- Boland, C R, Sinicrope, F. A., Brenner, D. E., & Carethers, J. M. (2000). Colorectal cancer prevention and treatment. *Gastroenterology*, 118(2 Suppl 1), S115-28. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10868902>
- Boland, C Richard, & Goel, A. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2073-2087.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.064>
- Bosch, L. J. W., Carvalho, B., Fijneman, R. J. A., Jimenez, C. R., Pinedo, H. M., Engeland, M. Van, & Meijer, G. A. (2011). Molecular tests for colorectal cancer screening. *Clinical Colorectal Cancer*, 10(1), 8–23. <https://doi.org/10.3816/CCC.2011.N.002>
- Botteri, E., Iodice, S., Bagnardi, V., Raimondi, S., Lowenfels, A. B., & Maisonneuve, P. (2008). Smoking and Colorectal Cancer. *JAMA*, 300(23), 2765. <https://doi.org/10.1001/jama.2008.839>
- Boyle, P., & Levin, B. (2008). World Cancer Report. Cancer syte by syte-colorectal cancer. In *World Cancer Report 2008* (pp. 374–379). Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Brennan, C. W., Verhaak, R. G. W., McKenna, A., Campos, B., Noushmehr, H., Salama, S. R., ... McLendon, R. (2013). The Somatic Genomic Landscape of Glioblastoma. *Cell*, 155(2), 462–477. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.034>
- Brenner, H., Altenhofen, L., Stock, C., & Hoffmeister, M. (2013). Natural History of Colorectal Adenomas: Birth Cohort Analysis Among 3.6 Million Participants of Screening Colonoscopy. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 22(6), 1043–1051. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0162>

- Brenner, Hermann, Chang-Claude, J., Jansen, L., Knebel, P., Stock, C., & Hoffmeister, M. (2014). Reduced Risk of Colorectal Cancer Up to 10 Years After Screening, Surveillance, or Diagnostic Colonoscopy. *Gastroenterology*, 146(3), 709–717. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.09.001>
- Brenner, Hermann, Stock, C., & Hoffmeister, M. (2014). Effect of screening sigmoidoscopy and screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 348, g2467. <https://doi.org/10.1136/bmj.g2467>
- Brink, M., de Goeij, A. F. P. M., Weijnenberg, M. P., Roemen, G. M. J. M., Lentjes, M. H. F. M., Pachen, M. M. M., ... van den Brandt, P. A. (2003). K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Carcinogenesis*, 24(4), 703–710. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgg009>
- Carmona, F. J., Azuara, D., Berenguer-Llargo, A., Fernandez, A. F., Biondo, S., de Oca, J., ... Moreno, V. (2013). DNA Methylation Biomarkers for Noninvasive Diagnosis of Colorectal Cancer. *Cancer Prevention Research*, 6(7), 656–665. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-12-0501>
- Cassinotti, E., Melson, J., Liggett, T., Melnikov, A., Yi, Q., Replogle, C., ... Levenson, V. (2012). DNA methylation patterns in blood of patients with colorectal cancer and adenomatous colorectal polyps. *International Journal of Cancer*, 131(5), 1153–1157. <https://doi.org/10.1002/ijc.26484>
- Castaño-Milla, C., Chaparro, M., & Gisbert, J. P. (2014). Systematic review with meta-analysis: the declining risk of colorectal cancer in ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 39(7), 645–659. <https://doi.org/10.1111/apt.12651>
- Cavalli, L. R., & Liang, B. C. (1998). Mutagenesis, tumorigenicity, and apoptosis: are the mitochondria involved? *Mutation Research*, 398(1–2), 19–26. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9626961>
- Chapman, P. B., Hauschild, A., Robert, C., Haanen, J. B., Ascierto, P., Larkin, J.,

- ... McArthur, G. A. (2011). Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *New England Journal of Medicine*, 364(26), 2507–2516. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1103782>
- Chen, K., Zhang, H., Zhang, L.-N., Ju, S.-Q., Qi, J., Huang, D.-F., ... Zhang, J. (2013). Value of circulating cell-free DNA in diagnosis of hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 19(20), 3143. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i20.3143>
- Church, T. R., Wandell, M., Lofton-Day, C., Mongin, S. J., Burger, M., Payne, S. R., ... Ransohoff, D. F. (2014). Prospective evaluation of methylated *SEPT9* in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut*, 63(2), 317–325. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304149>
- Colussi, D., Brandi, G., Bazzoli, F., & Ricciardiello, L. (2013). Molecular Pathways Involved in Colorectal Cancer: Implications for Disease Behavior and Prevention. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), 16365–16385. <https://doi.org/10.3390/ijms140816365>
- Corcoran, R. B., Dias-Santagata, D., Bergethon, K., Iafrate, A. J., Settleman, J., & Engelman, J. A. (2010). BRAF Gene Amplification Can Promote Acquired Resistance to MEK Inhibitors in Cancer Cells Harboring the BRAF V600E Mutation. *Science Signaling*, 3(149), ra84–ra84. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2001148>
- Corley, D. A., Jensen, C. D., & Marks, A. R. (2011). Can we improve adenoma detection rates? A systematic review of intervention studies. *Gastrointestinal Endoscopy*, 74(3), 656–665. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2011.04.017>
- Corley, D. A., Jensen, C. D., Marks, A. R., Zhao, W. K., Lee, J. K., Doubeni, C. A., ... Quesenberry, C. P. (2014). Adenoma Detection Rate and Risk of Colorectal Cancer and Death. *New England Journal of Medicine*, 370(14), 1298–1306. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1309086>
- da Silva Filho, B. F., Gurgel, A. P. A. D., Neto, M. Á. de F. L., de Azevedo, D. A., de Freitas, A. C., Silva Neto, J. da C., & Silva, L. A. F. (2013). Circulating cell-free DNA in serum as a biomarker of colorectal cancer. *Journal of*

- Clinical Pathology*, 66(9), 775–778. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201521>
- Dahm, C. C., Keogh, R. H., Spencer, E. A., Greenwood, D. C., Key, T. J., Fentiman, I. S., ... Rodwell (Bingham), S. A. (2010). Dietary Fiber and Colorectal Cancer Risk: A Nested Case-Control Study Using Food Diaries. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 102(9), 614–626. <https://doi.org/10.1093/jnci/djq092>
- de Haan, M. C., van Gelder, R. E., Graser, A., Bipat, S., & Stoker, J. (2011). Diagnostic value of CT-colonography as compared to colonoscopy in an asymptomatic screening population: a meta-analysis. *European Radiology*, 21(8), 1747–1763. <https://doi.org/10.1007/s00330-011-2104-8>
- De Roock, W., Claes, B., Bernasconi, D., De Schutter, J., Biesmans, B., Fountzilas, G., ... Tejpar, S. (2010). 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. *The Lancet Oncology*, 11(8), 753–762. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70130-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70130-3)
- De Roock, W., Jonker, D. J., Di Nicolantonio, F., Sartore-Bianchi, A., Tu, D., Siena, S., ... Tejpar, S. (2010). Association of KRAS p.G13D Mutation With Outcome in Patients With Chemotherapy-Refractory Metastatic Colorectal Cancer Treated With Cetuximab. *JAMA*, 304(16), 1812. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1535>
- de Wijkerslooth, T. R., de Haan, M. C., Stoop, E. M., Bossuyt, P. M., Thomeer, M., Essink-Bot, M.-L., ... Dekker, E. (2012). Burden of colonoscopy compared to non-cathartic CT-colonography in a colorectal cancer screening programme: randomised controlled trial. *Gut*, 61(11), 1552–1559. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301308>
- DeMarco, D. C., Odstrcil, E., Lara, L. F., Bass, D., Herdman, C., Kinney, T., ... Hanan, I. (2010). Impact of experience with a retrograde-viewing device on adenoma detection rates and withdrawal times during colonoscopy: the Third Eye Retroscope study group. *Gastrointestinal Endoscopy*, 71(3), 542–

550. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2009.12.021>
- deVos, T., Tetzner, R., Model, F., Weiss, G., Schuster, M., Distler, J., ... Lofton-Day, C. (2009a). Circulating Methylated SEPT9 DNA in Plasma Is a Biomarker for Colorectal Cancer. *Clinical Chemistry*, 55(7), 1337–1346. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.115808>
- deVos, T., Tetzner, R., Model, F., Weiss, G., Schuster, M., Distler, J., ... Lofton-Day, C. (2009b). Circulating Methylated SEPT9 DNA in Plasma Is a Biomarker for Colorectal Cancer. *Clinical Chemistry*, 55(7), 1337–1346. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.115808>
- Di Nicolantonio, F., Martini, M., Molinari, F., Sartore-Bianchi, A., Arena, S., Saletti, P., ... Bardelli, A. (2008). Wild-Type *BRAF* Is Required for Response to Panitumumab or Cetuximab in Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 26(35), 5705–5712. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.0786>
- Diehl, F., Li, M., Dressman, D., He, Y., Shen, D., Szabo, S., ... Vogelstein, B. (2005). Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(45), 16368–16373. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507904102>
- Ebert, M. P. A., Model, F., Mooney, S., Hale, K., Lograsso, J., Tonnes-Priddy, L., ... Lofton-Day, C. (2006). Aristaless-like Homeobox-4 Gene Methylation Is a Potential Marker for Colorectal Adenocarcinomas. *Gastroenterology*, 131(5), 1418–1430. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.08.034>
- Erdrich, J., Zhang, X., Giovannucci, E., & Willett, W. (2015). Proportion of colon cancer attributable to lifestyle in a cohort of US women. *Cancer Causes & Control*, 26(9), 1271–1279. <https://doi.org/10.1007/s10552-015-0619-z>
- Esteller, M. (2008). Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(11), 1148–1159. <https://doi.org/10.1056/NEJMra072067>
- European Colorectal Cancer Screening Guidelines Working Group, E. C. C. S. G. W., von Karsa, L., Patnick, J., Segnan, N., Atkin, W., Halloran, S., ... Valori, R. (2013). European guidelines for quality assurance in colorectal

- cancer screening and diagnosis: overview and introduction to the full supplement publication. *Endoscopy*, 45(1), 51–59. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1325997>
- Fearon, E. R., & Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5), 759–767. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2188735>
- Fedirko, V., Tramacere, I., Bagnardi, V., Rota, M., Scotti, L., Islami, F., ... Jenab, M. (2011). Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology*, 22(9), 1958–1972. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq653>
- Feinberg, A. P., & Vogelstein, B. (1983a). Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature*, 301(5895), 89–92. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6185846>
- Feinberg, A. P., & Vogelstein, B. (1983b). Hypomethylation of ras oncogenes in primary human cancers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 111(1), 47–54. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6187346>
- Ferlay, J., Shin, H.-R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, 127(12), 2893–2917. <https://doi.org/10.1002/ijc.25516>
- Galon, J., Mlecnik, B., Bindea, G., Angell, H. K., Berger, A., Lagorce, C., ... Pagès, F. (2014). Towards the introduction of the ‘Immunoscore’ in the classification of malignant tumours. *The Journal of Pathology*, 232(2), 199–209. <https://doi.org/10.1002/path.4287>
- GLOBOCAN. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. (2012). Retrieved from <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>
- Glockner, S. C., Dhir, M., Yi, J. M., McGarvey, K. E., Van Neste, L., Louwagie, J., ... Ahuja, N. (2009). Methylation of TFPI2 in Stool DNA: A Potential Novel Biomarker for the Detection of Colorectal Cancer. *Cancer Research*,

- 69(11), 4691–4699. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0142>
- Goede, S. L., van Roon, A. H. C., Reijerink, J. C. I. Y., van Vuuren, A. J., Lansdorp-Vogelaar, I., Habbema, J. D. F., ... van Ballegooijen, M. (2013). Cost-effectiveness of one versus two sample faecal immunochemical testing for colorectal cancer screening. *Gut*, 62(5), 727–734. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301917>
- Goel, A., & Boland, C. R. (2012). Epigenetics of Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, 143(6), 1442-1460.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.09.032>
- Goel, A., Nagasaka, T., Arnold, C. N., Inoue, T., Hamilton, C., Niedzwiecki, D., ... Boland, C. R. (2007). The CpG Island Methylator Phenotype and Chromosomal Instability Are Inversely Correlated in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, 132(1), 127–138. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.09.018>
- Goldstein, N. S. (2006). Serrated pathway and APC (conventional)-type colorectal polyps: molecular-morphologic correlations, genetic pathways, and implications for classification. *American Journal of Clinical Pathology*, 125(1), 146–153. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16483003>
- Goutas, N., Vlachodimitropoulos, D., Bouka, M., Lazaris, A. C., Nasioulas, G., & Gazouli, M. (n.d.). BRAF and K-RAS mutation in a Greek papillary and medullary thyroid carcinoma cohort. *Anticancer Research*, 28(1A), 305–308. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18383861>
- Grady, W. M., & Carethers, J. M. (2008). Genomic and Epigenetic Instability in Colorectal Cancer Pathogenesis. *Gastroenterology*, 135(4), 1079–1099. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.07.076>
- Grady, W. M., & Pritchard, C. C. (2014a). Molecular alterations and biomarkers in colorectal cancer. *Toxicologic Pathology*, 42(1), 124–139. <https://doi.org/10.1177/0192623313505155>
- Grady, W. M., & Pritchard, C. C. (2014b). Molecular Alterations and Biomarkers in Colorectal Cancer. *Toxicologic Pathology*, 42(1), 124–139.

<https://doi.org/10.1177/0192623313505155>

Grützmann, R., Molnar, B., Pilarsky, C., Habermann, J. K., Schlag, P. M., Saeger, H. D., ... Lofton-Day, C. (2008). Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. *PloS One*, 3(11), e3759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003759>

Guraya, S. Y. (2015). Association of type 2 diabetes mellitus and the risk of colorectal cancer: A meta-analysis and systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, 21(19), 6026–6031. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i19.6026>

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647931>

Hanahan, Douglas, & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

Hao, T. B., Shi, W., Shen, X. J., Qi, J., Wu, X. H., Wu, Y., ... Ju, S. Q. (2014). Circulating cell-free DNA in serum as a biomarker for diagnosis and prognostic prediction of colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, 111(8), 1482–1489. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.470>

Hatzaki, A., Razi, E., Anagnostopoulou, K., Iliadis, K., Kodaxis, A., Papaioannou, D., ... Nasioulas, G. (2001). A modified mutagenic PCR-RFLP method for K-ras codon 12 and 13 mutations detection in NSCLC patients. *Molecular and Cellular Probes*, 15(5), 243–247. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2001.0367>

Hayashi, N., Sugai, S., Ito, I., Nakamori, S., Ogawa, M., & Nakamura, Y. (1996). Ethnic difference in the pattern of K-ras oncogene mutations in human colorectal cancers. *Human Mutation*, 8(3), 258–261. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1996\)8:3<258::AID-HUMU9>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1996)8:3<258::AID-HUMU9>3.0.CO;2-5)

He, Q., Chen, H.-Y., Bai, E.-Q., Luo, Y.-X., Fu, R.-J., He, Y.-S., ... Wang, H.-Q. (2010). Development of a multiplex MethyLight assay for the detection of multigene methylation in human colorectal cancer. *Cancer Genetics and*

- Cytogenetics*, 202(1), 1–10.
<https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2010.05.018>
- Hellman, A., & Chess, A. (2007). Gene Body-Specific Methylation on the Active X Chromosome. *Science*, 315(5815), 1141–1143.
<https://doi.org/10.1126/science.1136352>
- Herbst, A., Rahmig, K., Stieber, P., Philipp, A., Jung, A., Ofner, A., ... Kolligs, F. T. (2011). Methylation of NEUROG1 in Serum Is a Sensitive Marker for the Detection of Early Colorectal Cancer. *American Journal of Gastroenterology*, 106(6), 1110–1118. <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.6>
- Herman, J. G., Graff, J. R., Myöhänen, S., Nelkin, B. D., & Baylin, S. B. (1996). Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(18), 9821–9826.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.18.9821>
- Hibi, K, Nakayama, H., Yamazaki, T., Takase, T., Taguchi, M., Kasai, Y., ... Nakao, A. (2001). Detection of mitochondrial DNA alterations in primary tumors and corresponding serum of colorectal cancer patients. *International Journal of Cancer*, 94(3), 429–431. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11745425>
- Hibi, Kenji, Goto, T., Kitamura, Y.-H., Yokomizo, K., Sakuraba, K., Shirahata, A., ... Sanada, Y. (2010). Methylation of TFPI2 gene is frequently detected in advanced well-differentiated colorectal cancer. *Anticancer Research*, 30(4), 1205–1207. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20530429>
- Hibi, Kenji, Goto, T., Shirahata, A., Saito, M., Kigawa, G., Nemoto, H., & Sanada, Y. (2011). Detection of TFPI2 methylation in the serum of colorectal cancer patients. *Cancer Letters*, 311(1), 96–100.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.07.006>
- Hoff, G., Grotmol, T., Skovlund, E., Bretthauer, M., & Norwegian Colorectal Cancer Prevention Study Group. (2009). Risk of colorectal cancer seven years after flexible sigmoidoscopy screening: randomised controlled trial.

- BMJ (Clinical Research Ed.)*, 338, b1846. <https://doi.org/10.1136/bmj.b1846>
- Hol, L., van Leerdaam, M. E., van Ballegooijen, M., van Vuuren, A. J., van Dekken, H., Reijerink, J. C. I. Y., ... Kuipers, E. J. (2010). Screening for colorectal cancer: randomised trial comparing guaiac-based and immunochemical faecal occult blood testing and flexible sigmoidoscopy. *Gut*, 59(01), 62–68. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.177089>
- Imperiale, T. F., Ransohoff, D. F., Itzkowitz, S. H., Levin, T. R., Lavin, P., Lidgard, G. P., ... Berger, B. M. (2014). Multitarget Stool DNA Testing for Colorectal-Cancer Screening. *New England Journal of Medicine*, 370(14), 1287–1297. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1311194>
- Imperiale, T. F., Ransohoff, D. F., Itzkowitz, S. H., Turnbull, B. A., Ross, M. E., & Colorectal Cancer Study Group. (2004a). Fecal DNA versus Fecal Occult Blood for Colorectal-Cancer Screening in an Average-Risk Population. *New England Journal of Medicine*, 351(26), 2704–2714. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa033403>
- Imperiale, T. F., Ransohoff, D. F., Itzkowitz, S. H., Turnbull, B. A., Ross, M. E., & Colorectal Cancer Study Group. (2004b). Fecal DNA versus Fecal Occult Blood for Colorectal-Cancer Screening in an Average-Risk Population. *New England Journal of Medicine*, 351(26), 2704–2714. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa033403>
- Jass, J. R. (2004). Hyperplastic polyps and colorectal cancer: is there a link? *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 2(1), 1–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15017625>
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69–90. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>
- Jess, T., Simonsen, J., Jørgensen, K. T., Pedersen, B. V., Nielsen, N. M., & Frisch, M. (2012). Decreasing Risk of Colorectal Cancer in Patients With Inflammatory Bowel Disease Over 30 Years. *Gastroenterology*, 143(2), 375–381.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.016>

- Jia, D., Jurkowska, R. Z., Zhang, X., Jeltsch, A., & Cheng, X. (2007). Structure of Dnmt3a bound to Dnmt3L suggests a model for de novo DNA methylation. *Nature*, 449(7159), 248–251. <https://doi.org/10.1038/nature06146>
- Jones, S., Chen, W. -d., Parmigiani, G., Diehl, F., Beerenwinkel, N., Antal, T., ... Markowitz, S. D. (2008). Comparative lesion sequencing provides insights into tumor evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(11), 4283–4288. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712345105>
- Jubb, A. M., Bell, S. M., & Quirke, P. (2001). Methylation and colorectal cancer. *The Journal of Pathology*, 195(1), 111–134. <https://doi.org/10.1002/path.923>
- Jung, M., Klotzek, S., Lewandowski, M., Fleischhacker, M., & Jung, K. (2003). Changes in concentration of DNA in serum and plasma during storage of blood samples. *Clinical Chemistry*, 49(6 Pt 1), 1028–1029. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12766024>
- Kaiser, J. (2010). Keeping Tabs on Tumor DNA. *Science*, 327(5969), 1074–1074. <https://doi.org/10.1126/science.327.5969.1074>
- Kambara, T., Simms, L. A., Whitehall, V. L. J., Spring, K. J., Wynter, C. V. A., Walsh, M. D., ... Leggett, B. A. (2004). BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut*, 53(8), 1137–1144. <https://doi.org/10.1136/gut.2003.037671>
- Kaminski, M. F., Regula, J., Kraszewska, E., Polkowski, M., Wojciechowska, U., Didkowska, J., ... Butruk, E. (2010a). Quality Indicators for Colonoscopy and the Risk of Interval Cancer. *New England Journal of Medicine*, 362(19), 1795–1803. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907667>
- Kaminski, M. F., Regula, J., Kraszewska, E., Polkowski, M., Wojciechowska, U., Didkowska, J., ... Butruk, E. (2010b). Quality Indicators for Colonoscopy and the Risk of Interval Cancer. *New England Journal of Medicine*, 362(19), 1795–1803. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907667>
- Kapidzic, A., Grobbee, E. J., Hol, L., van Roon, A. H., van Vuuren, A. J., Spijker, W., ... van Leerdam, M. E. (2014). Attendance and Yield Over Three Rounds of Population-Based Fecal Immunochemical Test Screening.

- American Journal of Gastroenterology*, 109(8), 1257–1264.
<https://doi.org/10.1038/ajg.2014.168>
- Karapetis, C. S., Jonker, D., Daneshmand, M., Hanson, J. E., O’Callaghan, C. J., Marginean, C., ... NCIC Clinical Trials Group and the Australasian Gastro-Intestinal Trials Group. (2014). *PIK3CA, BRAF*, and PTEN Status and Benefit from Cetuximab in the Treatment of Advanced Colorectal Cancer – Results from NCIC CTG/AGITG CO.17. *Clinical Cancer Research*, 20(3), 744–753. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0606>
- Kim, D. H., Pickhardt, P. J., Taylor, A. J., Leung, W. K., Winter, T. C., Hinshaw, J. L., ... Pfau, P. R. (2007). CT Colonography versus Colonoscopy for the Detection of Advanced Neoplasia. *New England Journal of Medicine*, 357(14), 1403–1412. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa070543>
- Kim, Y.-H., Petko, Z., Dzieciatkowski, S., Lin, L., Ghiassi, M., Stain, S., ... Grady, W. M. (2006). CpG island methylation of genes accumulates during the adenoma progression step of the multistep pathogenesis of colorectal cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 45(8), 781–789. <https://doi.org/10.1002/gcc.20341>
- Kinzler, K. W., & Vogelstein, B. (1996). Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*, 87(2), 159–170. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8861899>
- Kostic, A. D., Gevers, D., Pedamallu, C. S., Michaud, M., Duke, F., Earl, A. M., ... Meyerson, M. (2012). Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. *Genome Research*, 22(2), 292–298. <https://doi.org/10.1101/gr.126573.111>
- Kostin, P. A., Zakharzhevskaja, N. B., Generozov, E. V, Govorun, V. M., Chernyshov, S. V, & Shchelygin, I. A. (2010). [Hypermethylation of the CDH1, SEPT9, HMTF and ALX4 genes and their diagnostic significance in colorectal cancer]. *Voprosy Onkologii*, 56(2), 162–168. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20552891>
- Kristensen, L. S., Mikeska, T., Krypuy, M., & Dobrovic, A. (2008). Sensitive Melting Analysis after Real Time- Methylation Specific PCR (SMART-

- MSP): high-throughput and probe-free quantitative DNA methylation detection. *Nucleic Acids Research*, 36(7), e42–e42. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn113>
- Kuipers, E. J. (2014). Screening – one small step for mankind, one giant leap for man. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 11(1), 5–6. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2013.213>
- Kuipers, E. J., Grady, W. M., Lieberman, D., Seufferlein, T., Sung, J. J., Boelens, P. G., ... Watanabe, T. (2015). Colorectal cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 1, 15065. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65>
- Kuipers, E. J., Rösch, T., & Bretthauer, M. (2013). Colorectal cancer screening – optimizing current strategies and new directions. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10(3), 130–142. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2013.12>
- Lange, C. P. E., Campan, M., Hinoue, T., Schmitz, R. F., van der Meulen-de Jong, A. E., Slingerland, H., ... Laird, P. W. (2012). Genome-Scale Discovery of DNA-Methylation Biomarkers for Blood-Based Detection of Colorectal Cancer. *PLoS ONE*, 7(11), e50266. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050266>
- Lao, V. V., & Grady, W. M. (2011). Epigenetics and colorectal cancer. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 8(12), 686–700. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2011.173>
- Laurent-Puig, P., Cayre, A., Manceau, G., Buc, E., Bachet, J.-B., Lecomte, T., ... Penault-Llorca, F. (2009). Analysis of *PTEN*, *BRAF*, and *EGFR* Status in Determining Benefit From Cetuximab Therapy in Wild-Type *KRAS* Metastatic Colon Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 27(35), 5924–5930. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.21.6796>
- Lazarev, I., Leibovitch, L., Czeiger, D., Sion-Vardi, N., Geffen, D. B., Douvdevani, A., & Ariad, S. (n.d.). Cell-free DNA blood levels in colorectal cancer patients do not correlate with mismatch repair-proficiency. *In Vivo (Athens, Greece)*, 28(3), 349–354. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24815837>
- le Clercq, C. M. C., Winkens, B., Bakker, C. M., Keulen, E. T. P., Beets, G. L.,

- Masclee, A. A. M., & Sanduleanu, S. (2015). Metachronous colorectal cancers result from missed lesions and non-compliance with surveillance. *Gastrointestinal Endoscopy*, 82(2), 325-333.e2. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2014.12.052>
- Leary, R. J., Sausen, M., Kinde, I., Papadopoulos, N., Carpten, J. D., Craig, D., ... Velculescu, V. E. (2012). Detection of Chromosomal Alterations in the Circulation of Cancer Patients with Whole-Genome Sequencing. *Science Translational Medicine*, 4(162), 162ra154-162ra154. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004742>
- Lecomte, T., Ceze, N., Dorval, É., & Laurent-Puig, P. (2010). Circulating free tumor DNA and colorectal cancer. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 34(12), 662-681. <https://doi.org/10.1016/j.gcb.2009.04.015>
- Lecomte, Thierry, Berger, A., Zinzindohoué, F., Micard, S., Landi, B., Blons, H., ... Laurent-Puig, P. (2002). Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. *International Journal of Cancer*, 100(5), 542-548. <https://doi.org/10.1002/ijc.10526>
- Lee, B. B., Lee, E. J., Jung, E. H., Chun, H.-K., Chang, D. K., Song, S. Y., ... Kim, D.-H. (2009). Aberrant Methylation of APC, MGMT, RASSF2A, and Wif-1 Genes in Plasma as a Biomarker for Early Detection of Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 15(19), 6185-6191. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0111>
- Lengauer, C., Kinzler, K. W., & Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. *Nature*, 396(6712), 643-649. <https://doi.org/10.1038/25292>
- Leon, S. A., Shapiro, B., Sklaroff, D. M., & Yaros, M. J. (1977). Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Research*, 37(3), 646-650. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/837366>
- Leszinski, G., Lehner, J., Gezer, U., & Holdenrieder, S. (n.d.). Increased DNA integrity in colorectal cancer. *In Vivo (Athens, Greece)*, 28(3), 299-303. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24815830>

- Leufkens, A. M., DeMarco, D. C., Rastogi, A., Akerman, P. A., Azzouzi, K., Rothstein, R. I., ... Third Eye Retroscope Randomized Clinical Evaluation [TERRACE] Study Group. (2011). Effect of a retrograde-viewing device on adenoma detection rate during colonoscopy: the TERRACE study. *Gastrointestinal Endoscopy*, 73(3), 480–489. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2010.09.004>
- Leung, W. K., To, K.-F., Man, E. P. S., Chan, M. W. Y., Bai, A. H. C., Hui, A. J., ... Sung, J. J. Y. (2005). Quantitative Detection of Promoter Hypermethylation in Multiple Genes in the Serum of Patients with Colorectal Cancer. *The American Journal of Gastroenterology*, 100(10), 2274–2279. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2005.50412.x>
- Li, M., Chen, W., Papadopoulos, N., Goodman, S. N., Bjerregaard, N. C., Laurberg, S., ... Vogelstein, B. (2009). Sensitive digital quantification of DNA methylation in clinical samples. *Nature Biotechnology*, 27(9), 858–863. <https://doi.org/10.1038/nbt.1559>
- Limsui, D., Vierkant, R. A., Tillmans, L. S., Wang, A. H., Weisenberger, D. J., Laird, P. W., ... Limburg, P. J. (2012). Postmenopausal hormone therapy and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes among older women. *Gut*, 61(9), 1299–1305. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300719>
- Lind, G. E., Danielsen, S. A., Ahlquist, T., Merok, M. A., Andresen, K., Skotheim, R. I., ... Lothe, R. A. (2011). Identification of an epigenetic biomarker panel with high sensitivity and specificity for colorectal cancer and adenomas. *Molecular Cancer*, 10(1), 85. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-85>
- Liu, Y., Tang, W., Wang, J., Xie, L., Li, T., He, Y., ... Qin, X. (2014). Association between statin use and colorectal cancer risk: a meta-analysis of 42 studies. *Cancer Causes & Control*, 25(2), 237–249. <https://doi.org/10.1007/s10552-013-0326-6>
- Lo, Y. M. D., Tein, M. S. C., Lau, T. K., Haines, C. J., Leung, T. N., Poon, P. M. K., ... Hjelm, N. M. (1998). Quantitative Analysis of Fetal DNA in Maternal

- Plasma and Serum: Implications for Noninvasive Prenatal Diagnosis. *The American Journal of Human Genetics*, 62(4), 768–775.
<https://doi.org/10.1086/301800>
- Lofton-Day, C., Model, F., DeVos, T., Tetzner, R., Distler, J., Schuster, M., ... Sledziewski, A. (2008). DNA Methylation Biomarkers for Blood-Based Colorectal Cancer Screening. *Clinical Chemistry*, 54(2), 414–423.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.095992>
- Loupakis, F., Ruzzo, A., Cremolini, C., Vincenzi, B., Salvatore, L., Santini, D., ... Graziano, F. (2009). KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, 101(4), 715–721.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605177>
- Luo, L., Chen, W., & Pretlow, T. P. (2005). CpG island methylation in aberrant crypt foci and cancers from the same patients. *International Journal of Cancer*, 115(5), 747–751. <https://doi.org/10.1002/ijc.20936>
- Luo, Y., Wong, C.-J., Kaz, A. M., Dzieciatkowski, S., Carter, K. T., Morris, S. M., ... Grady, W. M. (2014). Differences in DNA methylation signatures reveal multiple pathways of progression from adenoma to colorectal cancer. *Gastroenterology*, 147(2), 418–29.e8.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.04.039>
- MANDEL, P., & METAIS, P. (1948). [Not Available]. *Comptes Rendus Des Seances de La Societe de Biologie et de Ses Filiales*, 142(3–4), 241–243. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18875018>
- Mead, R., Duku, M., Bhandari, P., & Cree, I. A. (2011). Circulating tumour markers can define patients with normal colons, benign polyps, and cancers. *British Journal of Cancer*, 105(2), 239–245.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2011.230>
- Mima, K., Sukawa, Y., Nishihara, R., Qian, Z. R., Yamauchi, M., Inamura, K., ... Ogino, S. (2015). *Fusobacterium nucleatum* and T Cells in Colorectal Carcinoma. *JAMA Oncology*, 1(5), 653.
<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.1377>

- Misale, S., Arena, S., Lamba, S., Siravegna, G., Lallo, A., Hobor, S., ... Bardelli, A. (2014). Blockade of EGFR and MEK Intercepts Heterogeneous Mechanisms of Acquired Resistance to Anti-EGFR Therapies in Colorectal Cancer. *Science Translational Medicine*, 6(224), 224ra26-224ra26. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007947>
- Moorcraft, S. Y., Smyth, E. C., & Cunningham, D. (2013). The role of personalized medicine in metastatic colorectal cancer: an evolving landscape. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(5), 381–395. <https://doi.org/10.1177/1756283X13491797>
- Morris, E. J. A., Rutter, M. D., Finan, P. J., Thomas, J. D., & Valori, R. (2015). Post-colonoscopy colorectal cancer (PCCRC) rates vary considerably depending on the method used to calculate them: a retrospective observational population-based study of PCCRC in the English National Health Service. *Gut*, 64(8), 1248–1256. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308362>
- Mouliere, F., El Messaoudi, S., Pang, D., Dritschilo, A., & Thierry, A. R. (2014). Multi-marker analysis of circulating cell-free DNA toward personalized medicine for colorectal cancer. *Molecular Oncology*, 8(5), 927–941. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2014.02.005>
- Mouliere, F., Robert, B., Arnau Peyrotte, E., Del Rio, M., Ychou, M., Molina, F., ... Thierry, A. R. (2011). High Fragmentation Characterizes Tumour-Derived Circulating DNA. *PLoS ONE*, 6(9), e23418. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023418>
- Müller, H. M., Oberwalder, M., Fiegl, H., Morandell, M., Goebel, G., Zitt, M., ... Widschwendter, M. (2004a). Methylation changes in faecal DNA: a marker for colorectal cancer screening? *The Lancet*, 363(9417), 1283–1285. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16002-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16002-9)
- Müller, H. M., Oberwalder, M., Fiegl, H., Morandell, M., Goebel, G., Zitt, M., ... Widschwendter, M. (2004b). Methylation changes in faecal DNA: a marker for colorectal cancer screening? *The Lancet*, 363(9417), 1283–1285. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16002-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16002-9)

- Nagorni, A., Bjelakovic, G., & Petrovic, B. (2012). Narrow band imaging versus conventional white light colonoscopy for the detection of colorectal polyps. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, CD008361. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008361.pub2>
- Nan, H., Hutter, C. M., Lin, Y., Jacobs, E. J., Ulrich, C. M., White, E., ... GECCO. (2015). Association of Aspirin and NSAID Use With Risk of Colorectal Cancer According to Genetic Variants. *JAMA*, 313(11), 1133. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.1815>
- Network, T. C. G. A. (2012). Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*, 487(7407), 330–337. <https://doi.org/10.1038/nature11252>
- Nishihara, R., Wu, K., Lochhead, P., Morikawa, T., Liao, X., Qian, Z. R., ... Chan, A. T. (2013). Long-Term Colorectal-Cancer Incidence and Mortality after Lower Endoscopy. *New England Journal of Medicine*, 369(12), 1095–1105. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1301969>
- Nishio, M., Sakakura, C., Nagata, T., Komiyama, S., Miyashita, A., Hamada, T., ... Otsuji, E. (2010). RUNX3 promoter methylation in colorectal cancer: its relationship with microsatellite instability and its suitability as a novel serum tumor marker. *Anticancer Research*, 30(7), 2673–2682. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20682997>
- Notterman, D. A., Alon, U., Sierk, A. J., & Levine, A. J. (2001). Transcriptional gene expression profiles of colorectal adenoma, adenocarcinoma, and normal tissue examined by oligonucleotide arrays. *Cancer Research*, 61(7), 3124–3130. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11306497>
- Oh, T., Kim, N., Moon, Y., Kim, M. S., Hoehn, B. D., Park, C. H., ... An, S. (2013). Genome-Wide Identification and Validation of a Novel Methylation Biomarker, SDC2, for Blood-Based Detection of Colorectal Cancer. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 15(4), 498–507. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2013.03.004>
- Pack, S.-C., Kim, H.-R., Lim, S.-W., Kim, H.-Y., Ko, J.-Y., Lee, K.-S., ... Lee, S.

- (2013). Usefulness of plasma epigenetic changes of five major genes involved in the pathogenesis of colorectal cancer. *International Journal of Colorectal Disease*, 28(1), 139–147. <https://doi.org/10.1007/s00384-012-1566-8>
- Park, S. H., Lee, J. H., Lee, S. S., Kim, J. C., Yu, C. S., Kim, H. C., ... Ha, H. K. (2012). CT colonography for detection and characterisation of synchronous proximal colonic lesions in patients with stenosing colorectal cancer. *Gut*, 61(12), 1716–1722. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301135>
- Parsons, D. W., Wang, T.-L., Samuels, Y., Bardelli, A., Cummins, J. M., DeLong, L., ... Velculescu, V. E. (2005). Mutations in a signalling pathway. *Nature*, 436(7052), 792–792. <https://doi.org/10.1038/436792a>
- Pedersen, S. K., Mitchell, S. M., Graham, L. D., McEvoy, A., Thomas, M. L., Baker, R. T., ... Molloy, P. L. (2014). CAHM, a long non-coding RNA gene hypermethylated in colorectal neoplasia. *Epigenetics*, 9(8), 1071–1082. <https://doi.org/10.4161/epi.29046>
- Peeters, M., Douillard, J.-Y., Van Cutsem, E., Siena, S., Zhang, K., Williams, R., & Wiezorek, J. (2013). Mutant KRAS Codon 12 and 13 Alleles in Patients With Metastatic Colorectal Cancer: Assessment As Prognostic and Predictive Biomarkers of Response to Panitumumab. *Journal of Clinical Oncology*, 31(6), 759–765. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.1492>
- Pickhardt, P. J., Hassan, C., Halligan, S., & Marmo, R. (2011a). Colorectal Cancer: CT Colonography and Colonoscopy for Detection—Systematic Review and Meta-Analysis. *Radiology*, 259(2), 393–405. <https://doi.org/10.1148/radiol.11101887>
- Pickhardt, P. J., Hassan, C., Halligan, S., & Marmo, R. (2011b). Colorectal Cancer: CT Colonography and Colonoscopy for Detection—Systematic Review and Meta-Analysis. *Radiology*, 259(2), 393–405. <https://doi.org/10.1148/radiol.11101887>
- Plumb, A. A., Halligan, S., Taylor, S. A., Burling, D., Nickerson, C., & Patnick, J. (2013). CT colonography in the English Bowel Cancer Screening Programme: National survey of current practice. *Clinical Radiology*, 68(5),

- 479–487. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2012.10.018>
- Pohl, J., Schneider, A., Vogell, H., Mayer, G., Kaiser, G., & Ell, C. (2011). Pancolonic chromoendoscopy with indigo carmine versus standard colonoscopy for detection of neoplastic lesions: a randomised two-centre trial. *Gut*, *60*(4), 485–490. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.229534>
- Pooler, B. D., Kim, D. H., Lam, V. P., Burnside, E. S., & Pickhardt, P. J. (2014). CT Colonography Reporting and Data System (C-RADS): Benchmark Values From a Clinical Screening Program. *American Journal of Roentgenology*, *202*(6), 1232–1237. <https://doi.org/10.2214/AJR.13.11272>
- Potter, N. T., Hurban, P., White, M. N., Whitlock, K. D., Lofton-Day, C. E., Tetzner, R., ... Weiss, G. (2014). Validation of a Real-Time PCR-Based Qualitative Assay for the Detection of Methylated SEPT9 DNA in Human Plasma. *Clinical Chemistry*, *60*(9), 1183–1191. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.221044>
- Pox, C. P., Altenhofen, L., Brenner, H., Theilmeier, A., Stillfried, D. Von, & Schmiegel, W. (2012). Efficacy of a Nationwide Screening Colonoscopy Program for Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, *142*(7), 1460–1467.e2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.03.022>
- Qi, J., Qian, C., Shi, W., Wu, X., Jing, R., Zhang, L., ... Ju, S. (2013). Alu-based cell-free DNA: A potential complementary biomarker for diagnosis of colorectal cancer. *Clinical Biochemistry*, *46*(1–2), 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.08.026>
- Qiu, L.-X., Mao, C., Zhang, J., Zhu, X.-D., Liao, R.-Y., Xue, K., ... Chen, Q. (2010). Predictive and prognostic value of KRAS mutations in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab: A meta-analysis of 22 studies. *European Journal of Cancer*, *46*(15), 2781–2787. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.05.022>
- Rex, D. K., Adler, S. N., Aisenberg, J., Burch, W. C., Carretero, C., Chowers, Y., ... Waterman, M. (2015). Accuracy of Capsule Colonoscopy in Detecting Colorectal Polyps in a Screening Population. *Gastroenterology*, *148*(5), 948–957.e2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.01.025>

- Rex, D. K., Ahnen, D. J., Baron, J. A., Batts, K. P., Burke, C. A., Burt, R. W., ... Church, J. (2012a). Serrated Lesions of the Colorectum: Review and Recommendations From an Expert Panel. *The American Journal of Gastroenterology*, 107(9), 1315–1329. <https://doi.org/10.1038/ajg.2012.161>
- Rex, D. K., Ahnen, D. J., Baron, J. A., Batts, K. P., Burke, C. A., Burt, R. W., ... Church, J. (2012b). Serrated Lesions of the Colorectum: Review and Recommendations From an Expert Panel. *American Journal of Gastroenterology*, 107(9), 1315–1329. <https://doi.org/10.1038/ajg.2012.161>
- Richman, S. D., Seymour, M. T., Chambers, P., Elliott, F., Daly, C. L., Meade, A. M., ... Quirke, P. (2009). *KRAS* and *BRAF* Mutations in Advanced Colorectal Cancer Are Associated With Poor Prognosis but Do Not Preclude Benefit From Oxaliplatin or Irinotecan: Results From the MRC FOCUS Trial. *Journal of Clinical Oncology*, 27(35), 5931–5937. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.22.4295>
- Roperch, J.-P., Incitti, R., Forbin, S., Bard, F., Mansour, H., Mesli, F., ... Sobhani, I. (2013). Aberrant methylation of NPY, PENK, and WIF1 as a promising marker for blood-based diagnosis of colorectal cancer. *BMC Cancer*, 13(1), 566. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-566>
- Rosty, C., Young, J. P., Walsh, M. D., Clendenning, M., Sanderson, K., Walters, R. J., ... Buchanan, D. D. (2013). PIK3CA Activating Mutation in Colorectal Carcinoma: Associations with Molecular Features and Survival. *PLoS ONE*, 8(6), e65479. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065479>
- Roth, A. D., Tejpar, S., Delorenzi, M., Yan, P., Fiocca, R., Klingbiel, D., ... Bosman, F. (2010). Prognostic Role of *KRAS* and *BRAF* in Stage II and III Resected Colon Cancer: Results of the Translational Study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 Trial. *Journal of Clinical Oncology*, 28(3), 466–474. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.3452>
- Ryan, B. M., Lefort, F., McManus, R., Daly, J., Keeling, P. W. N., Weir, D. G., & Kelleher, D. (2003). A prospective study of circulating mutant *KRAS2* in the serum of patients with colorectal neoplasia: strong prognostic indicator in postoperative follow up. *Gut*, 52(1), 101–108.

<https://doi.org/10.1136/gut.52.1.101>

Rykova, E. Y., Morozkin, E. S., Ponomaryova, A. A., Loseva, E. M., Zaporozhchenko, I. A., Cherdyntseva, N. V, ... Laktionov, P. P. (2012). Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 12(sup1), S141-S153.

<https://doi.org/10.1517/14712598.2012.673577>

Sanduleanu, S., le Clercq, C. M. C., Dekker, E., Meijer, G. A., Rabeneck, L., Rutter, M. D., ... Expert Working Group on 'Right-sided lesions and interval cancers', Colorectal Cancer Screening Committee, World Endoscopy Organization. (2015). Definition and taxonomy of interval colorectal cancers: a proposal for standardising nomenclature. *Gut*, 64(8), 1257-1267. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307992>

Schoen, R. E., Pinsky, P. F., Weissfeld, J. L., Yokochi, L. A., Church, T., Laiyemo, A. O., ... PLCO Project Team. (2012). Colorectal-Cancer Incidence and Mortality with Screening Flexible Sigmoidoscopy. *New England Journal of Medicine*, 366(25), 2345-2357. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1114635>

Schreuders, E. H., Ruco, A., Rabeneck, L., Schoen, R. E., Sung, J. J. Y., Young, G. P., & Kuipers, E. J. (2015). Colorectal cancer screening: a global overview of existing programmes. *Gut*, 64(10), 1637-1649. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-309086>

Schwarzenbach, H., Stoehlmacher, J., Pantel, K., & Goekkurt, E. (2008). Detection and Monitoring of Cell-Free DNA in Blood of Patients with Colorectal Cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1137(1), 190-196. <https://doi.org/10.1196/annals.1448.025>

Shaukat, A., Mongin, S. J., Geisser, M. S., Lederle, F. A., Bond, J. H., Mandel, J. S., & Church, T. R. (2013). Long-Term Mortality after Screening for Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*, 369(12), 1106-1114. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1300720>

Sidransky, D., Tokino, T., Hamilton, S. R., Kinzler, K., Levin, B., Frost, P., & Vogelstein, B. (1992). Identification of ras oncogene mutations in the stool

- of patients with curable colorectal tumors. *Science*, 256(5053), 102–105.
<https://doi.org/10.1126/science.1566048>
- Siegel, R., DeSantis, C., & Jemal, A. (2014). Colorectal cancer statistics, 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(2), 104–117.
<https://doi.org/10.3322/caac.21220>
- Singh, H., Nugent, Z., Demers, A. A., Kliewer, E. V., Mahmud, S. M., & Bernstein, C. N. (2010). The Reduction in Colorectal Cancer Mortality After Colonoscopy Varies by Site of the Cancer. *Gastroenterology*, 139(4), 1128–1137. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.06.052>
- Song, M., Garrett, W. S., & Chan, A. T. (2015). Nutrients, Foods, and Colorectal Cancer Prevention. *Gastroenterology*, 148(6), 1244–1260.e16.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.12.035>
- Spada, C., Hassan, C., Galniche, J., Neuhaus, H., Dumonceau, J., Adler, S., ... European Society of Gastrointestinal Endoscopy. (2012). Colon capsule endoscopy: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy*, 44(05), 527–536. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1291717>
- Spada, Cristiano, Hassan, C., Barbaro, B., Iafrate, F., Cesaro, P., Petruzzello, L., ... Costamagna, G. (2015). Colon capsule versus CT colonography in patients with incomplete colonoscopy: a prospective, comparative trial. *Gut*, 64(2), 272–281. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306550>
- Spada, Cristiano, Hassan, C., Marmo, R., Petruzzello, L., Riccioni, M. E., Zullo, A., ... Costamagna, G. (2010). Meta-analysis Shows Colon Capsule Endoscopy Is Effective in Detecting Colorectal Polyps. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 8(6), 516–522.e8.
<https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.02.018>
- Spada, Cristiano, Hassan, C., Munoz-Navas, M., Neuhaus, H., Deviere, J., Fockens, P., ... Costamagna, G. (2011). Second-generation colon capsule endoscopy compared with colonoscopy. *Gastrointestinal Endoscopy*, 74(3), 581–589.e1. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2011.03.1125>
- Spada, Cristiano, Stoker, J., Alarcon, O., Barbaro, F., Bellini, D., Bretthauer, M.,

- ... European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology. (2014). Clinical indications for computed tomographic colonography: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) and European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology (ESGAR) Guideline. *Endoscopy*, 46(10), 897–915. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1378092>
- Spindler, K.-L. G., Pallisgaard, N., Vogelius, I., & Jakobsen, A. (2012). Quantitative Cell-Free DNA, KRAS, and BRAF Mutations in Plasma from Patients with Metastatic Colorectal Cancer during Treatment with Cetuximab and Irinotecan. *Clinical Cancer Research*, 18(4), 1177–1185. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0564>
- Spindler, K. L. G., Pallisgaard, N., Andersen, R. F., Brandslund, I., & Jakobsen, A. (2015). Circulating Free DNA as Biomarker and Source for Mutation Detection in Metastatic Colorectal Cancer. *PLOS ONE*, 10(4), e0108247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108247>
- Spindler, Karen-Lise Garm, Appelt, A. L., Pallisgaard, N., Andersen, R. F., Brandslund, I., & Jakobsen, A. (2014). Cell-free DNA in healthy individuals, noncancerous disease and strong prognostic value in colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, 135(12), 2984–2991. <https://doi.org/10.1002/ijc.28946>
- Spindler, Karen-Lise Garm, Pallisgaard, N., Appelt, A. L., Andersen, R. F., Schou, J. V., Nielsen, D., ... Jensen, B. V. (2015). Clinical utility of KRAS status in circulating plasma DNA compared to archival tumour tissue from patients with metastatic colorectal cancer treated with anti-epidermal growth factor receptor therapy. *European Journal of Cancer*, 51(17), 2678–2685. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.06.118>
- Starr, T. K., Allaei, R., Silverstein, K. A. T., Staggs, R. A., Sarver, A. L., Bergemann, T. L., ... Largaespada, D. A. (2009). A Transposon-Based Genetic Screen in Mice Identifies Genes Altered in Colorectal Cancer. *Science*, 323(5922), 1747–1750. <https://doi.org/10.1126/science.1163040>
- Stephens, M., Hourigan, L. F., Appleyard, M., Ostapowicz, G., Schoeman, M., Desmond, P. V., ... Holtmann, G. J. (2015). Non-physician endoscopists: A

- systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, 21(16), 5056–5071.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i16.5056>
- Stoop, E. M., de Haan, M. C., de Wijkerslooth, T. R., Bossuyt, P. M., van Ballegooijen, M., Nio, C. Y., ... Dekker, E. (2012). Participation and yield of colonoscopy versus non-cathartic CT colonography in population-based screening for colorectal cancer: a randomised controlled trial. *The Lancet Oncology*, 13(1), 55–64. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70283-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70283-2)
- Su, Y.-H., Wang, M., Brenner, D. E., Norton, P. A., & Block, T. M. (2008). Detection of Mutated K- *ras* DNA in Urine, Plasma, and Serum of Patients with Colorectal Carcinoma or Adenomatous Polyps. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1137(1), 197–206.
<https://doi.org/10.1196/annals.1448.027>
- Subramaniam, M. M., Chan, J. Y., Soong, R., Ito, K., Yeoh, K. G., Wong, R., ... Salto-Tellez, M. (2009). RUNX3 Inactivation in Colorectal Polyps Arising Through Different Pathways of Colonic Carcinogenesis. *The American Journal of Gastroenterology*, 104(2), 426–436.
<https://doi.org/10.1038/ajg.2008.141>
- Summers, M. G., Smith, C. G., Maughan, T. S., Kaplan, R., Escott-Price, V., & Cheadle, J. P. (2017). *BRAF* and *NRAS* Locus-Specific Variants Have Different Outcomes on Survival to Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 23(11), 2742–2749. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1541>
- Sung, J. J. Y., Ng, S. C., Chan, F. K. L., Chiu, H. M., Kim, H. S., Matsuda, T., ... Asia Pacific Working Group. (2015). An updated Asia Pacific Consensus Recommendations on colorectal cancer screening. *Gut*, 64(1), 121–132.
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306503>
- Suzuki, H., Yamamoto, E., Maruyama, R., Niinuma, T., & Kai, M. (2014). Biological significance of the CpG island methylator phenotype. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 455(1–2), 35–42.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.07.007>
- Syngal, S., Brand, R. E., Church, J. M., Giardiello, F. M., Hampel, H. L., Burt, R.

- W., & American College of Gastroenterology. (2015). ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *American Journal of Gastroenterology*, 110(2), 223–262. <https://doi.org/10.1038/ajg.2014.435>
- Tahara, T., Yamamoto, E., Suzuki, H., Maruyama, R., Chung, W., Garriga, J., ... Issa, J.-P. J. (2014). Fusobacterium in Colonic Flora and Molecular Features of Colorectal Carcinoma. *Cancer Research*, 74(5), 1311–1318. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1865>
- Takada, H., Wakabayashi, N., Dohi, O., Yasui, K., Sakakura, C., Mitsufuji, S., ... Yoshikawa, T. (2010). Tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI2) is frequently silenced by aberrant promoter hypermethylation in gastric cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 197(1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2009.11.004>
- Tan, S.-H., Ida, H., Lau, Q.-C., Goh, B.-C., Chieng, W.-S., Loh, M., & Ito, Y. (2007). Detection of promoter hypermethylation in serum samples of cancer patients by methylation-specific polymerase chain reaction for tumour suppressor genes including RUNX3. *Oncology Reports*, 18(5), 1225–1230. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17914577>
- Tänzer, M., Balluff, B., Distler, J., Hale, K., Leodolter, A., Röcken, C., ... Ebert, M. P. A. (2010). Performance of Epigenetic Markers SEPT9 and ALX4 in Plasma for Detection of Colorectal Precancerous Lesions. *PLoS ONE*, 5(2), e9061. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009061>
- Tie, J., Lipton, L., Desai, J., Gibbs, P., Jorissen, R. N., Christie, M., ... Sieber, O. M. (2011). KRAS Mutation Is Associated with Lung Metastasis in Patients with Curatively Resected Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 17(5), 1122–1130. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1720>
- Tol, J., Dijkstra, J. R., Klomp, M., Teerenstra, S., Dommerholt, M., Vink-Börger, M. E., ... Nagtegaal, I. D. (2010). Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. *European Journal of Cancer*, 46(11), 1997–2009. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.03.036>

- Trevisiol, C., Di Fabio, F., Nascimbeni, R., Peloso, L., Salbe, C., Ferruzzi, E., ... Gion, M. (n.d.). Prognostic value of circulating KRAS2 gene mutations in colorectal cancer with distant metastases. *The International Journal of Biological Markers*, 21(4), 223–228. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17177160>
- Umetani, N., Kim, J., Hiramatsu, S., Reber, H. A., Hines, O. J., Bilchik, A. J., & Hoon, D. S. B. (2006). Increased Integrity of Free Circulating DNA in Sera of Patients with Colorectal or Periapillary Cancer: Direct Quantitative PCR for ALU Repeats. *Clinical Chemistry*, 52(6), 1062–1069. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.068577>
- Umetani, N., Takeuchi, H., Fujimoto, A., Shinozaki, M., Bilchik, A. J., & Hoon, D. S. B. (2004). Epigenetic Inactivation of ID4 in Colorectal Carcinomas Correlates with Poor Differentiation and Unfavorable Prognosis. *Clinical Cancer Research*, 10(22), 7475–7483. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0689>
- Valori, R., Rey, J.-F., Atkin, W., Bretthauer, M., Senore, C., Hoff, G., ... International Agency for Research on Cancer. (2012). European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition - Quality assurance in endoscopy in colorectal cancer screening and diagnosis. *Endoscopy*, 44(S 03), SE88–SE105. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1309795>
- Van Cutsem, E., Köhne, C.-H., Láng, I., Folprecht, G., Nowacki, M. P., Cascinu, S., ... Ciardiello, F. (2011). Cetuximab Plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin As First-Line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer: Updated Analysis of Overall Survival According to Tumor KRAS and BRAF Mutation Status. *Journal of Clinical Oncology*, 29(15), 2011–2019. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.33.5091>
- van Dam, L., Kuipers, E. J., Steyerberg, E. W., van Leerdam, M. E., & de Beaufort, I. D. (2013). The price of autonomy: should we offer individuals a choice of colorectal cancer screening strategies? *The Lancet Oncology*, 14(1), e38–e46. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70455-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70455-2)

- van Engeland, M., Derks, S., Smits, K. M., Meijer, G. A., & Herman, J. G. (2011). Colorectal Cancer Epigenetics: Complex Simplicity. *Journal of Clinical Oncology*, 29(10), 1382–1391. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.28.2319>
- Van Gossum, A., Munoz-Navas, M., Fernandez-Urien, I., Carretero, C., Gay, G., Delvaux, M., ... Devière, J. (2009). Capsule Endoscopy versus Colonoscopy for the Detection of Polyps and Cancer. *New England Journal of Medicine*, 361(3), 264–270. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0806347>
- van Lier, M. G., Leenen, C. H., Wagner, A., Ramsoekh, D., Dubbink, H. J., van den Ouweland, A. M., ... LIMO Study Group. (2012). Yield of routine molecular analyses in colorectal cancer patients ≤ 70 years to detect underlying Lynch syndrome. *The Journal of Pathology*, 226(5), 764–774. <https://doi.org/10.1002/path.3963>
- van Putten, P., ter Borg, F., Adang, R., Koornstra, J., Romberg-Camps, M., Timmer, R., ... Van Leerdam, M. (2012). Nurse endoscopists perform colonoscopies according to the international standard and with high patient satisfaction. *Endoscopy*, 44(12), 1127–1132. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1310154>
- van Roon, A. H. C., Goede, S. L., van Ballegooijen, M., van Vuuren, A. J., Looman, C. W. N., Biermann, K., ... Kuipers, E. J. (2013). Random comparison of repeated faecal immunochemical testing at different intervals for population-based colorectal cancer screening. *Gut*, 62(3), 409–415. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301583>
- van Roon, A. H. C., Wilschut, J. A., Hol, L., van Ballegooijen, M., Reijerink, J. C. I. Y., 't Mannetje, H., ... Kuipers, E. J. (2011). Diagnostic Yield Improves With Collection of 2 Samples in Fecal Immunochemical Test Screening Without Affecting Attendance. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9(4), 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.12.012>
- van Rossum, L. G., van Rijn, A. F., Laheij, R. J., van Oijen, M. G., Fockens, P., van Krieken, H. H., ... Dekker, E. (2008). Random Comparison of Guaiac and Immunochemical Fecal Occult Blood Tests for Colorectal Cancer in a Screening Population. *Gastroenterology*, 135(1), 82–90.

<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.040>

- Vasen, H. F. A., Tomlinson, I., & Castells, A. (2015). Clinical management of hereditary colorectal cancer syndromes. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(2), 88–97. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.229>
- Vijan, S., Vijan, S., Janz, N. K., Fagerlin, A., Thomas, J. P., Lin, Y. V., ... Hayward, R. A. (2012). Adherence to Colorectal Cancer Screening. *Archives of Internal Medicine*, 172(7), 575. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2012.332>
- Wallner, M., Herbst, A., Behrens, A., Crispin, A., Stieber, P., Goke, B., ... Kolligs, F. T. (2006). Methylation of Serum DNA Is an Independent Prognostic Marker in Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(24), 7347–7352. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1264>
- Wan, P. T. C., Garnett, M. J., Roe, S. M., Lee, S., Niculescu-Duvaz, D., Good, V. M., ... Cancer Genome Project. (2004). Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell*, 116(6), 855–867. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15035987>
- Warren, J. D., Xiong, W., Bunker, A. M., Vaughn, C. P., Furtado, L. V, Roberts, W. L., ... Heichman, K. A. (2011). Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. *BMC Medicine*, 9(1), 133. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-133>
- Warton, K., Lin, V., Navin, T., Armstrong, N. J., Kaplan, W., Ying, K., ... Samimi, G. (2014). Methylation-capture and Next-Generation Sequencing of free circulating DNA from human plasma. *BMC Genomics*, 15(1), 476. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-476>
- Waye, J. D., Heigh, R. I., Fleischer, D. E., Leighton, J. A., Gurudu, S., Aldrich, L. B., ... Rex, D. K. (2010). A retrograde-viewing device improves detection of adenomas in the colon: a prospective efficacy evaluation (with videos). *Gastrointestinal Endoscopy*, 71(3), 551–556. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2009.09.043>
- Wendt, M. K., Johanesen, P. A., Kang-Decker, N., Binion, D. G., Shah, V., & Dwinell, M. B. (2006). Silencing of epithelial CXCL12 expression by DNA

- hypermethylation promotes colonic carcinoma metastasis. *Oncogene*, 25(36), 4986–4997. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209505>
- Westra, J. L., Schaapveld, M., Hollema, H., de Boer, J. P., Kraak, M. M. J., de Jong, D., ... Plukker, J. T. M. (2005). Determination of *TP53* Mutation Is More Relevant Than Microsatellite Instability Status for the Prediction of Disease-Free Survival in Adjuvant-Treated Stage III Colon Cancer Patients. *Journal of Clinical Oncology*, 23(24), 5635–5643. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.096>
- Wilschut, J. A., Habbema, J. D. F., van Leerdam, M. E., Hol, L., Lansdorp-Vogelaar, I., Kuipers, E. J., & van Ballegooijen, M. (2011). Fecal Occult Blood Testing When Colonoscopy Capacity is Limited. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 103(23), 1741–1751. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr385>
- Winawer, S. J., Zauber, A. G., Ho, M. N., O'Brien, M. J., Gottlieb, L. S., Sternberg, S. S., ... Stewart, E. T. (1993). Prevention of Colorectal Cancer by Colonoscopic Polypectomy. *New England Journal of Medicine*, 329(27), 1977–1981. <https://doi.org/10.1056/NEJM199312303292701>
- Wolf, A. M. D., Fontham, E. T. H., Church, T. R., Flowers, C. R., Guerra, C. E., LaMonte, S. J., ... Smith, R. A. (2018). Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. <https://doi.org/10.3322/caac.21457>
- Wong, J. J. L., Hawkins, N. J., & Ward, R. L. (2007). Colorectal cancer: a model for epigenetic tumorigenesis. *Gut*, 56(1), 140–148. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.088799>
- Worthley, D. L., Whitehall, V. L. J., Buttenshaw, R. L., Irahara, N., Greco, S. A., Ramsnes, I., ... Leggett, B. A. (2010). DNA methylation within the normal colorectal mucosa is associated with pathway-specific predisposition to cancer. *Oncogene*, 29(11), 1653–1662. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.449>
- Yamashita, K., Dai, T., Dai, Y., Yamamoto, F., & Perucho, M. (2003). Genetics

- supersedes epigenetics in colon cancer phenotype. *Cancer Cell*, 4(2), 121–131. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12957287>
- Yamauchi, M., Morikawa, T., Kuchiba, A., Imamura, Y., Qian, Z. R., Nishihara, R., ... Ogino, S. (2012). Assessment of colorectal cancer molecular features along bowel subsites challenges the conception of distinct dichotomy of proximal versus distal colorectum. *Gut*, 61(6), 847–854. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300865>
- Yee, J., Kim, D. H., Rosen, M. P., Lalani, T., Carucci, L. R., Cash, B. D., ... Yaghmai, V. (2014). ACR Appropriateness Criteria Colorectal Cancer Screening. *Journal of the American College of Radiology*, 11(6), 543–551. <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2014.02.006>
- Yen, L.-C., Yeh, Y.-S., Chen, C.-W., Wang, H.-M., Tsai, H.-L., Lu, C.-Y., ... Wang, J.-Y. (2009). Detection of KRAS Oncogene in Peripheral Blood as a Predictor of the Response to Cetuximab Plus Chemotherapy in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 15(13), 4508–4513. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-3179>
- Yin, H., Liang, Y., Yan, Z., Liu, B., & Su, Q. (2013). Mutation spectrum in human colorectal cancers and potential functional relevance. *BMC Medical Genetics*, 14(1), 32. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-14-32>
- Yokota, T. (2012). Are KRAS/BRAF mutations potent prognostic and/or predictive biomarkers in colorectal cancers? *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 12(2), 163–171. <https://doi.org/10.2174/187152012799014968>
- Yörüker, E. E., Özgür, E., Keskin, M., Dalay, N., Holdenrieder, S., & Gezer, U. (2015). Assessment of circulating serum DNA integrity in colorectal cancer patients. *Anticancer Research*, 35(4), 2435–2440. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25862911>
- Zauber, A. G., Winawer, S. J., O'Brien, M. J., Lansdorp-Vogelaar, I., van Ballegooijen, M., Hankey, B. F., ... Waye, J. D. (2012a). Colonoscopic Polypectomy and Long-Term Prevention of Colorectal-Cancer Deaths. *New England Journal of Medicine*, 366(8), 687–696.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1100370>

Zauber, A. G., Winawer, S. J., O'Brien, M. J., Lansdorp-Vogelaar, I., van Ballegooyen, M., Hankey, B. F., ... Waye, J. D. (2012b). Colonoscopic Polypectomy and Long-Term Prevention of Colorectal-Cancer Deaths. *New England Journal of Medicine*, 366(8), 687–696. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1100370>

Zeki, S. S., Graham, T. A., & Wright, N. A. (2011). Stem cells and their implications for colorectal cancer. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 8(2), 90–100. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.211>

Zhu, W., Qin, W., Bradley, P., Wessel, A., Puckett, C. L., & Sauter, E. R. (2004). Mitochondrial DNA mutations in breast cancer tissue and in matched nipple aspirate fluid. *Carcinogenesis*, 26(1), 145–152. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh282>

6. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ ΓΑΛΑΝΟΠΟΥΛΟΥ ΜΙΧΑΗΛ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Μιχαήλ Π. Γαλανόπουλος

Στρατιωτικός Ιατρός

Γαστρεντερολόγος

Ημ. Γέννησης: 20/04/1984

Τόπος Γέννησης: Κάλυμνος

Email: galanopoulosdr@gmail.com

Linkedin: <http://gr.linkedin.com/pub/michail-galanopoulos/88/a48/547/>

Orcid id: orcid.org/0000-0002-7544-2810

Researchgate: <https://www.researchgate.net/home>

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Ιουν 2019 - σήμερα

Γαστρεντερολόγος στο Γαστρεντερολογικό τμήμα του 401 Γενικού Στρατιωτικού Νοσοκομείου Αθηνών, Ελλάδα

8 Μαΐου 2019

Απόκτηση τίτλου ειδικότητας «Γαστρεντερολογίας»

Απόκτηση Ευρωπαϊκού Διπλώματος Γαστρεντερολογίας κατόπιν γραπτών εξετάσεων

Ιουν 2017- Φεβ 2019

Ειδικευόμενος Γαστρεντερολογίας στο ΓΝΑ “ ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ”

Νοε 2018- Δεκ 2018

Υπότροφος από την Ευρωπαϊκή Ενδοσκοπική Εταιρεία Γαστρεντερολογίας (ESGE) μετά από επιτυχή αίτηση για το πρόγραμμα ESGE Module I: ‘Basic Training with Experts’ στο Leeds Teaching Hospitals, Leeds, UK, υπό την καθοδήγηση του καθηγητή Björn Rembacken

Σεπ 2017

Υπότροφος από την Ευρωπαϊκή εταιρία Γαστρεντερολογίας (UEG) για προχωρημένη Ενδοσκόπηση στο University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands, υπό την καθοδήγηση του Καθηγητή Peter Siersema

Ιαν 2017- Απρ 2017

Ειδικέομενος Γαστρεντερολογίας στο τμήμα Gastroenterology & Neuroendocrine Tumours, Royal Free Hospital, London, UK

3 Ιουν 2015

Υποψήφιος Διδάκτορας Εθνικού και καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, τμήμα Ιατρικής

Δεκ 2014- Δεκ 2016

Ειδικέομενος Γαστρεντερολογίας στο ΓΝΑ “ ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ”

Οκτ 2012- Νοε 2014

Ειδικέομενος Παθολογίας, 401 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Αθηνών.

Συνεργάτης Διαιτολογικού τμήματος 401 Γενικού Στρατιωτικού Νοσοκομείου Αθηνών.

Αυγ 2009- Οκτ 2012

Ιατρός Μονάδος, Τάγμα Υγειονομικού, Κως: συμμετοχή σε στρατιωτικές αποστολές-ασκήσεις σε επιχειρησιακό επίπεδο και σε υγειονομικές καλύψεις στα πέριξ νησιά (Φαρμακονήσι, Ψέριμο, Καλόλιμνο, Ίμια, Πλάτη), καθώς επίσης και παροχή υγειονομικής περίθαλψης σε απόρους και στον τοπικό πληθυσμό σε Κω και Κάλυμνο. Τέλος παροχή υγειονομικής περίθαλψης σε μετανάστες μετά από περισυλλογή τους στα ακριτικά αυτά νησιά σε συνεργασία με Frontex.

Νοε 2010- Μαρ 2011

Συμμετοχή σε Ειρηνευτική αποστολή στο Αφγανιστάν με σκοπό την παροχή υγειονομικής περίθαλψης στην Ελληνική Στρατιωτική δύναμη της περιοχής

Καμπούλ και εκπαίδευσης (mentoring) Αφγανικού υγειονομικού προσωπικού στα πλαίσια Νατοϊκής παροχής βοήθειας.

Νοε 2008- Αυγ 2009

Σχολή Εφαρμογής Υγειονομικού (Σ.Ε.Υ.), 401 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Αθηνών: Εκπαίδευση σε Επείγοντα Περιστατικά, αεροδιακομιδές, αντιμετώπιση Βιολογικού-Χημικού πολέμου, καθώς και κυκλική εκπαίδευση σε κλινικές του νοσοκομείου (Γαστρεντερολογική, Καρδιολογική, Ωτορινολαρυγγολογική, Διαιτολογική, Παθολογική).

ΣΠΟΥΔΕΣ

2002-2008

Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

2002-2008

Στρατιωτικής Σχολής Αξιωματικών Σωμάτων (Σ.Σ.Α.Σ)

1998-2002

Απολυτήριο γενικού ενιαίου λυκείου, 2^ο Λύκειο Καλύμνου

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

Σεμινάριο Πρώτων Βοηθειών, Ερυθρός Σταυρός, Θεσσαλονίκη (2005-2008)

13^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος και 1^ο Διεθνές Forum Φοιτητών Ιατρικής και Νέων Ιατρών Ελλάδος. 20-22 Απριλίου 2007 (Αθήνα)

Διημερίδα του Ελληνικού Ιδρύματος Γαστρεντερολογίας και Διατροφής με θέμα «Εξελίξεις στη Γαστρεντερολογία και Ηπατολογία» 21 Φεβρουαρίου 2009 (Αθήνα) (8 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης-C.M.E. credits)

4^η Διεθνής Ζωντανή Ημερίδα Ενδοσκόπησης, 3 Νοεμβρίου 2012 (Αθήνα)

32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 29^η Νοεμβρίου- 1^η Δεκεμβρίου 2012 (Αθήνα), (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

Διημερίδα με θέμα «Καθημερινή Άσκηση της Ηπατολογίας-Προβλήματα και Πρακτικές Οδηγίες», 28-29 Σεπτεμβρίου 2013, Αθήνα (9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης-C.M.E. credits)

12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου, 14-16 Ιουνίου 2013, Βόλος (13 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

Ημερίδα με θέμα «Νεοπλάσματα Γαστρεντερικού Συστήματος», 12 Οκτωβρίου 2013, Αθήνα (6 μόρια Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

9^η Διημερίδα του Ελληνικού Ιδρύματος Γαστρεντερολογίας και Διατροφής με θέμα «Εξελίξεις στη Γαστρεντερολογία και Ηπατολογία», 7-8 Φεβρουαρίου 2014, Αθήνα (9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

19^ο Ελληνικό Συνέδριο για το Ελικοβακτηρίδιο του Πυλωρού, 15 Μαρτίου 2014, Αθήνα (6 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης-C.M.E. credits)

13^ο πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, 22-24 Μαΐου 2014, Δελφοί (13 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

Ημερίδα με θέμα «Επίκαιρα Θέματα Ηπατογαστρεντερολογίας» 20 Ιουνίου 2014, Γ.Ν.Α. «Λαϊκό»

25^ο Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων, 27-29 Νοεμβρίου 2014, Θεσσαλονίκη

ESGE / ESGAR / EAES Quality in Endoscopy: GI Bleeding symposium
Νοέμβριος 28 - 29, 2014, Βερολίνο

34^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 4-6 Δεκεμβρίου 2014, Αθήνα
(18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

14^ο πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, 5-7 Ιουνίου 2015, Ερέτρια (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

2^η Εκπαιδευτική Ημερίδα με θέμα «Επίκαιρα Θέματα Ηπατογαστρεντερολογίας», 19 Ιουνίου 2015, Γ.Ν.Α. «Λαϊκό»

33rd Gastroenterology and Endotherapy European Workshop (GEEW), Ιούνιος 15-17, 2015, Βρυξέλλες (17 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης-C.M.E. credits)

Ημερίδα με θέμα «Synopsis of Digestive Disease Week», Ιούνιος 27, 2015, Αθήνα

35^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 09-11 Οκτωβρίου 2015, Καλαμάτα (18 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

Παρακολούθηση και Συμμετοχή (Hands-on) στο Postgraduate Teaching programme του 23^{ου} πανευρωπαϊκού συνεδρίου Γαστρεντερολογίας (UEG week), 24,25 Οκτωβρίου 2015, Βαρκελώνη, Ισπανία

Παρακολούθηση του 23^{ου} πανευρωπαϊκού συνεδρίου Γαστρεντερολογίας (UEG week, 23rd United European Gastroenterology Week), 26-28 Οκτωβρίου 2015, Βαρκελώνη, Ισπανία

Παρουσίαση περιστατικών στα πλαίσια του εκπαιδευτικού προγράμματος της Ε.Ε.Π.Ν.Ε για το ακαδημαϊκό έτος 2015-2016, 18 Νοεμβρίου 2015, Αθήνα, Γ.Ν.Α. Ευαγγελισμός

13^η Διημερίδα ΕΠΕΓΕ με θέμα «Κλινικό φροντιστήριο Αντιμετώπισης Απειλητικών για την Ζωή Καταστάσεων στην Ενδοσκόπηση», 4-6 Δεκεμβρίου 2015, Αθήνα (4 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης-C.M.E. credits)

Παρουσίαση περιστατικών στα πλαίσια του εκπαιδευτικού προγράμματος της Ε.Ε.Π.Ν.Ε για το ακαδημαϊκό έτος 2015-2016, 16 Δεκεμβρίου 2015, Αθήνα, Γ.Ν.Α. Ευαγγελισμός

23^η Διεθνής Διημερίδα Ιογενών Ηπατιτιδών Β και C «Χατζηγιάννης», 30-31 Ιανουαρίου 2016, Αθήνα

11η Εκπαιδευτική Συνάντηση ΕΛ.Ι.ΓΑΣΤ, 12-13 Φεβρουαρίου 2016, Αθήνα

17^ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο με θέμα: <Διαταραχές της οξεοβασικής ισορροπίας και των ηλεκτρολυτών> , Αθήνα, 5 Μαρτίου 2016

Συμμετοχή στο Quality In Endoscopy Symposium Upper Gi Endoscopy And Neoplasia, 15-16 Απριλίου 2016, Βερολίνο, Γερμανία

Ενεργή συμμετοχή στην Hands-on εκπαίδευση στα πλαίσια του Quality In Endoscopy Symposium Upper Gi Endoscopy And Neoplasia, 15-16 Απριλίου 2016, Βερολίνο, Γερμανία

Ετήσια Διημερίδα Επιστημονικών Τμημάτων της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας, 22-23 Απριλίου 2016, Αθήνα (7 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, 3-5 Ιουνίου 2016, Ιωάννινα

3rd Athens Symposium on Gastrointestinal Cancer, Prevention, Recognition & Management, 8-9 Ιουλίου 2016, Αθήνα

14^η Διημερίδα Επαγγελματικής Ένωσης Γαστρεντερολόγων Ελλάδας
8-9/10/2016, Αθήνα

Κλινικό Φροντιστήριο Αντιμετώπισης Απειλητικών για τη Ζωή Καταστάσεων στην Ενδοσκόπηση στα πλαίσια της 14ης Διημερίδας ΕΠΕΓΕ,
9/10/2016, Αθήνα

NET MASTERCLASS 2016: an interactive workshop, 12 Νοεμβρίου 2016,
Αθήνα (6 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-
CPD)

36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 24-27 Νοεμβρίου 2016, Αθήνα

24η Διεθνής Διημερίδα Ιογενών Ηπατίτιδων Β & C 'Στ.Χατζηγιαννης', 28-29
Ιανουαρίου 2017, Αθήνα

**Ετήσια Διημερίδα Επιστημονικών Τμημάτων της Ελληνικής
Γαστρεντερολογικής Εταιρείας**, 7-8 Απριλίου 2017, Αθήνα

Επιστημονική Ημερίδα με θέμα: Σύνοψη DDW 2017, 20 Μαΐου 2017, Αθήνα

Colorectal Cancer: Progress and Prospects Meeting, 19 - 20 Μαΐ 2017, Αθήνα
(A European society of digestive oncology (ESDO) supported meeting)

**16^ο πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του
Εντέρου**, 9-11 Ιουνίου 2017, Ναύπλιο (9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής
Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

**4η Επιστημονική Ημερίδα με θέμα: Σύγχρονη Γαστρεντερολογία -
Ηπατολογία: Από τις Κατευθυντήριες Οδηγίες στην Κλινική Πράξη**, 17
Ιουνίου 2017, Αθήνα

37ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 5-7 Οκτωβρίου, 2017
Θεσσαλονίκη

25η Διεθνής Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτιδων Β & C «Στ. Χατζηγιάννης» 26-28 Ιανουαρίου 2018, Αθήνα

13η Πανελλήνια Εκπαιδευτική Συνάντηση ΕΛΙΓΑΣΤ, 23-25 Φεβρουαρίου 2018, Αθήνα

23ο Συνέδριο Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού & λοιπών λοιμώξεων πεπτικού, 30-31 Μαρτίου 2018, Αθήνα

16ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, 4-6 Μαΐου 2018, Αθήνα

Colorectal Cancer: Progress and Prospects Meeting, 19-20 Μαΐου 2018, Αθήνα, (A European Society of Digestive Oncology (Esdo) Supported Meeting)

5η Επιστημονική Ημερίδα με θέμα: Σύγχρονη Γαστρεντερολογία - Ηπατολογία: Από τις Κατευθυντήριες Οδηγίες στην Κλινική Πράξη, 9 Ιουνίου 2018, Αθήνα

Επιστημονική Ημερίδα με θέμα: Σύνοψη DDW 2018, 23 Ιουνίου 2018, Αθήνα

4th AISDD Athens International Symposium, 06/07/2018-07/07/2018, Αθήνα

16η Πανελλήνια Επιστημονική Εκδήλωση Επαγγελματικής Ένωσης Γαστρεντερολόγων Ελλάδας, 28-30 Σεπτεμβρίου, 2018, Αθήνα

38ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 6-9 Δεκεμβρίου 2018, Αθήνα

18ο πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, 30 Μαΐου-2 Ιουνίου 2019, Αργολίδα (11 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Μεταπτυχιακής Εκπαίδευσης-C.M.E.-CPD)

1ο Εντατικό Σεμινάριο Ι.Φ.Ν.Ε και Ανοσιακές Παθήσεις των Εντέρων, 27 Σεπ - 28 Σεπ 2019, ΓΝΑ Ευαγγελισμός, Αθήνα

«Εξελίξεις και προκλήσεις στην Ογκολογία». NIMITS , Αθήνα (03 Οκτ 2019)

39^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 10-13 Οκτωβρίου 2019, Αλεξανδρούπολη

17η Πανελλήνια Επιστημονική Εκδήλωση Επαγγελματικής Ένωσης Γαστρεντερολόγων Ελλάδας, 7-8 Δεκεμβρίου 2019, Αθήνα

Επιτυχής παρακολούθηση κύκλου μαθημάτων **9^ο σχολείου Κλινικής Ηπατολογίας** που διοργάνωσε η Ελληνική Εταιρία Μελέτης Ήπατος για το ακαδημαϊκό έτος 2015-2016

Επιτυχής παρακολούθηση των **Μετεκπαιδευτικών Φροντιστηριακών Μαθημάτων της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας** της εκπαιδευτικής περιόδου 2014-2015 στην ενότητα «Λεπτό και Παχύ Έντερο» διάρκειας 36 εκπαιδευτικών ωρών, επιτυχών στις δύο γραπτές δοκιμασίες του προγράμματος

Επιτυχής παρακολούθηση των **Μετεκπαιδευτικών Φροντιστηριακών Μαθημάτων της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας** της εκπαιδευτικής περιόδου 2015-2016 στην ενότητα « Ήπαρ Χοληφόρα Πάγκρεας» διάρκειας 32 εκπαιδευτικών ωρών, επιτυχών στις δύο γραπτές δοκιμασίες του προγράμματος

Επιτυχής παρακολούθηση των **Μετεκπαιδευτικών Φροντιστηριακών Μαθημάτων της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας** της εκπαιδευτικής περιόδου 2016 - 2017 διάρκειας 32 εκπαιδευτικών ωρών, επιτυχών στις δύο γραπτές δοκιμασίες του προγράμματος

Επιτυχής παρακολούθηση των **Μετεκπαιδευτικών Φροντιστηριακών Μαθημάτων της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας** της εκπαιδευτικής περιόδου 2017 - 2018 διάρκειας 32 εκπαιδευτικών ωρών, επιτυχών στις δύο γραπτές δοκιμασίες του προγράμματος

ΒΡΑΒΕΙΑ -ΕΥΦΗΜΕΣ ΜΝΕΙΕΣ

Μαρ 2009

Εύφημος Μνεία από τον Διοικητή της Ταξιαρχίας της νήσου Κω για την επιτυχή αντιμετώπιση της απειλητικής για την ζωή του κατάστασης ενός 25χρονου στρατιώτη με επεισόδιο βακτηριακής Μηνιγγίτιδας

Νοε 2010- Μαρ 2011

Εύφημος Μνεία από τον Διοικητή του Τάγματος της Ειρηνευτικής αποστολής στην Καμπούλ, Αφγανιστάν για την συμμετοχή μου

Δεκ 2017

Βραβευμένος με το 1^ο βραβείο στο συνέδριο UKINETS 2017 στο Λονδίνο, Αγγλίας για την καλύτερη αναρτημένη εργασία με τίτλο: *Prophylactic right hemicolectomy in Appendiceal Neuroendocrine Neoplasms: challenging the current indications.*

Μαρ 2018

Βραβευμένος με το 2^ο καλύτερο βραβείο αναρτημένης εργασίας το 2018 στην κατηγορία των κλινικών εργασιών στο 15ο Ετήσιο ENETS συνέδριο

(Βαρκελώνη, Ισπανία): *Antiproliferative Effect of Above-Label Doses of Somatostatin Analogues (SSA) for the Management of Neuroendocrine Tumors (NETs).*

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ
(JOURNAL ARTICLES-PUBMED INDEXED)

Small bowel enteropathy associated with olmesartan medoxomil treatment.
Michail Galanopoulos, et al. Ann Gastroenterol. 2017;30(1):131-133. doi:
10.20524/aog.2016.0052. Epub 2016 Jun 3.

A rectovaginal fistula after treatment with bevacizumab. A dangerous side effect needing emergency treatment. Galanopoulos M, et al. Clin Case Rep. 2016 Feb 26;4(4):449-50. doi: 10.1002/ccr3.523. eCollection 2016 Apr.

Effective colonoscopy training techniques: strategies to improve patient outcomes. Galanopoulos M, et al. Adv Med Educ Pract. 2016 Mar 29;7:201-10. doi: 10.2147/AMEP.S99617. eCollection 2016. Review.

Rectal neuroendocrine tumor with uncommon metastatic spread: A case report and review of literature. Michail Galanopoulos, et al. World J Gastrointest Oncol. 2016 Feb 15;8(2):231-4. doi: 10.4251/wjgo.v8.i2.231.

An alternative method of endoscopic retrieval of a proximally migrated biliary plastic stent using a "sphincterotome hooking the stent" technique. Galanopoulos M, et al. Endoscopy. 2015;47 Suppl 1 UCTN:E64-5. doi: 10.1055/s-0034-1391242. Epub 2015 Feb 17.

Black esophagus: an uncommon cause of upper gastrointestinal bleeding. Galanopoulos M, et al. Intern Emerg Med. 2016 Oct;11(7):1019-20. doi: 10.1007/s11739-015-1360-z. Epub 2015 Nov 24.

A carpet-like polyposis: An unusual endoscopic image of stomach in patients with familial adenomatous polyposis. Galanopoulos M, et al. Arab J Gastroenterol. 2016 Mar;17(1):60. doi: 10.1016/j.ajg.2015.06.009.

Intrathoracic Stomach and Partial Transverse Colon with Gastric Volvulus. Galanopoulos M, et al. ACG Case Rep J. 2015 Oct 9;3(1):9-10. doi: 10.14309/crj.2015.83. eCollection 2015 Oct.

Abrikossoff cell tumor of the esophagus: case presentation of a rare endoscopic entity and review of literature. Galanopoulos M, et al. J Gastrointest Cancer. 2015 Mar;46(1):87-9. doi: 10.1007/s12029-015-9683-6

Impact of occupational stress on irritable bowel syndrome pathophysiology and potential management in active duty noncombat Greek military personnel: a multicenter prospective survey. Galanopoulos M, Eur J Gastroenterol Hepatol. 2019 May 16. doi: 10.1097/MEG.0000000000001439. [Epub ahead of print]

An uncommon presentation of a metachronous primary gastric tumor in a patient with a resected colorectal carcinoma: case report and review of the literature. Galanopoulos M, et al. J Gastrointest Cancer. 2015 Mar;46(1):85-6. doi: 10.1007/s12029-015-9682-7. Review.

A forgotten nasogastric feeding tube that refuses to get out. Galanopoulos M, et al. Clin Case Rep. 2017 Jan 17;5(2):205-207. doi: 10.1002/ccr3.818. eCollection 2017 Feb.

Comparative Study of Mutations in Single Nucleotide Polymorphism Loci of KRAS and BRAF Genes in Patients Who Underwent Screening Colonoscopy, With and Without Premalignant Intestinal Polyps. Galanopoulos M, et al. Anticancer Res. 2017 Feb;37(2):651-657.

Occipital Headache as Initial Manifestation of a Pancreatic Neuroendocrine Tumor. Galanopoulos M, et al. J Gastrointest Cancer. 2017 Mar 11. doi: 10.1007/s12029-017-9931-z.

Epithelial-Mesenchymal Transition in Non-Small-cell Lung Cancer. Galanopoulos M, et al. *Anticancer Res.* 2017 Apr;37(4):1773-1778.

Abnormal DNA methylation as a cell-free circulating DNA biomarker for colorectal cancer detection: A review of literature. Galanopoulos M, et al. *World J Gastrointest Oncol.* 2017 Apr 15;9(4):142-152. doi: 10.4251/wjgo.v9.i4.142. Review.

Proton pump inhibitor and selective serotonin reuptake inhibitor therapy for the management of noncardiac chest pain. Galanopoulos M, et al. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017 Sep;29(9):1054-1058. doi: 10.1097/MEG.0000000000000925.

Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 serum levels in non-small cell lung cancer. Galanopoulos M. et al. *J BUON.* 2017 Nov-Dec;22(6):1390-1394.

Identification of Methylation Profiles of Cancer-related Genes in Circulating Tumor Cells Population. Galanopoulos M, et al. *Anticancer Res.* 2017 Mar;37(3):1105-1112.

Validation of the "United Registries for Clinical Assessment and Research" (UR-CARE), a European online registry for clinical care and research in Inflammatory Bowel Disease. Galanopoulos M. et al. *J Crohns Colitis.* 2018 Feb 3. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjy015.

Mucinous breast carcinoma with tall columnar cells. Galanopoulos M, *Ann R Coll Surg Engl.* 2018 Apr 16:e1-e4. doi: 10.1308/rcsann.2018.0060.

Secondary metastatic lesions to colon and rectum. Michail Galanopoulos, *Annals of Gastroenterology* (2018) 31, 1-6. DOI: <https://doi.org/10.20524/aog.2018.0244>

Advanced small cell lung cancer (SCLC): new challenges and new expectations. Michail Galanopoulos, *Ann Transl Med* 2018;6(8):145. doi: 10.21037/atm.2018.03.31

Advances on systemic treatment for lung neuroendocrine neoplasms. Michail Galanopoulos, *Ann Transl Med* 2018;6(8):146. doi: 10.21037/atm.2018.04.03

The Problem of Appendiceal Carcinoids. Michail Galanopoulos, *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2018 Sep;47(3):661-669. doi: 10.1016/j.ecl.2018.04.004.

Screening and surveillance methods for dysplasia in inflammatory bowel disease patients: Where do we stand?_Michail Galanopoulos, *World J Gastrointest Endosc* 2018; 10(10): 250-258. doi: 10.4253/wjge.v10.i10.250

Challenging the Current Risk Factors of Appendiceal Neuroendocrine Neoplasms: Can They Accurately Predict Local Lymph Nodal Invasion? Results from a Large Case Series. Galanopoulos M, *Neuroendocrinology.* 2019;109(2):179-186. doi: 10.1159/000499381. Epub 2019 May 6

Impact of occupational stress on irritable bowel syndrome pathophysiology and potential management in active duty noncombat Greek military personnel: a multicenter prospective survey. Galanopoulos M, *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2019 Aug;31(8):954-963. doi:10.1097/MEG.0000000000001439.

Helicobacter pylori eradication regimens in an antibiotic high-resistance European area: A cost-effectiveness analysis. Galanopoulos M, *Helicobacter.* 2019 Nov 6:e12666. doi: 10.1111/hel.12666.

Desmoplastic small round-cell tumour of the peritoneal cavity: case report and literature review. Galanopoulos M, *Ann R Coll Surg Engl.* 2020;1-5. doi:10.1308/rcsann.2019.0180

Evaluation of the Direct Economic Cost per Eradication Treatment Regimen against *Helicobacter pylori* Infection in Greece: Do National Health Policy-Makers Need to Care?

Galanopoulos M, M.Medicina (Kaunas). 2020 Mar 18;56(3):E133. doi: 10.3390/medicina56030133.PMID: 32197498

ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΒΙΒΛΙΑ

The Problem of Appendiceal Carcinoids

Galanopoulos, Michail et al. Endocrinology and Metabolism Clinics, Volume 47, Issue 3, 661 – 669

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

Συμμετοχή στην πανευρωπαϊκή μελέτη UR-CARE (The United Registries for Clinical Assessment and Research)

Συμμετοχή σε Ερευνητικά Πρωτόκολλα (sub-investigator) που πραγματοποιήθηκαν με την συνεργασία με τα μεγαλύτερα κέντρα της Ευρώπης και της Αμερικής

- PROFILE Clinical study (2819-MA- 1003) : OPEN LABEL study to evaluate the pharmacokinetics of fidaxomicin in Inflammatory Bowel Disease (IBD) Subjects with Clostridium Difficile Infection (CDI) 13/3/2015-30/4/2016 -Completed
- CONNECT-IBD clinical study : Protocol ZOB INF 1402 is a Post-Marketing Observational Cohort Study of Patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD) Treated with Inflectra (infliximab) in Usual Clinical Practice

- ICONIC Study: Understanding the Impact of Ulcerative colitis and its associated disease burden on patients
- VOLTAIRE®-CD (Boehringer Ingelheim Biosimilar Study 1297.4), which is evaluating the safety and efficacy of BI 695501 versus Humira®, in patients with moderately to severely active Crohn's disease (CD).

Ενεργή συμμετοχή στην διαδικασία κρίσης εργασιών γνωστών ιατρικών περιοδικών όπως:

- PubMed indexed Journals

Clinical Case Reports Journal

World Journal of Gastroenterology

Annals of Hepatology

Australasian Medical Journal

Case Reports in Surgery

Journal of the Canadian Association of Gastroenterology

World Journal of Surgical Oncology

Expert Review of Gastroenterology & Hepatology

- Peer-reviewed Journals

Journal of Surgery and Surgical Research

International Journal of Critical Care and Emergency Medicine

Μέρος της ομάδας σύνταξης και επιβλεψης περιοδικών με κριτές όπως:

- 2016 έως σήμερα: Editorial Board Member of Austin Hepatology journal.

- 2016 έως σήμερα: Gastroenterology, Hepatology and Endoscopy (GHE) Journal

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ (E-POSTERS-
ORAL PRESENTATIONS)

Ruptured pseudoaneurysm of the splenic artery: a rare severe upper gastrointestinal bleeding. ESGE / ESGAR / EAES Quality in Endoscopy: GI bleeding symposium, November 28 - 29, 2014 - Berlin

Small bowel capsule endoscopy in elderly patients is feasible, safe and has a high diagnostic yield. Hellenic-Israeli Gastroenterology Meeting, 30 April - 02 May 2015, Heraklion, Crete

Prevalence of helicobacter pylori infection in crohn's disease: Abstract no.: W6.5 [Abstract] *Helicobacter*. 20 Supplement 1:85, September 2015.

The diagnostic yield of small bowel capsule endoscopy in postsurgical Crohn's Disease. Poster 234, 11th Congress of ECCO, March 16-19, 2016-RAI Amsterdam (DOI: <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw019.353>)

Crohn's disease diagnosed by chance in patients subjected to capsule endoscopy for the investigation of obscure gastrointestinal bleeding. Poster 1087, UEG Week, Vienna, October 15-19, 2016

Crohn's disease diagnosed by chance in patients subjected to capsule endoscopy for the investigation of obscure gastrointestinal bleeding. Poster, Gastro 2016: EGHS-WGO International Congress, Abu Dhabi, 17-19 November 2016

Azathioprine-induced severe gastritis in patients with Inflammatory Bowel Disease. Lecture presentation, Falk Symposium 2017: From the New and Complex Concepts to the Real Patient: Science and Clinic in IBD

"Do patients with Crohn's Disease in "Deep" remission need the full body-weight based dose of Azathioprine?" Lecture presentation, Falk Symposium 2017: From the New and Complex Concepts to the Real Patient: Science and Clinic in IBD

Predictors of Tissue Healing in Ulcerative Colitis Patients Treated with Anti-TNF. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(17\)31530-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(17)31530-5). Lecture presentation, Digestive Disease Week (DDW) 2017: Annual Meeting 2017, CHICAGO, IL, USA

Systematic inflammation and histologic grade in non-small cell lung carcinoma. *Annals of Oncology* (2017) 28 (suppl_5): v460-v496. [10.1093/annonc/mdx380](https://doi.org/10.1093/annonc/mdx380). Poster 1329, ESMO 2017 Congress, Spain 09 September 2017

Crohn's disease diagnosed by chance in patients subjected to capsule endoscopy for the investigation of obscure gastrointestinal bleeding UEG Week Vienna, October 2016 - E-poster.

Prophylactic right hemicolectomy in Appendiceal Neuroendocrine Neoplasms: challenging the current indications. Presented as lecture presentation at 15th Annual Meeting of the UK and Ireland Neuroendocrine Tumour Society 2017. *Endocrine Abstracts* (2017) 52 P20 | DOI:10.1530/endoabs.52.P20

Above-label doses of lanreotide Autogel for the treatment of advanced neuroendocrine tumours (NETs). Presented at lecture presentation at 15th Annual Meeting of the UK and Ireland Neuroendocrine Tumour Society 2017. *Endocrine Abstracts* (2017) 52 P23 | DOI:10.1530/endoabs.52.P23

Shortened interval of octreotide LAR administration for the treatment of advanced neuroendocrine tumours (NETs). Presented at lecture presentation at 15th Annual Meeting of the UK and Ireland Neuroendocrine Tumour Society 2017. *Endocrine Abstracts* (2017) 52 P24 | DOI:10.1530/endoabs.52.P24

Reassessment of Risk Factors Associated with Locoregional Lymph Nodal Metastases in Well-Differentiated Appendiceal Neuroendocrine Neoplasms. In *NEUROENDOCRINOLOGY* 2018 Jan 1 (Vol. 106, pp. 79-79). Presented at lecture presentation at 15th Annual ENETS Conference, 7-9 March 2018, Barcelona, Spain.

Antiproliferative Effect of Above-Label Doses of Somatostatin Analogues (SSA) for the Management of Neuroendocrine Tumors (NETs). Presented at Poster walk at 15th Annual ENETS Conference, 7-9 March 2018, Barcelona, Spain.

Factors Predicting Incomplete Small Bowel Capsule Endoscopy. ESGE Days 2018 oral presentations. *Endoscopy* 2018; 50(04): S18-S19 DOI: 10.1055/s-0038-1637079

Lost Tv Antenna Discovered Together With A Forgotten Nail. ESGE Days 2018 ePoster. *Endoscopy* 2018; 50(04): S156-S157 DOI: 10.1055/s-0038-1637506

Short-term efficacy of the biosimilar CT-P13 in Greek patients with ulcerative colitis: A retrospective single-center study. Lecture presentation, Falk Symposium 2018, Lisbon, Portugal. Crossing New Borders in IBD: Thoughts and Demands – From Mechanisms to Treatment

Efficacy of vedolizumab in inflammatory bowel disease refractory to antiTNF- α . Lecture presentation, Falk Symposium 2018, Lisbon, Portugal. Crossing New Borders in IBD: Thoughts and Demands – From Mechanisms to Treatment

The diagnostic yield of small bowel capsule endoscopy in postsurgical Crohn's disease, Lisbon, Portugal. Crossing New Borders in IBD: Thoughts and Demands – From Mechanisms to Treatment

Challenging the Current Criteria for Prophylactic Right Hemicolectomy in Appendiceal Neuroendocrine. Lecture presentation (Mo1207), Washington DC, USA. Digestive Disease Week 2018, May 2018, Gastroenterology 154(6):S-707 DOI:10.1016/S0016-5085(18)32488-0

Antiproliferative Effect of Above-Label Doses of Somatostatin Analogues (SSA) for the Management of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumours (GEP Net). Lecture presentation (Mo1209), Washington DC, USA. Digestive Disease Week 2018, May 2018, Gastroenterology 154(6):S-707-S-708, DOI:10.1016/S0016-5085(18)32490-9

The economic cost per treatment for the Helicobacter pylori eradication treatment schemes in Greece. Lecture presentation. European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG 2018), Kaunas, Lithuania, September 14 – 15, 2018, DOI: 10.13140/RG.2.2.14966.04169

The diagnostic yield of small bowel capsule endoscopy in postsurgical crohn's disease. Lecture presentation. Lecture Poster, UEG Week 2018, United European Gastroenterology Journal 2018; 6 (Supplement 1)

Clinical significance of RCAS1 and CD3 expression in non-small cell lung cancers in immunotherapy era. Lecture presentation. Lecture Poster, ESMO 2018 Congress, Munich, Germany - 19 Oct - 23 Oct 2018 (Volume 29 | Supplement 8 | October 2018, doi:10.1093/annonc/mdy269)

P1.09-35 Clinical Impact of Systematic Inflammation and Histologic Grade in Non Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC). October 2018, Journal of Thoracic Oncology 13(10):S563-S564.(<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.08.811>)

P1.09-36 Clinical Significance of Cannabinoid Receptor CB2 Expression in Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC). October 2018, **Journal of Thoracic Oncology** 13(10):S563-S564. (DOI: 10.1016/j.jtho.2018.08.812)

P659 Efficacy of switching from infliximab to golimumab in ulcerative colitis patients on deep remission, 14th Congress of ECCO, March 6-9, 2019-Denmark

P507 Efficacy of Infliximab after failure of subcutaneous anti-TNF agents in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis, 14th Congress of ECCO, March 6-9, 2019-Denmark

Extraintestinal manifestations in patients with inflammatory bowel disease: experience from a tertiary center. Lecture presentation, Falk Symposium 2019, Oxford, UK.

Factors predicting incomplete small bowel capsule endoscopy. Lecture presentation (Su1254), Washington DC, USA. Digestive Disease Week 2018, June 2018, *Gastrointestinal Endoscopy*, Volume 87 , Issue 6 , AB298 - AB299, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gie.2018.04.1641>

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Προφορικές ανακοινώσεις

Ο πολυμορφισμός των γονιδίων των κυτταροκινών στη σύγχρονη ιατρική
13^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος και 1^ο Διεθνές Forum Φοιτητών Ιατρικής και Νέων Ιατρών Ελλάδος, 20-22 Απριλίου 2007, Αθήνα

Προφορική ανακοίνωση εργασίας στο 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου με θέμα : «Ποσοστό προσβολής και

προγνωστικοί παράγοντες συμμετοχής του λεπτού εντέρου σε ασθενείς με νόσο Crohn που υποβάλλονται σε εντεροσκόπηση με κάψουλα»

Προφορική ανακοίνωση εργασίας στο Hellenic - Israeli Gastroenterology Meeting 30/4 - 2/5/2015 στη Χερσόνησο Ηρακλείου με θέμα : **“Need for gastrostomy change after its successful placement. A single center experience after a follow up”**

Προφορική ανακοίνωση εργασίας στο 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου με θέμα : **«Ποσοστό προσβολής και προγνωστικοί παράγοντες συμμετοχής του λεπτού εντέρου σε ασθενείς με νόσο Crohn που υποβάλλονται σε εντεροσκόπηση με κάψουλα»**

Εντεροσκόπηση με κάψουλα λεπτού εντέρου σε ασθενείς με νόσο Crohn: η εμπειρία ενός τριτοβαθμίου κέντρου αναφοράς έγινε δεκτή ως Προφορική Ανακοίνωση για παρουσίαση στο 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονών Νοσημάτων του Εντέρου

Συγκριτική μελέτη μεταλλάξεων σε θέσεις μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών που αφορούν τα γονίδια K-RAS και BRAF σε ασθενείς που υποβάλλονται σε προσυμπτωματική κολonosκόπηση με ανεύρεση ή όχι προκαρκινωματώδων πολυπόδων. Προφορική ανακοίνωση που παρουσιάστηκε στο 36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα, 24-27 Νοεμβρίου 2016

Προφορική ανακοίνωση στο 36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας στην Αθήνα 24-27/11/2016 με θέμα ΠΑ31: **« Πού εντοπίζονται οι αγγειοδυσπλασίες που αιμορραγούν ενεργά σε ασθενείς με αιμορραγία πεπτικού αδιευκρίνιστης αιτιολογίας που υποβάλλονται σε εντεροσκόπηση με κάψουλα»**

«Ανταποκρίση και ασφαλεία του βιοϊσοδυναμίου ct-p13 σε ελληνες ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (ιφνε): προοπτική μονοκεντρική μελέτη» Έγινε δεκτή και θα παρουσιασθεί ως Προφορική Ανακοίνωση με

κωδικό ΠΑ04, στη θεματική ενότητα «ΙΦΝΕ-Κατώτερο Πεπτικό».
.38ο PANEΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΑΣ ΑΘΗΝΑ

25η Διεθνής Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτιδών Β & C «Στ. Χατζηγιάννης». Αθήνα
(26-28/01/2018) - **Οξεία ηπατιτίδα σε μεγάλο δημοσιο νοσοκομείο:
επιδημιολογικά δεδομένα-αιτιολογικοί παράγοντες**

Αναρτημένες ανακοινώσεις (Posters)

**Αιμορραγία πεπτικού από ραγέν ψευδοανευρύσμα σπληνικής αρτηρίας 4-6
Δεκεμβρίου 2014 (Αθήνα): 34^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας**

**Αιμορραγία ανώτερου πεπτικού μη κίρσινης αιτιολογίας (ααμκκ) σε
κεντρικό νοσοκομείο ειδικού σκοπού: αναδρομική μελέτη τελευταίας 5-
ετίας 4-6 Δεκεμβρίου 2014 (Αθήνα): 34^ο Πανελλήνιο Συνέδριο
Γαστρεντερολογίας**

**Πρωτοπαθές γαστρικό λεμφώμα με διαχυτή διήθηση βλεννογονού
στομάχου 27-29 Νοεμβρίου 2014 (Θεσσαλονίκη): 25^ο Ιατρικό Συνέδριο
Ενόπλων Δυνάμεων**

**Ruptured pseudoaneurysm of the splenic artery: a rare severe upper
gastrointestinal bleeding ESGE / ESGAR / EAES Quality in Endoscopy: GI
Bleeding symposium November 28 - 29, 2014 - Berlin**

**Πρόσθια Οζώδης Σκληριτίδα Σε Ασθενή Με Crohn Κολίτιδα Υπο Θεραπεία
Με Anti-TNF Παράγοντα (Infliximab) 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών
Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου, 14-16 Ιουνίου 2013, Βόλος**

**Small bowel capsule endoscopy in elderly patients is feasible, safe and has a
high diagnostic yield Hellenic-Israeli Gastroenterology Meeting, 30 April - 02
May 2015, Ηράκλειο, Κρήτη**

Δημοσίευση εργασίας περιοδικό *Helicobacter* Volume 20, Supplement 1, September 2015, ISSN 1083-4389, Abstract no.:W6.5 με τίτλο «**Prevalence of helicobacter pylori infection in crohn's disease**»

Ποσοστό προσβολής και προγνωστικοί παράγοντες συμμετοχής του λεπτού εντέρου σε ασθενείς με νόσο Crohn που υποβάλλονται σε εντεροσκόπηση με κάψουλα 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου, 5-7 Ιουνίου 2015, Ερέτρια

Βαρεία αιμορραγική και ελκωτική γαστρίτιδα είναι η αιτία εντόνων επιγαστρικών ενοχλημάτων σε ασθενείς με επιγαστρική δυσανεξία στην αζαθειπρίνη. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου, 5-7 Ιουνίου 2015, Ερέτρια

Τι γνωρίζουν οι γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας για τις σχέσεις ΙΦΝΕ με αναπαραγωγή (Γονιμότητα, Στεριότητα, Κύηση , κ.α.) 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου, 5-7 Ιουνίου 2015, Ερέτρια 35^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 09-11 Οκτωβρίου 2015, Καλαμάτα

Σε ασθενείς με νόσο Crohn, χρειάζεται θεραπεία συντήρησης με πλήρη δόση αζαθειοπρίνης μετά από 2 έτη βαθειάς ύφεσης; 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου, 5-7 Ιουνίου 2015, Ερέτρια

Επίπτωση της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος σε ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου που λαμβάνουν θεραπεία με anti-TNF. 35^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 09-11 Οκτωβρίου 2015, Καλαμάτα

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) με θέμα: **AA87 Επίπτωση της λοίμωξης από Helicobacter Pylori στη νόσο του Crohn-** 35^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 09-11 Οκτωβρίου 2015, Καλαμάτα

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 35^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας στην Καλαμάτα 8-11 Οκτωβρίου 2015 με θέμα:

AA71 Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της κάψουλας του παχέος εντέρου στην ανίχνευση πολυπόδων

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο UEG Week 2016 15-19/10/2016 στη Βιέννη με θέμα P1087 : **« Crohn's Disease Diagnosed By Chance In Patients Subjected To Capsule Endoscopy For The Investigation Of Obscure Gastrointestinal Bleeding»**

Αναρτημένη ανακοίνωση στο 11th Congress of ECCO Amsterdam March 16-19 2016 με θέμα: P234 **The diagnostic yield of small bowel capsule endoscopy in postsurgical Crohn's Disease**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο Gastro 2016 : EGHS-WGO International Congress 17-19/11/2016 στο Abu Dabi, UAE με θέμα : **«Crohn's Disease Diagnosed By Chance In Patients Subjected To Capsule Endoscopy For The Investigation Of Obscure Gastrointestinal Bleeding»**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου στα Ιωάννινα (3-5/06/2016) με θέμα: ePP06 **Η διαγνωστική αξία της ενδοσκοπησης με ασύρματη κάψουλα λεπτού εντέρου στη μετεγχειρητική νόσο Crohn**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας στην Αθήνα 24-27/11/2016 με θέμα eP102 : **« Ευρήματα συμβατά με νόσο Crohn που ανευρίσκονται τυχαία σε ασθενείς που υποβάλλονται σε εντεροσκόπηση με κάψουλα για αιμορραγία πεπτικού αδιευκρίνιστης αιτιολογίας»**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου στα Ιωάννινα (3-5/06/2016) με θέμα: ePP07 **Ευρήματα συμβατά με νόσο Crohn που ανευρίσκονται τυχαία σε ασθενείς που υποβάλλονται σε εντεροσκόπηση με κάψουλα για αιμορραγία πεπτικού αδιευκρίνιστης αιτιολογίας**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ, 9-11 Ιουνίου 2017 με θέμα ΕΡρ09 : **« Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του Golimumab στη θεραπεία της χρόνιας ανθεκτικής ληκοθιτίδας : πιλοτική μελέτη»**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ, 9-11 Ιουνίου 2017 με θέμα ΕΡ05 : **«Πρόσφατα δεδομένα επίπτωσης της λοίμωξης από Clostridium Difficile»**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 16ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ, 9-11 Ιουνίου 2017 με θέμα ΕΡ24 : **«Ανάγκη για κολεκτομή σε ασθενείς με οξεία βαριά ελκώδη κολίτιδα την εποχή των βιολογικών παραγόντων: η εμπειρία ενός τριτοβάθμιου κέντρου αναφοράς»**

37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Οκτώβριος 2017 Θεσσαλονίκη - **Video παρουσίαση Clip and cut.V06**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Οκτώβριος 2017- **Πρόδρομη επιδημιολογική μελέτη καταγραφής επειγουσών αιμορραγιών ανώτερου πεπτικού συστήματος σε τριτοβάθμιο κέντρο. P113.**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Οκτώβριος 2017- **Ανάγκη για κολεκτομή σε ασθενείς με οξεία βαριά ελκώδη κολίτιδα την εποχή των βιολογικών παραγόντων: Η εμπειρία ενός τριτοβάθμιου κέντρου αναφοράς. P043.**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Οκτώβριος 2017- **Βλάβες που ανευρίσκονται στο τυφλό κατά την διάρκεια εντεροσκόπησης με κάψουλα σε ασθενείς με αιμορραγία πεπτικού αδιευκρίνιστης αιτιολογίας. P091.**

Ηλεκτρονικά αναρτημένη ανακοίνωση (e-poster) στο 37^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας Οκτώβριος 2017 - **Παράγοντες που σχετίζονται με μη ολοκλήρωση της εντροσκόπησης με κάψουλα. P093.**

17ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ Θεσσαλονίκη 18-20/05/2018 **Η διαγνωστική ακριβεία της καψούλας λεπτού εντέρου στη μετεγχειρητική νόσο του Crohn** ep5

17ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ Θεσσαλονίκη 18-20/05/2018b **Η αποτελεσματικότητα του vedolizumab στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπαθείς ανθεκτικές σε anti-tnfa.** Ep10

17ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ Θεσσαλονίκη 18-20/05/2018 - **Πως μπορούμε να αποφύγουμε και πως να αντιμετωπίσουμε την παραμονή της καψούλας του λεπτού εντέρου στο γαστρεντερικό σωλήνα σε ασθενείς με νόσο Crohn.** EP6. (1^ο Βραβείο Καλύτερης Ηλεκτρονικά Αναρτημένης Ανακοίνωσης)

16ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο 04-06/05/2018. Αθήνα - **οξεία ηπατίτιδα σε μεγάλο δημοσιο νοσοκομείο: επιδημιολογικά δεδομένα-αιτιολογικοί παράγοντες.** ePP15

16ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο 04-06/05/2018. Αθήνα- **Αυξημένη συχνότητα κρουσμάτων οξείας ηπατίτιδας α:επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά.** ePP23.

ESGE Days 2018 oral presentation, 1stESGE Days Budapest 19-21 April 2018 **Factors predicting incomplete small bowel capsule endoscopy.**OP042.

18ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ Αργολίδα 30 Μαΐου-2 Ιουνίου 2019 **EPP7 Αποτελεσματικότητα του infliximab μετά την αποτυχία των υποδοριών anti-tnf παραγόντων σε ασθενείς με μετρία - βαρία ελκώδη κολίτιδα**

18ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΙΦΝΕ Αργολίδα 30 Μαΐου-2 Ιουνίου 2019 **EPP44 Απωτερή κατάσταση υγείας παιδιών που γεννήθηκαν από μητέρες με ιδιοπαθή φλεγμονώδη εντεροπάθεια (ΙΦΝΕ) υπό θεραπεία με αντι-TNFα παράγοντες κατά τη διάρκεια της κύησης**

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά, Επίπεδο C2, (Certificate of Proficiency in English, Univ. of Michigan)

Γαλλικά, Επίπεδο A2, (Diplôme d'études en langue française, DELF A2)

ΓΝΩΣΕΙΣ Η/Υ

Άριστη χρήση και γνώση Η/Υ

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ/ ΣΥΛΛΟΓΟΥΣ

General Medical Council reference number: 7547115 (May 2016-σήμερα)

ESGE Individual Trainee Membership (Jan 2016- σήμερα, Member ID: 11704)

Υ-ECCO Membership 2017 (Jan 201-σήμερα, Member ID: 40573)

International Bowel Ultrasound Group (May 2018-σήμερα)

Member of the European Society of Digestive Oncology (June 2017-σήμερα)

Medical professional license (date: 21.10.2009, reg. no: 11689)

Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών (2012-σήμερα, Αρ: 075275)

Δόκιμο μέλος Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρίας (<http://www.hsg.gr>)

Δόκιμο μέλος Ελληνικού Ιδρύματος Γαστρεντερολογίας και Διατροφής (<http://www.eligast.gr>)

Τακτικό μέλος της Ελληνικής Ομάδας Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων Εντέρου του ισότοπου (<http://www.eomifne.gr/>)

Τακτικό μέλος της Ελληνικής εταιρίας Κλινικής Διατροφής και Μεταβολισμού
(<http://www.grespen.org>)

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ

Αθλητισμός: δισ μαραθωνιοδρόμος, ενασχόληση με ποδόσφαιρο, μπάσκετ και πολεμικές τέχνες

Ενασχόληση με χορό (μοντέρνος και παραδοσιακός)

Προσωπική ενασχόληση με θέματα διατροφής, άσκησης, μεταβολισμού και διατροφικής αξίας τροφίμων

Ενασχόληση με μουσική: αυτοδίδακτη εκμάθηση βιολιού και θεωρίας μουσικής