

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»**

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ  
ΑΔΕΝΟΚΥΣΤΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ  
ΚΕΦΑΛΗΣ ΚΑΙ ΤΡΑΧΗΛΟΥ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΠΑΝΤΑΖΟΠΟΥΛΟΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ**

**ΙΑΤΡΟΣ ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2023**

## **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**Δελίδης Αλέξανδρος**                      **Αναπληρωτής Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Δελίδης Αλέξανδρος**                      **Αναπληρωτής Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Γιωτάκης Ιωάννης**                      **Ομότιμος Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Μαραγκουδάκης Παύλος**              **Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Δελίδης Αλέξανδρος**                      **Αναπληρωτής Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Γιωτάκης Ιωάννης**                      **Ομότιμος Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Μαραγκουδάκης Παύλος**              **Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Νικολόπουλος Θωμάς**                      **Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Παναγιωτίδης Ιωάννης**                  **Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής**

**Ψυρρή Αμάντα**                              **Καθηγήτρια Παθολογίας Ογκολογίας**

**Βλασταράκος Πέτρος**                      **Επίκουρος Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας**

**Η Διατριβή εκρίθη ομόφωνα με το βαθμό «Άριστα».**

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**    **29/05/2017**

**Ημερομηνία κατάθεσης θέματος Διδακτορικής Διατριβής:**      **08/12/2017**

**Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής:**                      **01/11/2023**

**Ημερομηνία παρουσίασης Διδακτορικής Διατριβής:**                      **14/12/2023**

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

- Ηλεκτρονική διεύθυνση: theorantazo@gmail.com
- Ημερομηνία γέννησης: 13 Ιουλίου 1981
- Τόπος γέννησης: Αμαρούσιο Αττικής

### ΣΠΟΥΔΕΣ

- 28/09/2009: Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ρώμης «La Sapienza»  
Παρουσίαση Διπλωματικής Εργασίας με θέμα: «Αλλεργική ρινίτιδα στην παιδική ηλικία»

### ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

- 06/2010 - 01/2011: Εκπλήρωση στρατιωτικών υποχρεώσεων με την ειδικότητα του Ιατρού Στρατιωτικής Μονάδας
- 06/2011 - 01/2012: Ιατρός υπηρεσίας υπαίθρου στο Κέντρο Υγείας Αγίας Φωτεινής και στο Περιφερειακό Ιατρείο Φουρφουρά, νομού Ρεθύμνου
- 02/2012 - 10/2013: Ειδικευόμενος ιατρός στη Χειρουργική Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Πύργου Ηλείας
- 04/2014 - 09/2015: Ειδικευόμενος ιατρός στην ΩΡΛ Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία»
- 09/2015 - 08/2018: Ειδικευόμενος ιατρός στην ΩΡΛ Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν»
- 12/07/2018: απόκτηση του τίτλου ειδικότητας της Ωτορινολαρυγγολογίας
- 10/2018 - 03/2019: Επιμελητής στην ΩΡΛ Κλινική Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου του Νοσοκομείου Metropolitan General
- 03/2019 - σήμερα: Επικουρικός Επιμελητής Β' στην ΩΡΛ Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία»

### ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

- 17/02/2022: Απόκτηση διδρυματικού διπλώματος μεταπτυχιακών σπουδών στις παθήσεις ρινός, βάσης κρανίου και προσωπικής χώρας από το Πανεπιστήμιο Πατρών σε συνεργασία με το Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

- Παρουσίαση Διπλωματικής Εργασίας με θέμα: «Επίπτωση της χρόνιας ρινοκολπίτιδας στην ποιότητα ζωής των ασθενών με κυστική ίνωση»

### **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ**

- Δημοσίευση στο περιοδικό «Ελληνική Ωτορινολαρυγγολογία» (Τόμος 37, Τεύχος 3, σελ. 160-164, 2016): «Αντιμετώπιση της λαρυγγομαλακίας με υπεργλωττιδοπλαστική». Μανιτσοπούλου Μ, Πανταζόπουλος Θ, Βαγής Ι, Αθανασόπουλος Ι, Παρπούνας Κ.
- Chalkiadakis, Vasilios & Stamataki, Sofia & Pantazopoulos, Theodoros. (2022). A Delayed Diagnosis of a Retropharyngeal Abscess in a 38-day-old Neonate: A Case Report and Review of the Literature. An International Journal of Otorhinolaryngology Clinics. 13. 129-132. 10.5005/jp-journals-10003-1395.
- Pantazopoulos T, Leventakou D, Koufopoulos N, et al. Significance of MYB and NTRK Expression in Head and Neck Adenoid Cystic Carcinoma. Anticancer Res. 2023;43(4):1709-1717. doi:10.21873/anticancerres.16323.

### **ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

- Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής (Απρίλιος 2013): Ρήξη λεπτού εντέρου ως όψιμη επιπλοκή τοποθέτησης πλέγματος πολυπροπυλενίου: μία σπάνια περίπτωση οξείας κοιλίας
- Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής (Απρίλιος 2013): Διάχυτο μεγαλοκυτταρικό Β-Λέμφωμα λεπτού εντέρου ως σπάνια αιτία αιματοχεσίας σε υπερήλικα ασθενή
- Προφορική ανακοίνωση στο 18ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Οκτώβριος 2015): Αντιμετώπιση της λαρυγγομαλακίας με υπεργλωττιδοπλαστική
- Προφορική ανακοίνωση στο 18ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Οκτώβριος 2015): Διαστολές με μπαλονάκι σε παιδιά με υπογλωττιδική ουλώδη στένωση του λάρυγγα
- Ομιλία στο 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρκίνου Κεφαλής και Τραχήλου (Οκτώβριος 2017): Καρκίνος στοματοφάρυγγα HPV (+) παρουσίαση περιστατικού

- Προφορική ανακοίνωση στο 19ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Νοέμβριος 2017): Αδενοκυστικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου
- Προφορική ανακοίνωση στο 19ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Νοέμβριος 2017): HPV θετικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου
- Προφορική ανακοίνωση στο 19ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Νοέμβριος 2017): Αδενοκαρκινώματα σιελογόνων αδένων
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 27ο Συνέδριο της Ευρωπαϊκής Ριнологικής Εταιρείας (Απρίλιος 2018): Αδενοκυστικό καρκίνωμα ρινός και παραρρινίων- αναδρομική μελέτη
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 24ο Μετεκπαιδευτικό Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας (Οκτώβριος 2018): Κληρονομικό χολοστεάτωμα
- Εκπαιδευτής σε κλινικό φροντιστήριο “ Ενδοσκοπικός έλεγχος κατάποσης” στο 19ο σεμινάριο της Ελληνικής Ριнологικής Εταιρείας – Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Απρίλιος 2019)
- Προφορική ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Οκτώβριος 2019): Υπενθύμιση μερικών επιπλοκών οξείας μέσης ωτίτιδας
- Προφορική ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Οκτώβριος 2019): Αντιμετώπιση υπογλωττιδικής στένωσης σε παιδιατρικούς ασθενείς μέσω διαστολών με μπαλόνι. Παρουσίαση περιστατικών
- Προφορική ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Οκτώβριος 2019): Αντιμετώπιση υπογλωττιδικής στένωσης σε παιδιατρικούς ασθενείς μέσω διαστολών με μπαλόνι. Παρουσίαση περιστατικών.
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 17ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων (Νοέμβριος 2021): Παρουσία διηθητικού θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς αδένος σε παιδιατρικό ασθενή
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παιδιατρικής Ωτορινολαρυγγολογίας (Νοέμβριος 2021): Complications of acute otitis media in a tertiary referral children’s hospital

- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Ο ρόλος του λεμφαδενικού καθαρισμού σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Επείγουσα ΩΡΛ στην ΠΦΥ και ο αντίκτυπος της πανδημίας του κορωνοϊού
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Αξιολόγηση των ενδοσκοπικών ευρημάτων για τη διερεύνηση της χρόνιας ρινοκολπίτιδας σε ασθενείς με κυστική ίνωση
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Πλαστική βρογχίτιδα: μία σπάνια αιτία απόφραξης του αεραγωγού στα παιδιά
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Διαχείριση ασθενούς με σύνδρομο Beckwith-Wiedemann. Διασφάλιση του αεραγωγού και αποκατάσταση μακρογλωσσίας
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Προτεινόμενο πρωτόκολλο αποσωλήνωσης τραχειοστομίας στον παιδιατρικό πληθυσμό
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας-Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2022): Λέμφωμα Burkitt ρινοφάρυγγα σε παιδιατρικό ασθενή. Παρουσίαση ενδιαφέροντος περιστατικού
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτολογίας, Ακοολογίας, Νευρωτολογίας (Μάιος 2022): LOXHD1: Μία σπάνια περίπτωση προοδευτικής βαρηκοΐας
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτολογίας, Ακοολογίας, Νευρωτολογίας (Μάιος 2022): Η γενετική στην ακοολογία
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτολογίας, Ακοολογίας, Νευρωτολογίας (Μάιος 2022): Χορήγηση μελατονίνης σε ακοολογικό έλεγχο σε παιδιά
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτολογίας, Ακοολογίας, Νευρωτολογίας (Μάιος 2022): Λαβυρινθίτιδα σε παιδί με οξεία μέση ωτίτιδα: παρουσίαση περιστατικού

- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτολογίας, Ακοολογίας, Νευροωτολογίας (Μάιος 2022): Παρουσία πνευμολαβυρίνθου μετά από κάταγμα κροταφικού οστού σε παιδιατρικό ασθενή
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας και Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Νοέμβριος 2022): Διάτρηση ρινικού διαφράγματος από δισκοειδή μπαταρία
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας και Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Νοέμβριος 2022): Συγγενής ανοσμία: παρουσίαση περιστατικού
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας και Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Νοέμβριος 2022): Διηθητική μυκητίαση ρινός και παραρρινίων σε αιματολογικούς παιδιατρικούς ασθενείς
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας και Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Νοέμβριος 2022): Έκτοπος οδόντας, ένα σπάνιο καλοήθες μόρφωμα ρινικής θαλάμης
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας και Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Νοέμβριος 2022): Προτεινόμενο πρωτόκολλο κλινικής εξέτασης παιδιατρικών ασθενών με κυστική ίνωση και εκτίμησης της επίπτωσης της νόσου στην ποιότητα της ζωής τους
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας και Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (Νοέμβριος 2022): Αντιμετώπιση ξένου σώματος της ρινικής κοιλότητας σε παιδιατρικό ασθενή με επιβεβαιωμένη λοίμωξη από COVID-19
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παιδιατρικής Ωτορινολαρυγγολογίας (Μάιος 2023): The presence of chronic rhinosinusitis in patients with cystic fibrosis and how this can affect their quality of life
- Αναρτημένη ανακοίνωση στο Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παιδιατρικής Ωτορινολαρυγγολογίας (Μάιος 2023): Intranasal corticosteroids as a medical treatment for chronic rhinosinusitis in patients with cystic fibrosis

#### **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΒΙΒΛΙΩΝ**

- Συμμετοχή σε συγγραφή κεφαλαίων στο βιβλίο με τίτλο: «Εντατική θεραπεία και επείγουσα ιατρική: οξείες και επείγουσες καταστάσεις»

## **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ -**

### **ΠΟΛΥΚΕΝΤΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ**

- Συμμετοχή σε μελέτη με τίτλο: «Συμβολή στη μελέτη του αδενοκυστικού καρκινώματος κεφαλής και τραχήλου», στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής (ΩΡΛ, ΕΒΔ2896/14-12-2017)
- Συμμετοχή σε μελέτη με τίτλο: «Επίπτωση της χρόνιας ρινοκολπίτιδας σε παιδιά με κυστική ίνωση» (Αρ.πρωτ. 25147/18.11.2020)

### **ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ**

- 21ο μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο της Πανελλήνιας εταιρείας Ωτορινολαρυγγολογίας- Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (19- 21 Οκτωβρίου 2012)
- 7ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής (25- 27 Απριλίου 2013)
- Εαρινή Δημερίδα της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων (8- 9 Μαρτίου 2014)
- 14ο Πανελλήνιο Σεμινάριο Ριнологίας (4- 6 Απριλίου 2014)
- Σεμινάριο «Ιδιαίτερα ΩΡΛ Προβλήματα στα παιδιά» (12 Δεκεμβρίου 2015)
- Επιστημονική Ημερίδα της Ωτορινολαρυγγολογικής Εταιρείας ΧΚΤ Αθηνών (16 Ιανουαρίου 2016)
- 19ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (2- 5 Νοεμβρίου 2017)
- 19ο Σεμινάριο της Ελληνικής Ριнологικής Εταιρείας- Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (11- 14 Απριλίου 2019)
- 12ο Ετήσιο Παιδιατρικό Συνέδριο «Η Παιδιατρική στην πράξη» (28 Σεπτεμβρίου 2019)
- 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας- Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου ( 24- 27 Οκτωβρίου 2019)
- 2η Επιστημονική Δημερίδα του Ριнологικού Κέντρου Αθηνών «Ρινίτιδα – Άσθμα - Αλλεργία» ( 22 & 23 Νοεμβρίου 2019)
- Επιστημονική Ημερίδα Ωτορινολαρυγγολογικής Εταιρείας ΧΚΤ Αθηνών (8 Φεβρουαρίου 2020)
- Διαδικτυακή Δημερίδα Ελληνικής Εταιρείας Ψηφιακής Ιατρικής (20- 21 Νοεμβρίου 2020)



- 6th Symposium on Advances in Cancer Immunology and Immunotherapy (3-5 Δεκεμβρίου 2020)
- Ημερίδα ενημέρωσης σχετικά με τα οφέλη της ανοσοθεραπείας και της στοχευμένης θεραπείας στον καρκίνο / το μεταβαλλόμενο τοπίο (12 Δεκεμβρίου 2020)
- Σεμινάριο παιδο-ακοολογίας της Πανελλήνιας Παιδο-Ωτορινολαρυγγολογικής Εταιρίας (3 Μαρτίου 2021)
- 17ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Παιδιατρικής «Ημέρες Παιδιατρικής Ενημέρωσης (6-7 Μαρτίου 2021)
- Διαδικτυακή Δημερίδα Ελληνικής Εταιρίας Ψηφιακής Ιατρικής (7-8 Μαΐου 2021)
- 41ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Παιδιατρικής (5-7 Νοεμβρίου 2021)
- Διαδικτυακή Δημερίδα Ελληνικής Εταιρίας Ψηφιακής Ιατρικής (19-20 Νοεμβρίου 2021)
- 17ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ενδοκρινών Αδένων (19-21 Νοεμβρίου 2021)
- Management of haematoma after thyroid surgery – Webinar (25 Νοεμβρίου 2021)
- 5th Annual Meeting on Cancer Biology and New Molecules in Cancer Therapeutics (25-27 Νοεμβρίου 2021)
- Masterclass of Sarcoma and Rare Cancers (26- 27 Νοεμβρίου 2021)
- 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ογκολογικής Απεικόνισης (17-19 Δεκεμβρίου 2021)
- 1η Επιστημονική εκδήλωση της Ελληνικής Εταιρίας Αναπτυξιακών Παιδιάτρων (18-19 Δεκεμβρίου 2021)
- 18ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Παιδιατρικής «Ημέρες Παιδιατρικής Ενημέρωσης» (12-13 Μαρτίου 2022)
- 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας, Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (17-20 Μαρτίου 2022)
- 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτολογίας, Ακοολογίας, Νευρωτολογίας (13-15 Μαΐου 2022)
- 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ριнологίας- Πλαστικής Χειρουργικής Προσώπου (18-20 Νοεμβρίου 2022)
- 12ο Συνέδριο Σακχαρώδη Διαβήτη, Παχυσαρκίας, Μεταβολισμού και Νοσημάτων Ενδοκρινών Αδένων (25-27 Νοεμβρίου 2022)
- Ημερίδες Μεταβολισμού με θέμα: «Από την τεκμηριωμένη γνώση στην ορθή κλινική πράξη» (17 Δεκεμβρίου 2022)
- Συνέδριο Καρκίνου Κεφαλής και Τραχήλου (16-17 Δεκεμβρίου 2022)

- Διημερίδα «Γενετικές Εγκεφαλοπάθειες» (21-22 Ιανουαρίου 2023)
- 4η Ημερίδα Κυστικής Ύψωσης (18 Μαρτίου 2023)

#### **ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΠΡΑΚΤΙΚΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ (COURSE)**

- Πρακτική άσκηση σιαλενδοσκόπησης (6-7 Ιουνίου 2014)
- Πρακτική άσκηση εκσκαφής κροταφικού οστού (4-6 Φεβρουαρίου 2016), Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»
- Πρακτική άσκηση ενδοσκοπικής χειρουργικής ρινός και παραρρινίων (13-14 Οκτωβρίου 2016), Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»
- Πρακτική άσκηση εκσκαφής κροταφικού οστού (25-27 Σεπτεμβρίου 2017), Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»
- Πρακτική άσκηση εκσκαφής κροταφικού οστού (6-8 Ιουνίου 2022), Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός»



## ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ ΟΡΚΟΣ



ΘΜΗΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΩΝ, ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ,  
ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΞΕΤΟΥΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ  
ΚΑΤΩ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΩΝ ΤΩΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ.  
ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΩΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΞΑ ΓΕΜΕΤΗΡΕΙΝ  
ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΙΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΣΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ,  
ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΣ ΟΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΪΣ ΞΙΩΝ ΕΠΙΚΡΗΝΕΙΝ ΘΡΩΣΤΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΚΕΙΝ  
ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΣΙΖΕΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΩΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ,  
ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΚΡΩΣΙΔΙΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΟΠΑΙΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ  
ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΥΪΟΪΣ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΪΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΪΣΙ  
ΣΥΓΓΡΑΜΜΕΝΟΪΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΪΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΘΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΕ,  
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΙΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΩ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ  
ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΙ ΔΕ ΚΑΙ ΘΑΙΚΗ ΕΪΡΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ  
ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΟΥΔΕΝΙ ΛΗΘΕΪΣ ΘΑΝΑΣΙΜΩΝ, ΟΥΔΕ ΨΗΓΗΣΙΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ  
ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΪΣΩΝ ΦΘΩΡΙΩΝ ΔΩΣΩ. ΞΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ  
ΟΪΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΩΝ ΤΩΝ ΕΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ  
ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΚΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΡΙΩΝ ΑΝΔΡΑΪ ΠΡΗΣΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ  
ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΩΝ ΕΪΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΙΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ  
ΕΩΝ ΠΑΪΣ ΘΑΙΚΗΣ ΕΚΟΥΪΣ ΚΑΙ ΦΘΩΡΙΣ, ΤΗΣ ΤΕ ΘΛΗΣ ΚΑΙ ΘΦΩΔΙΣΙΩΝ  
ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΪΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ  
ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΩΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ Η ΪΩ, Η ΟΚΟΥΪΩ, Η ΚΑΙ ΩΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΪΣ  
ΚΑΤΩ ΒΙΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Ω ΜΗ ΚΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΪΣΘΑΙ ΞΩ, ΣΙΓΗΣΙΜΑΙ  
ΘΡΩΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΪΝΑΙ ΤΟ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΩΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΩΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ  
ΠΟΙΕΩΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΚΩΝΤΙ, ΕΪΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ  
ΔΩΣΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΪΣ ΕΣ ΤΩΝ ΑΪΩ ΧΡΩΝΩΝ. ΠΑΡΑΒΑΙΝΩΝΤΙ ΔΕ  
ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΩΝΤΙ, ΤΩΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΩΝ.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο καρκίνος περιλαμβάνει μία περίπλοκη ομάδα ασθενειών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για περισσότερους από δέκα εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως κάθε έτος. Περισσότερα από ογδόντα έτη από την πρώτη χρήση της χημειοθεραπείας για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ενός κακοήθους νεοπλασματος, ο καρκίνος συνεχίζει να πλήττει τον άνθρωπο, αποτελώντας τη δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου.

Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τα οποία έχουν καταφέρει να διαφύγουν από τους κεντρικούς ενδογενείς μηχανισμούς ελέγχου. Οι καρκίνοι ομαδοποιούνται σύμφωνα με το όργανο της πρωτοπαθούς εντόπισης, ωστόσο όλο και περισσότερο η ομαδοποίησή τους βασίζεται στα μοριακά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων. Λόγω της τεχνολογικής προόδου των τελευταίων ετών, είναι τώρα δυνατή η ανάλυση των μοριακών χαρακτηριστικών διαφορετικών καρκινικών τύπων με λεπτομέρεια. Η συσσωρευμένη γνώση σχετικά με την ανάπτυξη και εξάπλωση του καρκίνου μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη ανάπτυξη ακριβέστερων διαγνωστικών μεθόδων και αποτελεσματικότερων και λιγότερο τοξικών θεραπειών. Μακροπρόθεσμα, ο στόχος είναι να προσφέρουμε σε κάθε ασθενή με καρκίνο ένα εξατομικευμένο θεραπευτικό σχήμα, το οποίο είναι προσαρμοσμένο με τον καλύτερο δυνατό τρόπο στη νόσο του κάθε ασθενή.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελεί η διερεύνηση των μοριακών χαρακτηριστικών του αδενοκυστικού καρκινώματος στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου. Με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας αλλά και μοριακών μεθόδων, αναζητήθηκαν χρωμοσωμικές μεταλλάξεις σε γονίδια, που είχαν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ογκογονιδίων, αλλά και αλλαγές στην έκφραση πρωτεϊνών. Παράλληλα καταγράφηκε λεπτομερώς η κλινική πορεία των ασθενών. Τα ευρήματα της μελέτης συσχετίστηκαν. Αποσαφηνίζοντας τη μοριακή βάση του αδενοκυστικού καρκινώματος, θα καταστεί δυνατή η ανακάλυψη νέων προγνωστικών παραγόντων, αλλά και η ανάπτυξη καινοτόμων στοχευμένων θεραπειών.

Η συγκεκριμένη μελέτη έχει δημοσιευτεί στο περιοδικό «Anticancer research» με τίτλο «Significance of MYB and NTRK Expression in Head and Neck Adenoid Cystic Carcinoma». Pantazopoulos, T., Leventakou, D., Koufopoulos, N., Pouliakis, A., Economopoulou, P., Glava, C., Tzardi, M., Kafiri, G., Kittas, C., Korkolopoulou, P.,

Arapantoni-Dadioti, P., Sotiriou, H., Filippidis, T., Maragoudakis, P., Giotakis, I., Panayiotides, I. G., Psyrris, A., Delides, A. *Anticancer research* 2023; 43(4), 1709–1717.

Επίσης, μέρος της μελέτης παρουσιάστηκε στο 19ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας- Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Νοέμβριος 2017) με τίτλο: «Αδενοκυστικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου», στο 27ο Συνέδριο της Ευρωπαϊκής Ριнологικής Εταιρείας (Απρίλιος 2018) με τίτλο: «Adenoid cystic carcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses: a retrospective study», και στο 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ωτορινολαρυγγολογίας- Χειρουργικής Κεφαλής και Τραχήλου (Μάρτιος 2022) με τίτλο: «Ο ρόλος του λεμφαδενικού καθαρισμού σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου».

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον κ. Δελίδη Αλέξανδρο, Αναπληρωτή Καθηγητή Ωτορινολαρυγγολογίας του ΕΚΠΑ, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναλαμβάνοντας την επίβλεψη της συγκεκριμένης διδακτορικής διατριβής. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για όλες τις πολύτιμες υποδείξεις και συμβουλές του, καθώς για τις γνώσεις που αποκόμισα από εκείνον καθ' όλη την διάρκεια της συγγραφής της διατριβής αυτής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον κ. Γιωτάκη Ιωάννη, Ομότιμο Καθηγητή Ωτορινολαρυγγολογίας του ΕΚΠΑ, ο οποίος είχε και την αρχική ιδέα για τη διατριβή. Ήταν πάντοτε κοντά μου σε όλη αυτή τη διαδρομή. Οι συμβουλές του υπήρξαν καθοριστικές, ώστε να προχωρήσει και να ολοκληρωθεί αυτή η διδακτορική διατριβή.

Ευχαριστώ, επίσης, τον κ. Μαραγκουδάκη Παύλο, Καθηγητή Ωτορινολαρυγγολογίας του ΕΚΠΑ, για το ειλικρινές του ενδιαφέρον και τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσε σε όλη την διαδρομή της μελέτης αυτής.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον κ. Παναγιωτίδη Ιωάννη, Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής του ΕΚΠΑ και Διευθυντή του Β' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, του οποίου η συμβολή στην υλοποίηση της διδακτορικής διατριβής ήταν καθοριστική. Διηύθυνε όλα τα στάδια της μελέτης με αξιοσημείωτη αποτελεσματικότητα. Στο Εργαστήριο που διευθύνει διενεργήθηκε ο πλήρης παθολογοανατομικός έλεγχος των παρασκευασμάτων. Η καθοδήγησή του στο σχεδιασμό, στη συλλογή του υλικού κατόπιν επικοινωνίας του με συνάδερφους παθολογοανατόμους, στην υλοποίηση και στην παρουσίαση της μελέτης ήταν συνεχής και ανεκτίμητη. Χωρίς την πολύτιμη καθοδήγησή του δε θα ήταν δυνατή η διεξαγωγή της μελέτης αυτής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Ψυρρή Αμάντα, Καθηγήτρια Παθολογίας Ογκολογίας του ΕΚΠΑ, για τη συνεισφορά της και την έμπρακτη στήριξή της για την πρόοδο και ολοκλήρωση της μελέτης.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους από το Β' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, τον κ. Κουφόπουλο Νεκτάριο, την κα Λεβεντάκου Δανάη και τον κ. Πουλιάκη Αβραάμ, καθώς και όλο το προσωπικό του τμήματος, για την άριστη συνεργασία που είχαμε σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Η προσπάθεια που κατέβαλαν ήταν αξιοσημείωτη και τους ευχαριστώ ιδιαίτερα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Κίττα Χρήστο, την Καθηγήτρια κα Κορκολοπούλου Πηνελόπη, την Καθηγήτρια κα Τζαρδή Μαρία, τον κ. Σαμαρά Βασίλειο, την κα Καφίρη Γεωργία, την κα Αραπαντώνη-Δαδιώτη Πετρούλα, την κα Σωτηρίου Ελένη και τον κ. Φιλιππίδη Θεόδωρο για τη συμβολή τους στη μελέτη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη στήριξη και ενθάρρυνση σε όλη την πορεία αυτής της διδακτορικής διατριβής.

Στην οικογένειά μου για τη στήριξη σε αυτό το «ταξίδι»

Στη μνήμη του πατέρα μου



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	12
<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	14
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	19
<b>ABSTRACT</b> .....	21
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	23
<b>1. Εμβρυολογία</b> .....	24
<b>2. Ιστολογία</b> .....	29
<b>3. Ανατομία</b> .....	32
3.1. Παρωτίδα.....	32
3.2. Υπογνάθιος αδένας.....	36
3.3. Υπογλώσσιος αδένας.....	37
3.4. Ελάσσονες σιελογόνοι αδένες.....	39
<b>4. Φυσιολογία</b> .....	40
<b>5. Βιολογία του καρκίνου</b> .....	44
<b>6. Αδενοκυστικό καρκίνωμα</b> .....	46
6.1. Εισαγωγικά στοιχεία.....	46
6.2. Επιδημιολογία.....	48
6.3. Κλινική συμπτωματολογία .....	49
6.4. Διαγνωστική προσέγγιση.....	50
6.5. Παθολογική ανατομική.....	53
6.6. Θεραπευτική αντιμετώπιση .....	57
6.7. Πρόγνωση .....	61
6.8. Αδενοκυστικό καρκίνωμα ρινός και παραρρινίων κόλπων.....	64
6.9. Περινευρική διήθηση.....	66
6.10. Λεμφαδενικές μεταστάσεις .....	70
6.11. Αιματογενείς μεταστάσεις.....	74
6.12. Ανοσοϊστοχημεία .....	77
6.13. Μέθοδος FISH.....	79

6.14. MYB.....	81
6.15. NTRK.....	86
6.16. HER-2.....	89
6.17. Ki-67.....	91
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>94</b>
<b>Εισαγωγή .....</b>	<b>95</b>
<b>Υλικό και Μέθοδος .....</b>	<b>97</b>
<b>Αποτελέσματα .....</b>	<b>103</b>
<b>Συζήτηση .....</b>	<b>119</b>
<b>Συμπεράσματα.....</b>	<b>124</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>126</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

### Εισαγωγή / Σκοπός

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα θεωρείται ένα νεόπλασμα χαμηλής κακοήθειας με αργή εξέλιξη, ωστόσο σε κάποιες περιπτώσεις παρουσιάζει επιθετική συμπεριφορά. Ο σκοπός της μελέτης είναι η αναγνώριση των ανοσοϊστοχημικών και μοριακών χαρακτηριστικών του αδενοκυστικού καρκινώματος, καθώς και η συσχέτισή τους με την κλινική πορεία των ασθενών.

### Υλικό και μέθοδος

Η μελέτη που διενεργήθηκε είναι μία αναδρομική πολυκεντρική ανάλυση. Έλαβαν μέρος 50 ασθενείς διαγνωσμένοι με αδενοκυστικό καρκίνωμα στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου μεταξύ του έτους 2000 και 2021. Η έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα του πρωτοογκογονιδίου MYB (MYB proto-oncogene transcription factor, MYB), του νευροτροφικού υποδοχέα τυροσίνης κινάσης (neurotrophic tyrosine kinase receptor, NTRK), του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα τύπου 2 (human epidermal receptor-2, HER-2) και του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 διερευνήθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας (immunohistochemistry, IHC) και της μεθόδου του φθορίζοντος in situ υβριδισμού (fluorescence in situ hybridization, FISH). Τα αποτελέσματα της εργαστηριακής ανάλυσης συσχετίστηκαν με κλινικούς δείκτες, όπως η πρωτοπαθής εστία, η ηλικία κατά τη διάγνωση, το φύλλο, τα κλινικά χαρακτηριστικά, η σταδιοποίηση της νόσου, η θεραπευτική προσέγγιση, ο χρόνος μέχρι την υποτροπή και η επιβίωση, που προέκυψαν από την κλινική πορεία που καταγράφηκε κατά την τακτική παρακολούθηση.

### Αποτελέσματα

Η διάμεση ηλικία των ασθενών ήταν τα 58,5 έτη (μέση ηλικία:  $58,8 \pm 16,6$  έτη, Q1 - Q3 = 51 - 72 έτη) και το 54% ήταν άνδρες. Συγκριτικά με τις γυναίκες, οι άνδρες ασθενείς κινδύνευαν σε μεγαλύτερο βαθμό για υποτροπή και θάνατο. Κανένας ασθενής της μελέτης δεν ήταν HER-2 θετικός. Η πλειοψηφία των ασθενών (68%) παρουσίασαν μία ενδιάμεση έκφραση του Ki-67. Διαπιστώθηκε μία συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του Ki-67 και του βαθμού του συμπαγούς προτύπου. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς με

υψηλή έκφραση του Ki-67 είχαν όγκους με συμπαγές κυρίως πρότυπο. Σε 28 ασθενείς (56%) ανιχνεύτηκε έκφραση του ογκογονιδίου MYB. Ωστόσο, η θετική έκφραση του MYB δεν είχε συσχέτιση με την επιβίωση. Οκτώ ασθενείς (16%) ήταν θετικοί στην έκφραση του NTRK. Οι NTRK-θετικοί ασθενείς παρουσίασαν χειρότερη συνολική επιβίωση από τους NTRK-αρνητικούς ασθενείς ( $p = 0,0246$ ). Επιπροσθέτως, το ποσοστό των κυττάρων που εκφράζουν το NTRK σχετίζεται αρνητικά με την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,0016$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,0027$ ).

### **Συμπεράσματα**

Δεν αναγνωρίστηκε συσχέτιση μεταξύ της θετικότητας του MYB και της επιβίωσης, ενώ στην σειρά μας κανένας ασθενής δεν ήταν θετικός στην έκφραση του HER-2. Αντιθέτως, οι NTRK-θετικοί ασθενείς είχαν χειρότερη επιβίωση, γεγονός που δείχνει ότι το NTRK είναι ένας αρνητικός προγνωστικός παράγοντας. Με βάση το παραπάνω κύριο συμπέρασμα της διατριβής, οι αναστολείς του NTRK μπορούν θεωρητικά να χρησιμοποιηθούν για την θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των ασθενών. Οι αναστολείς του MYB θα μπορούσαν να είναι ελπιδοφόροι θεραπευτικοί παράγοντες για τους MYB-θετικούς ασθενείς.

## ABSTRACT

### **Background / Aim**

Adenoid cystic carcinoma (ACC) is considered a low-grade malignancy with slow growth, however, occasionally displays an aggressive clinical course. The aim of this study is to identify the immunohistochemical and molecular characteristics of ACC as well as their correlation with the clinical course of patients.

### **Materials and Methods / Patients and Methods**

This is a retrospective multicenter analysis. We included 50 patients diagnosed with ACC in the head and neck between 2000 and 2021. The expression of MYB proto-oncogene transcription factor (MYB), neurotrophic tyrosine kinase receptor (NTRK), human epidermal receptor-2 (HER-2), and Ki-67 was examined through immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH). The results of the analysis were correlated with the data collected during the clinical follow-up of the patients. These data refer to the following characteristics: primary tumor site, age at diagnosis, sex, clinical characteristics, cancer staging, treatment modalities, time to progression, and survival.

### **Results**

The median age of the patients was 58.5 years and 54% of them were male. Compared with female patients, male patients were at a higher risk of both recurrence and death. No HER-2 positive cases were revealed. Most of the patients (68%) displayed an intermediate expression of Ki-67. It was determined that there is a correlation between the expression of Ki-67 and the grade of the solid subtype. More precisely, patients with high Ki-67 expression had predominately tumors with solid component. MYB expression was positive in 28 (56%) cases. However, MYB expression did not significantly affect survival. NTRK expression was positive in eight (16%) cases. NTRK-positive patients had worse overall survival (OS) than NTRK-negative patients ( $p = 0.0246$ ). Additionally, the percentage of NTRK-stained cells was negatively correlated with disease-free survival ( $p = 0.0016$ ) and OS ( $p = 0.0027$ ).

## **Conclusion**

There was no correlation between MYB positivity and survival, while in our series no patient had positive HER-2 expression. Contrarily, NTRK-positive patients had worse survival, indicating that NTRK is a negative prognostic factor. Based on the forenamed main conclusion of this thesis, tropomyosin receptor kinase inhibitors could be used to treat these patients. MYB-targeted inhibitors could be promising therapeutic agents for MYB-positive patients.

# **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ

Στον άνθρωπο υπάρχουν τρία ζεύγη μείζονων σιελογόνων αδένων: οι παρωτιδικοί αδένες, οι υπογνάθιοι αδένες και οι υπογλώσσιοι αδένες. Επιπροσθέτως, υπάρχουν εκατοντάδες υποβλεννογόνιοι ελάσσονες σιελογόνοι αδένες, κυρίως στη στοματική κοιλότητα.

Η εμβρυική ανάπτυξη των σιελογόνων αδένων είναι το αποτέλεσμα μίας σύνθετης αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο διαφορετικών ιστών, το στοματικό επιθήλιο και το υποκείμενο μεσέγχυμα<sup>1,2</sup>. Όλοι οι σιελογόνοι αδένες μοιράζονται μία κοινή εμβρυογένεση, κατά την οποία προκύπτουν από ανάπτυξη του στοματικού επιθηλίου στο υποκείμενο μεσέγχυμα. Οι εκκριτικές μονάδες (αδενοκυψέλες) και το εκφορητικό σύστημα του κάθε αδένου θα αναπτυχθούν τελικά από αυτούς τους επιθηλιακούς σχηματισμούς, οι οποίοι είναι εξωδερμικής προέλευσης για τους παρωτιδικούς, υπογνάθιους και υπογλώσσους αδένες, ενώ είναι μικτής, εξωδερμικής και ενδοδερμικής, προέλευσης για τους ελάσσονες σιελογόνους αδένες<sup>3</sup>. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα έχουν τις γενετικές πληροφορίες για την ανάπτυξη του εκφορητικού συστήματος των αδένων, ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα έχουν τις γενετικές πληροφορίες για το είδος του εκκρίματος, που θα παράγεται στους αδένες<sup>4,5</sup>. Το στρώμα, το οποίο σχηματίζει την κάψα του κάθε αδένου καθώς και τα διαφραγμάτια του χωρίζουν τον αδένου σε λοβία, αναπτύσσεται από κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας, τα οποία είναι κύτταρα που προέρχονται από ραχιαίο τμήμα του επιθηλίου του νευρικού σωλήνα<sup>6</sup>.

Η τελική ανάπτυξη των σιελογόνων αδένων δεν εξαρτάται αποκλειστικά από τη συντονισμένη ανάπτυξη του επιθηλίου και του μεσεγγύματος, αλλά εξαρτάται και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, από τα οποία θα προκύψουν τα αγγεία, και τα νευρικά κύτταρα, από τα οποία θα προκύψουν τα νεύρα. Αυτά τα στοιχεία πρέπει να οργανωθούν και να ενταχθούν στην τελική σύνθετη δομή ενός σιελογόνου αδένου<sup>7</sup>.

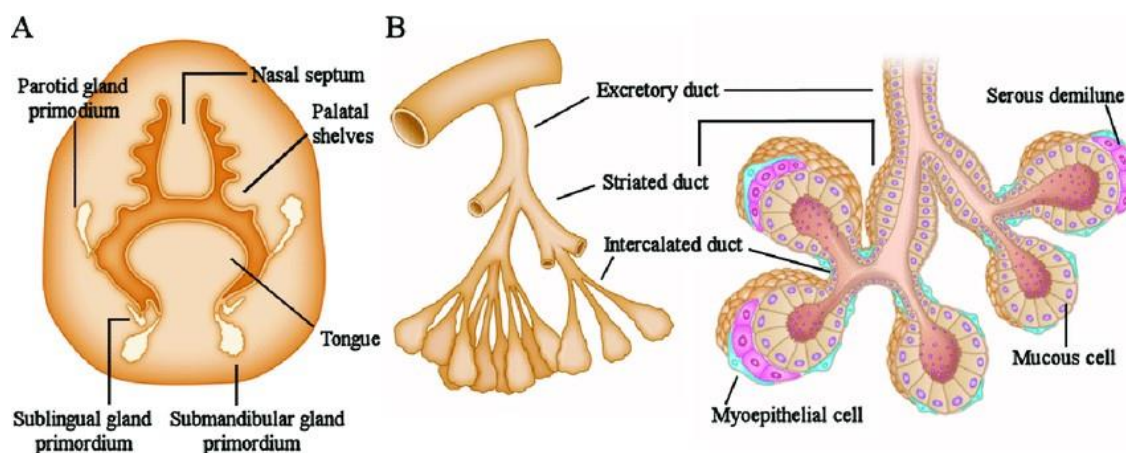
Ο τρόπος διάπλασης είναι κοινός στο σύνολο των σιελογόνων αδένων. Οι σιελογόνοι αδένες, οι οποίοι εντοπίζονται εμπρός από τις παρίσθιμες καμάρες, προέρχονται από το έξω βλαστικό δέρμα, ενώ οι σιελογόνοι αδένες, οι οποίοι εντοπίζονται οπισθίως των παρίσθιμων καμαρών, προέρχονται από το έσω βλαστικό δέρμα, που καλύπτει το αρχέγονο έντερο πίσω από το στοματοφαρυγγικό υμένα<sup>8</sup>.

Η πρώτη ένδειξη της ανάπτυξης των σιελογόνων αδένων είναι μία πάχυνση του



στοματικού επιθηλίου, γνωστό ως επιθηλιακό βλάστημα. Το επιθηλιακό βλάστημα είναι μία συμπαγής χορδή από κύτταρα, που σχηματίζεται από το εξωδερμικό επιθήλιο του κοίλου του στόματος. Το επιθηλιακό βλάστημα, με διακλαδώσεις και κοιλάνσεις μέσα στο υποκείμενο παρέγχυμα, σχηματίζει τους εκφορητικούς πόρους των σιελογόνων αδένων<sup>9</sup>. Τα άκρα των καταδύσεων του επιθηλιακού βλαστήματος διογκώνονται, κοιλαίνονται και σχηματίζουν τελικά τις αδενοκυψέλες. Το μεσέγχυμα που περιβάλλει τις καταδύσεις του επιθηλιακού βλαστήματος, χωρίζει τελικά τους αδένες σε λοβία και σχηματίζει την κάψα των αδένων.

Στον άνθρωπο, η παρωτίδα είναι η πρώτη που εμφανίζεται, μεταξύ της τέταρτης και έκτης εμβρυϊκής εβδομάδας, σαν συμπαγή επιθηλιακά βλαστήματα στις αναπτυσσόμενες παρειές. Τα βλαστήματα για τους υπογνάθιους αδένες εμφανίζονται αργότερα στην έκτη εμβρυϊκή εβδομάδα. Κατά τη διάρκεια της έβδομης και όγδοης εμβρυϊκής εβδομάδας, οι υπογλώσσιοι αδένες αναπτύσσονται από πολλαπλά επιθηλιακά βλαστήματα, εκ των έξω των υπογνάθιων αδένων. Τελευταίοι αναπτύσσονται οι ελάσσονες σιελογόνοι αδένες αργά στη δωδέκατη εμβρυϊκή εβδομάδα<sup>10-12</sup> (εικόνα 1).



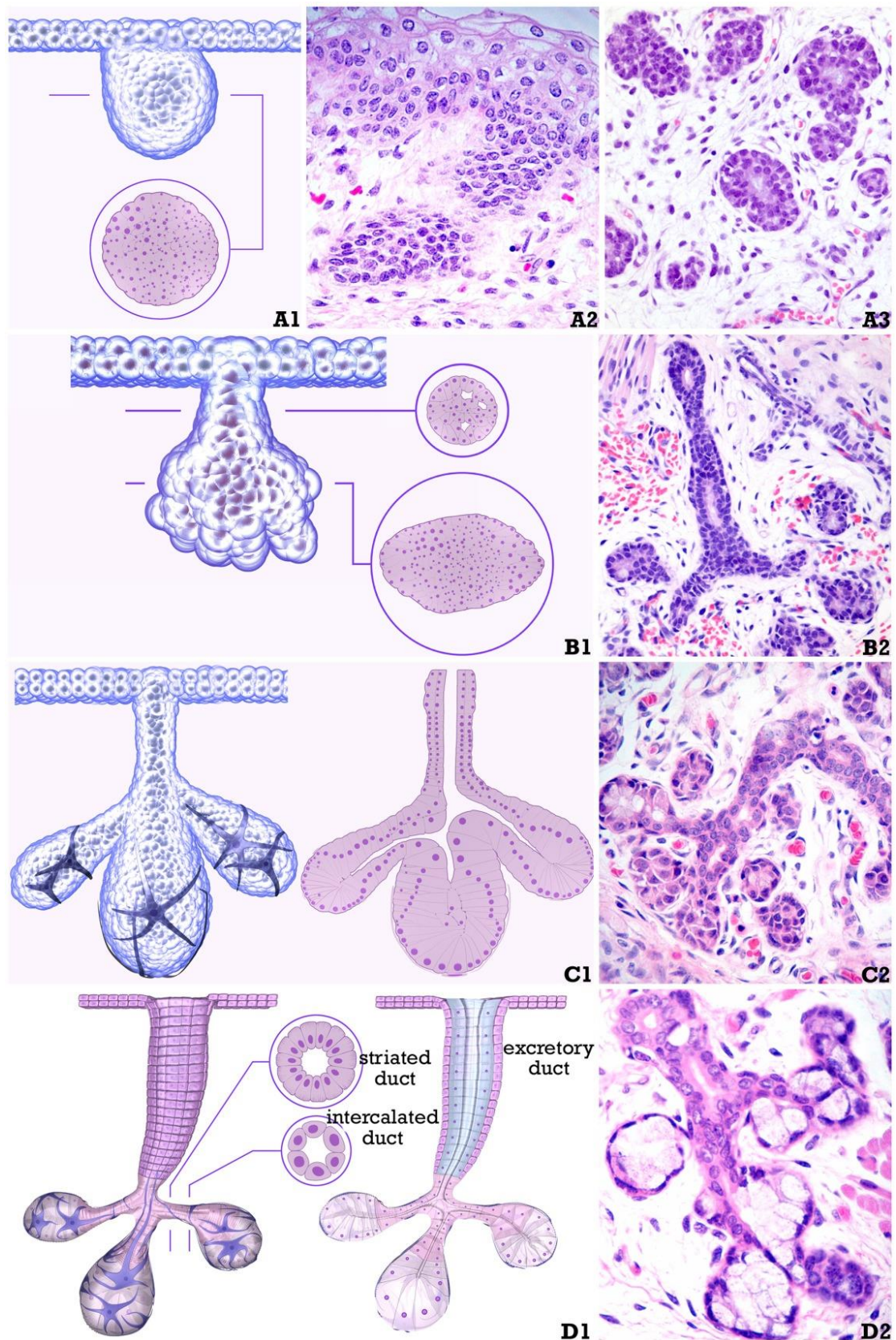
**Εικόνα 1:** Ανάπτυξη και δομή των σιελογόνων αδένων<sup>13</sup>. (Α) Στην 6-8 εβδομάδα εμβρυϊκής ζωής, όλοι οι σιελογόνοι αδένες μοιράζονται μία κοινή εμβρυογένεση, κατά την οποία προκύπτουν από ανάπτυξη του στοματικού επιθηλίου στο υποκείμενο μεσέγχυμα. (Β) Οι σιελογόνοι αδένες είναι σωληνοκυψελοειδείς σχηματισμοί. (sublingual gland primordium: αρχέγονος υπογλώσσιος αδένας, submandibular gland primordium: αρχέγονος υπογνάθιος αδένας, parotid gland primordium: αρχέγονος παρωτιδικός αδένας, tongue: γλώσσα, nasal septum: ρινικό διάφραγμα, excretory duct: απεκκριτικός πόρος, striated duct: γραμμωτός πόρος, intercalated duct: εμφόλιμο σωληνάριο, myoepithelial cell: μυοεπιθηλιακό κύτταρο, mucous cell: βλεννώδες κύτταρο, serous demilune: ορώδης μηνίσκος)

Η θέση της αρχικής καταβολής βρίσκεται στα στόμια εκβολής των αδένων (εικόνα 2). Στη στοματική επιφάνεια του επιθηλιακού βλαστήματος κάθε παρωτιδικού αδένου σχηματίζεται ένα κοίλωμα στο επιθήλιο, το οποίο αποτελεί την εντόπιση κατάληξης στη στοματική κοιλότητα του πόρου κάθε παρωτίδας. Στην περίπτωση του υπογνάθιου αδένου, το επιθήλιο εκ των έσω του αρχικού επιθηλιακού βλαστήματος περιστρέφεται ώστε να σχηματιστεί ένας κύλινδρος, ο οποίος εκτείνεται κατά μήκος της βάσης της γλώσσας και τελικώς καταλήγει στη στοματική κοιλότητα στο υπογλώσσιο φύμα. Καθένα από τα 10-15 επιθηλιακά βλαστήματα του υπογλώσσιου αδένου σχηματίζουν ένα αδένου με ξεχωριστό εκφορητικό σύστημα πόρων<sup>7</sup>.

Αν και πρώτα αρχίζει η διάπλαση της παρωτίδας και αργότερα του υπογνάθιου και υπογλώσσιου αδένου, η κάψα της παρωτίδας σχηματίζεται τελευταία, με αποτέλεσμα να περικλείονται στο αδενικό παρέγχυμα και λεμφαδένες.

Μέχρι το τέλος της έβδομης εμβρυικής εβδομάδας, όλοι οι περιφερικοί κλάδοι του προσωπικού νεύρου είναι σχηματισμένοι κάτω από τη βάση του κρανίου και ξεχωρίζουν ο ένας από τον άλλο. Όλοι οι περιφερικοί κλάδοι εντοπίζονται εν τω βάθει της μυοβλαστικής στιβάδας, η οποία θα σχηματίσει του μιμικούς μύες. Σε αυτό το στάδιο η σχηματιζόμενη παρωτίδα εμφανίζεται στην προωτιαία περιοχή. Οι κροταφικοί, οι ζυγωματικοί και οι άνω βυκανητικοί κλάδοι του προσωπικού νεύρου είναι αρχικά επιφανειακά της σχηματιζόμενης παρωτίδας, ενώ οι κάτω βυκανητικοί, ο επιχείλιος κλάδος της κάτω γνάθου και ο τραχηλικός κλάδος είναι εν τω βάθει της παρωτίδας. Όταν ο παρωτιδικός αδένος είναι πλήρως σχηματισμένος, το προσωπικό νεύρο και οι κλάδοι του περικλείονται στο παρέγχυμα της παρωτίδας<sup>14</sup>.

Προς το τέλος του τρίτου μήνα, οι σιελογόνοι αδένες πάρει την τελική θέση τους. Η κοίλανση των εκφορητικών πόρων και ο σχηματισμός των λοβίων διαρκούν μέχρι τον 7<sup>ο</sup> μήνα. Από τον 8<sup>ο</sup> εμβρυικό μήνα αρχίζει η διαφοροποίηση των κυψελωτών κυττάρων και των εμβόλιμων σωληναρίων.



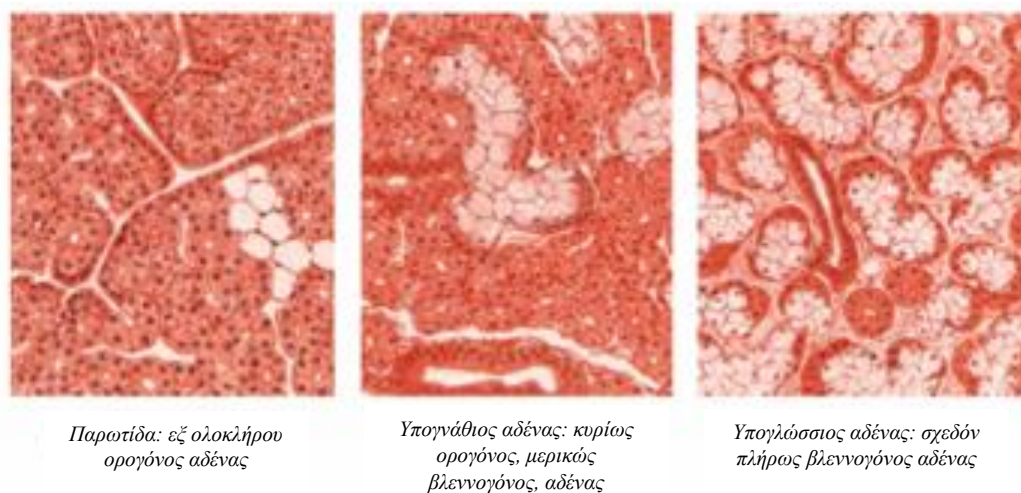
**Εικόνα 2:** Σχηματική απεικόνιση των σταδίων της εμβρυογένεσης των σιελογόνων αδένων και οι αντίστοιχες ιστολογικές εικόνες<sup>15</sup>. A1 έως A3: Αρχικό στάδιο ανάπτυξης. Η πάχυνση του στοματικού επιθηλίου, γνωστό ως επιθηλιακό βλάστημα, αποτελεί την πρώτη ένδειξη της ανάπτυξης των σιελογόνων αδένων (A1). Το επιθηλιακό βλάστημα είναι μία συμπαγής χορδή από

κύτταρα, που σχηματίζεται από το εξωδερμικό επιθήλιο του κοίλου του στόματος. Ιστολογική εικόνα του επιθηλιακού βλαστήματος (A2). Η συμπαγής χορδή από κύτταρα και ο αρχικός σχηματισμός των εκφορητικών πόρων (A3). Το επιθηλιακό βλάστημα με διακλαδώσεις και κοιλάνσεις μέσα στο υποκείμενο παρέγχυμα αρχίζει να σχηματίζει τους εκφορητικούς πόρους των σιελογόνων αδένων (B1). Η αντίστοιχη ιστολογική εικόνα (B2). Ολοκλήρωση του συστήματος των εκφορητικών πόρων και παρουσία των μυοεπιθηλιακών κυττάρων που περιβάλλουν τις αδενοκυψέλες (C1). Ιστολογική εικόνα ενός αναπτυσσόμενου σιελογόνου αδένου με ένα καλά ανεπτυγμένο σύστημα εκφορητικών πόρων και τελικού σταδίου επιθηλιακό βλάστημα (C2). Σχηματική απεικόνιση ενός πλήρως ανεπτυγμένου σιελογόνου αδένου (D1). Παρουσία αδενοκυψελών, μυοεπιθηλιακών κυττάρων και εκφορητικών πόρων. Ιστολογική εικόνα ενός σιελογόνου αδένου στο τελικό στάδιο ανάπτυξης (D2).

(*excretory duct*: απεκκριτικός πόρος, *striated duct*: γραμμωτός πόρος, *intercalated duct*: εμβόλιμο σωληνάριο)

## 2. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

Οι σιελογόνοι αδένες έχουν δύο τύπους εκκριτικών κυττάρων: τα ορώδη και τα βλεννώδη κύτταρα<sup>16</sup>. Η παρωτίδα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από ορώδη κύτταρα και εκκρίνει ένα λεπτόρρευστο, υδαρές υγρό πλούσιο σε ένζυμα και αντισώματα. Οι υπογλώσσιοι αδένες αποτελούνται κυρίως από βλεννώδη κύτταρα και εκκρίνουν ένα πυκνής σύστασης υγρό. Οι υπογνάθιοι αδένες φέρουν ορώδη και βλεννώδη κύτταρα και παράγουν ένα έκκριμα ενδιάμεσης σύστασης (εικόνα 3)<sup>2</sup>.



**Εικόνα 3:** Ιστολογική εικόνα των μείζονων σιελογόνων αδένων<sup>17</sup>.

Οι μείζονες σιελογόνοι αδένες περιβάλλονται από κάψα συνδετικού ιστού. Το παρέγχυμα των αδένων αποτελείται από τις τελικές εκκριτικές μονάδες και ένα σύστημα πόρων διατεταγμένων σε λοβία που χωρίζονται με διαφράγματα συνδετικού ιστού. Το σύστημα των πόρων οδηγεί τη σίελο στη στοματική κοιλότητα<sup>18,19</sup>.

Οι σιελογόνοι αδένες αποτελούνται από το ερειστικό υπόστρωμα, την εκκριτική και εκφορητική μοίρα, παρουσιάζοντας την τυπική ιστολογική εικόνα των εξωκρινών αδένων<sup>20</sup>.

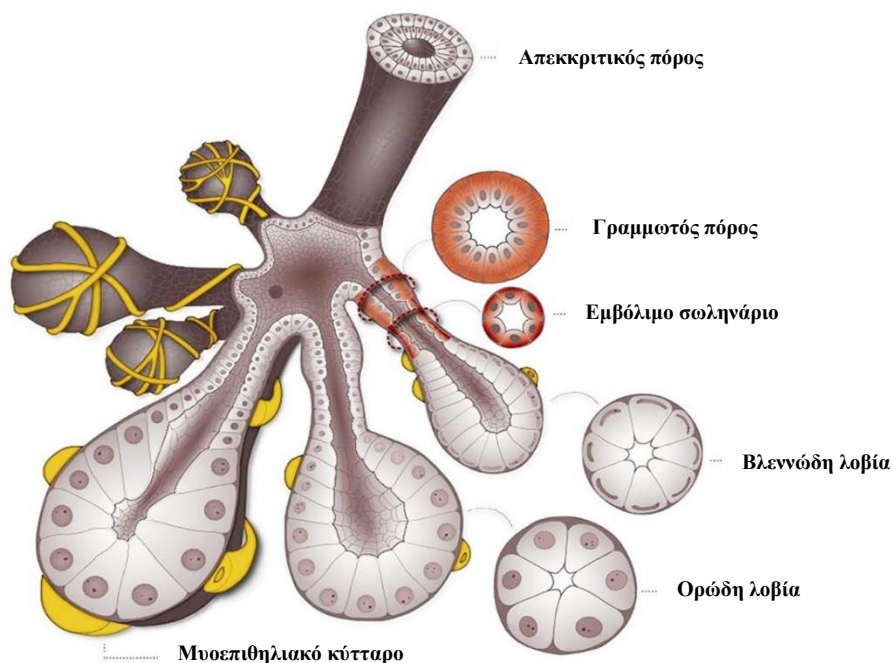
Στο υπόστρωμα του αδένος περιλαμβάνονται ο συνδετικός ιστός, τα αγγεία και τα νεύρα του. Ο συνδετικός ιστός σχηματίζει την κάψα τους μείζονες σιελογόνους αδένες και χωρίζει με διαφραγμάτια τον αδένος σε πολυγωνικά λοβία. Μέσα στο ερειστικό υπόστρωμα πορεύονται οι εκφορητικοί πόροι του αδένος<sup>21</sup>.

Η εκκριτική μοίρα συνίσταται από ορογόνες ή/και βλεννογόνες αδενοκυψέλες, που παράγουν τη σίελο. Αυτές έχουν το βασικό υμένα εξωτερικά και εσωτερικά και προς την κοιλότητα έχουν τα αδενικά κύτταρα.

Τα ορώδη κύτταρα έχουν συνήθως πυραμιδικό σχήμα. Η βάση τους είναι ευρεία και επικάθεται στη βασική μεμβράνη, ενώ η κορυφή τους είναι στενή με ακανόνιστες μικρολάχνες. Τα κύτταρα αυτά χαρακτηρίζονται από την έκκριση πρωτεϊνών. Τα ορώδη κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους και σχηματίζουν μια σφαιρική μάζα κυττάρων που αποκαλείται αδενοκυψέλη, η οποία φέρει αυλό στο κέντρο<sup>22,23</sup>.

Τα βλεννώδη κύτταρα έχουν σχήμα συνήθως κυβοειδές ή κυλινδρικό. Χαρακτηρίζονται από την παραγωγή βλέννης, που περιέχει γλυκοπρωτεΐνες σημαντικές για την εφύγρανση και την λίπανση, δύο καθοριστικές ιδιότητες της σιέλου. Τα βλεννώδη κύτταρα παρουσιάζουν μία κυλινδρική διάταξη γύρω από έναν αυλό και οργανώνονται σε σωληνάρια<sup>19</sup>.

Η εκφορητική μοίρα ομοιάζει με κλαδιά δέντρων. Οι τελικές εκκριτικές μονάδες αποχετεύουν στα εμβόλιμα σωληνάρια, που επενδύονται από κυβοειδή επιθηλιακά κύτταρα. Τα εμβόλιμα σωληνάρια ενώνονται και σχηματίζουν τους γραμμωτούς πόρους. Τα εμβόλιμα σωληνάρια και οι γραμμωτοί πόροι ονομάζονται και ενδολόβιοι πόροι επειδή εντοπίζονται μέσα στα λοβία. Οι γραμμωτοί πόροι ενώνονται και σχηματίζουν τους μεσολόβιους πόρους, οι οποίοι πορεύονται στο ερειστικό υπόστρωμα μαζί με τα αγγεία και νεύρα του αδένος και καταλήγουν σε έναν ή περισσότερους εκφορητικούς πόρους (εικόνα 4). Ο κύριος εκφορητικός πόρος κάθε αδένος εκβάλλει στη στοματική κοιλότητα και επενδύεται με μη κερατινοποιημένο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο<sup>19</sup>.



**Εικόνα 4:** Σχηματική εικόνα ενός πλήρως σχηματισμένου σιελογόνου αδένος, που απεικονίζει τα κύτταρα του παρεγχύματος. Το σχήμα αποτυπώνει ένα μεικτό εκκριτικό σιελογόνο αδένος, ο οποίος αποτελείται από ορώδη και βλεννώδη λοβία. Επίσης απεικονίζονται μυοεπιθηλιακά

κύτταρα, τα οποία εντοπίζονται εξωτερικά των λοβίων και των πόρων, συνεισφέροντας στην απέκκριση της σιέλου από το σύστημα των πόρων<sup>15</sup>.

### **Παρωτίδα**

Η παρωτίδα είναι ένας διακλαδισμένος κυψελοειδής αδένας και αποτελείται αποκλειστικά από ορώδη κύτταρα. Το έκκριμα της παρωτίδας είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες και αμυλάση<sup>19</sup>. Η αμυλάση ευθύνεται για το μεγαλύτερο μέρος της υδρόλυσης των υδατανθράκων.

### **Υπογνάθιος αδένας**

Ο υπογνάθιος αδένας είναι ένας διακλαδισμένος σωληνοκυψελοειδής αδένας. Η εκκριτική του μοίρα περιλαμβάνει τόσο ορώδη όσο και βλενώδη κύτταρα. Το 90% των τελικών μονάδων του υπογνάθιου αδένου είναι ορώδεις αδενοκυψέλες, ενώ το 10% αποτελείται από βλενώδη σωληνάρια. Τα ορώδη κύτταρα είναι υπεύθυνα για την ασθενή αμυλολυτική δραστηριότητα του υπογνάθιου αδένου. Τα βλενώδη κύτταρα εκκρίνουν το ένζυμο λυσοζύμη, το οποίο έχει ως κύρια λειτουργία την υδρόλυση του τοιχώματος μερικών βακτηρίων<sup>19</sup>.

### **Υπογλώσσιος αδένας**

Ο υπογλώσσιος αδένας, όπως και ο υπογνάθιος, είναι ένα διακλαδισμένος σωληνοκυψελοειδής αδένας που αποτελείται από ορώδη και βλενώδη κύτταρα. Τα βλενώδη κύτταρα επικρατούν στον αδένου αυτό. Τα ορώδη κύτταρα συναντώνται αποκλειστικά και μόνο με τη μορφή ορωδών μηνίσκων πάνω στα βλενώδη σωληνάρια<sup>19</sup>.

### **Ελάσσονες σιελογόνοι αδένες**

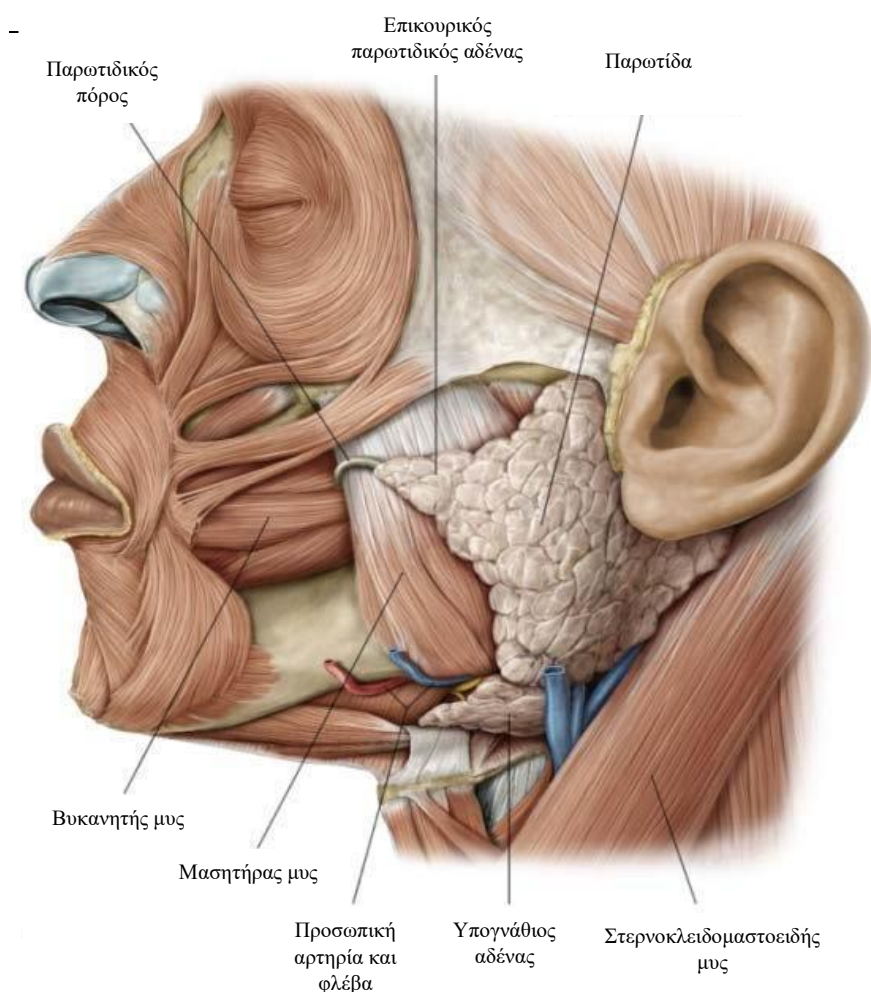
Οι ελάσσονες σιελογόνοι αδένες στην υπερώα, στη βάση και στα πλάγια της γλώσσας αποτελούνται από βλενώδη εκκριτικά κύτταρα, ενώ στα χείλη, στην παρειά και στην κορυφή της γλώσσας αποτελούνται από ορώδη και βλενώδη κύτταρα. Οι βλεννογόνοι αδένες της μύτης έχουν την ίδια κατασκευή και λειτουργία με τους ελάσσονες σιελογόνους αδένες της στοματικής κοιλότητας<sup>23</sup>.

### 3. ANATOMIA

Οι σιελογόνοι αδένες χωρίζονται σε μείζονες και ελάσσονες. Μείζονες είναι η παρωτίδα, ο υπογνάθιος και ο υπογλώσσιος σιελογόνος αδένας. Αποτελούν τρία ζεύγη μεγάλων αδένων, οι οποίοι εκβάλλουν δια εκφορητικών πόρων στη στοματική κοιλότητα. Υπάρχουν επίσης οι ελάσσονες σιελογόνοι αδένες. Είναι πολυάριθμοι και εντοπίζονται διάσπαρτοι στα χείλη, στην παρειά, στην υπερώα και στη γλώσσα<sup>23</sup>.

#### 3.1 Παρωτίδα

Η παρωτίδα είναι ο μεγαλύτερος από τους μείζονες σιαλογόνους αδένες. Εντοπίζεται στην παρωτιδική χώρα, μία περιοχή πλάγια του τραχήλου, κάτω από το ωτικό περύγιο και τον έξω ακουστικό πόρο, οπισθίως του κλάδου της κάτω γνάθου και μπροστά από το στερνοκλειδομαστοειδή μυ (εικόνα 5). Η παρωτίδα καταλαμβάνει τον παρωτιδικό χώρο, ο οποίος εκτείνεται από το δέρμα έως στο επίπεδο του φάρυγγα, και περιβάλλεται από την παρωτιδική περιτονία. Το βάρος της είναι 25-30 γραμμάρια<sup>24</sup>.



**Εικόνα 5:** Η ανατομική θέση της παρωτίδας<sup>25</sup>.



Το σχήμα της παρωτίδας είναι αυτό μίας ανεστραμμένης πυραμίδας. Αναγνωρίζονται τρεις επιφάνειες, η έξω, η πρόσθια έσω και η οπίσθια έσω<sup>24</sup>.

Η έξω επιφάνεια της παρωτίδας είναι ελαφρώς λοβωτή. Καλύπτεται από δέρμα και από το επιπολής πέταλο της εν τω βάθει τραχηλικής περιτονίας. Το επιπολής πέταλο είναι παχύ και ανελαστικό με ινώδη διαφραγμάτια, τα οποία εισέρχονται εντός του παρεγχύματος του αδένου. Οι διογκώσεις της παρωτίδας αργούν να αυξηθούν σε μέγεθος και να γίνουν αντιληπτές, λόγω της ανελαστικότητας του επιπολής πετάλου. Επίσης, για τον ίδιο λόγο, φλεγμονές της παρωτίδας είναι ιδιαίτερα επώδυνες<sup>23</sup>.

Η πρόσθια έσω επιφάνεια είναι αυλακωτή. Η παρωτίδα περιβάλλει το οπίσθιο χείλος του κλάδου της κάτω γνάθου και έρχεται σε σχέση με το μασητήρα και τους πτερυγοειδείς μύες, εν μέσω των οποίων φέρεται.

Η οπίσθια έσω επιφάνεια της παρωτίδας φέρει το βελονοειδές διάφραγμα, το οποίο αποτελεί τμήμα του επιπολής πετάλου της εν τω βάθει τραχηλικής περιτονίας. Η μαστοειδής απόφυση και η οπίσθια γαστέρα του διγύστορα μυ εντοπίζονται επιπολής του βελονοειδούς διαφράγματος, ενώ ένα μεγάλο τετράπλευρο σχηματίζεται εν τω βάθει. Το τετράπλευρο αυτό χωρίζεται διαγώνια από το βελονοειδή μυ και σύνδεσμο, δημιουργώντας δύο τρίγωνα, το οπισθοβελονοειδές και προβελονοειδές τρίγωνο. Το οπισθοβελονοειδές τρίγωνο έχει τη βάση του προς τα άνω και εισέρχεται σε αυτό το προσωπικό νεύρο, ενώ το προβελονοειδές τρίγωνο έχει τη βάση του προς τα κάτω και εισέρχεται σε αυτό η έξω καρωτίδα<sup>24</sup>.

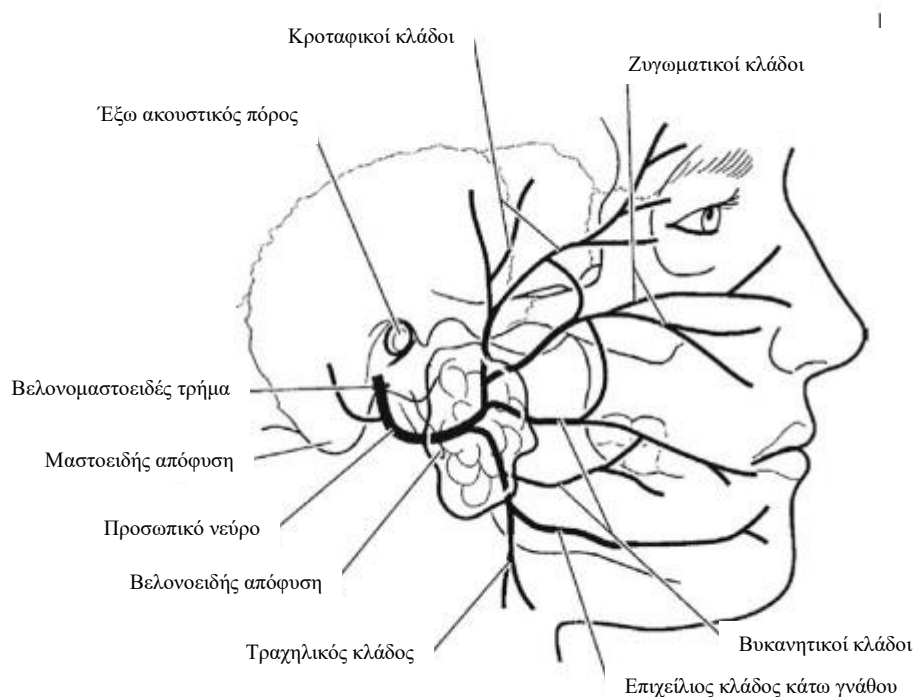
Ο άνω πόλος της παρωτίδας εκτείνεται προς τα άνω μεταξύ του έξω ακουστικού πόρου και της κροταφογναθικής αρθρώσεως. Ο κάτω πόλος της στηρίζεται από το στερνογναθικό σύνδεσμο, ο οποίος αποτελεί τμήμα της επιπολής στιβάδας της εν τω βάθει τραχηλικής περιτονίας και χωρίζει την παρωτίδα από τον υπογνάθιο αδένου.

Η παρωτίδα έχει σημαντικές σχέσεις με αγγειακούς κλάδους. Η έξω καρωτίδα σχετίζεται με την οπίσθια επιφάνεια του αδένου και εν συνεχεία εισέρχεται σε αυτόν, δίνοντας παρωτιδικούς κλάδους και την οπίσθια ωτιαία αρτηρία, και χωρίζεται τελικά στους τελικούς κλάδους της, την έσω γναθιαία και την επιπολής κροταφική αρτηρία. Κάποιες φορές, η εγκάρσια προσωπική και η ινιακή αρτηρία αναδύονται από την έξω καρωτίδα εντός του παρωτιδικού αδένου. Η παρωτίδα διαπερνάτε επίσης από την έξω σφαγίτιδα. Η φλέβα αυτή σχηματίζεται από την ένωση της γναθιαίας και της επιπολής κροταφικής φλέβας, και κατευθύνεται προς τα κάτω εντός του παρωτιδικού παρεγχύματος, προς τα πρόσω και επιπολής σε σχέση με την έξω καρωτίδα. Φτάνοντας στην γωνία της κάτω γνάθου, η έξω σφαγίτιδα εγκαταλείπει την παρωτίδα και συνεχίζει

στην έξω επιφάνεια του στερνοκλειδομαστοειδούς μυός<sup>24</sup>.

Εντός της παρωτιδικής κάψας εντοπίζονται πολυάριθμοι παρωτιδικοί λεμφαδένες, οι οποίοι διακρίνονται σε επιπολείς και εν τω βάθει. Οι επιπολείς λεμφαδένες βρίσκονται στην έξω επιφάνεια της παρωτίδας, ενώ οι εν τω βάθει λεμφαδένες βρίσκονται εντός του παρωτιδικού παρεγχύματος στην πορεία της έξω καρωτίδας και της έξω σφαγίτιδας<sup>24</sup>.

Η παρωτίδα διασχίζεται από δύο νεύρα, το προσωπικό και το ωτοκροταφικό νεύρο. Το προσωπικό νεύρο εξέρχεται από το κρανίο μέσω του βελονομαστοειδούς τρήματος και εισέρχεται στην παρωτίδα, όπου κατευθύνεται πρόσω και πλαγίως σε σχέση με την έξω καρωτίδα και την έξω σφαγίτιδα. Εντός της παρωτίδας, το προσωπικό νεύρο διαιρείται στους τελικούς κλάδους του (εικόνα 6). Οι κλάδοι αυτοί του προσωπικού νεύρου διαιρούν την παρωτίδα σε δύο λοβούς, στον επιπολής και στον εν τω βάθει. Η διαίρεση της παρωτίδας σε δύο λοβούς γίνεται για καθαρά κλινικούς λόγους<sup>23</sup>.

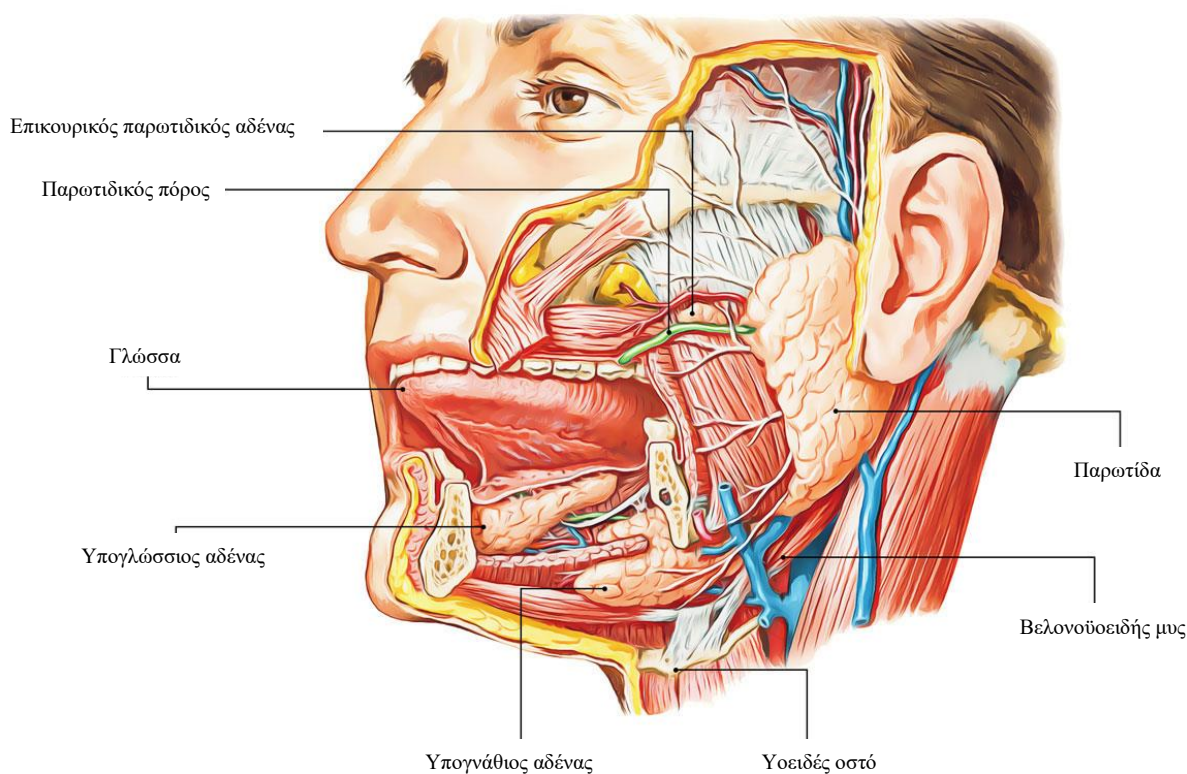


**Εικόνα 6:** Το προσωπικό νεύρο και οι κλάδοι του<sup>26</sup>.

Ο παρωτιδικός αδένας παρουσιάζει διάφορες προσεκβολές. Αυτές είναι τρεις επιπολείς (κονδυλική, ακουστική και οπίσθια) και δύο εν τω βάθει (γληνοειδή και βελονογναθική). Ως εκ τούτου, η ολική χειρουργική αφαίρεση του αδένου, χωρίς παρουσία υπολειμμάτων, είναι ανέφικτη<sup>24</sup>.

Ο πόρος της παρωτίδας ή πόρος του Stensen έχει μήκος 5-7 cm. Ξεκινά από το

άνω τριτημόριο του πρόσθιου χείλους της έξω επιφάνειας της παρωτίδας και φέρεται προς τα πρόσω, μέχρι το πρόσθιο χείλος του μασητήρα, στη συνέχεια κάμπτεται λοξά προς τα έσω, διέρχεται δια του βυκανητή μυός και καταλήγει δια μικρού στομίου της σιαλικής θηλής στην έσω επιφάνεια της παρειάς, έναντι του 2<sup>ου</sup> γομφίου οδόντα της άνω γνάθου. Ο πόρος παρουσιάζει μία ευθεία πορεία και φέρεται σχεδόν οριζόντια στο πρόσωπο, σε απόσταση ενός δακτύλου από τη ζυγωματική απόφυση. Υπεράνω του μασητήρα δέχεται συχνά τον πόρο του επικουρικού παρωτιδικού αδένου, ο οποίος είναι ένας μικρός αδένος αποτελούμενος από ένα λοβίο, ανεξάρτητο της παρωτίδας<sup>24</sup> (εικόνα 7).



**Εικόνα 7:** Ο παρωτιδικός πόρος και ο επικουρικός παρωτιδικός αδένος<sup>17</sup>.

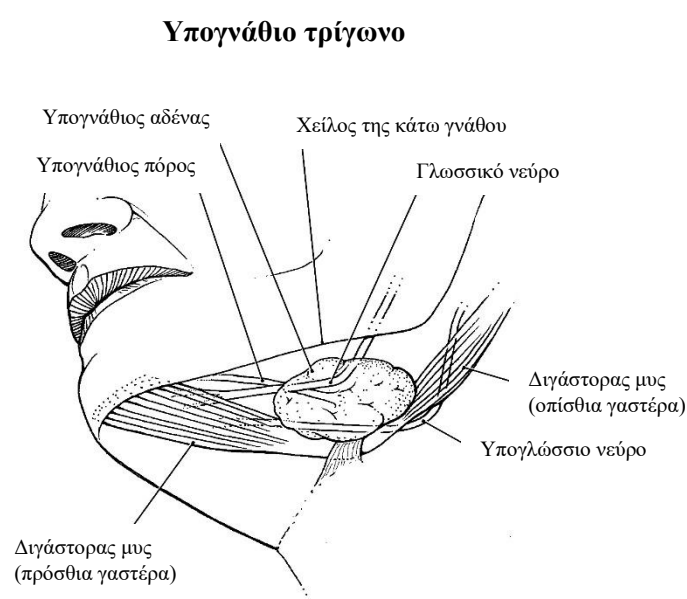
Η αγγείωση της παρωτίδας προέρχεται από την έξω καρωτίδα και πιο συγκεκριμένα από την εγκάρσια προσωπική και την επιπολής κροταφική αρτηρία, οι οποίες αποτελούν κλάδους της έσω γναθιαίας αρτηρίας. Οι φλέβες της παροχετεύονται στην οπίσθια προσωπική φλέβα. Τα λεμφαγγεία της εκβάλλουν στους παρωτιδικούς, τους επιπολής και τους εν τω βάθει τραχηλικούς λεμφαδένες.

Η νεύρωση προέρχεται από το καρωτιδικό πλέγμα του συμπαθητικού, το προσωπικό, το επιπολής κροταφικό και κυρίως από το μείζον ωτιαίο και από το ωτοκροταφικό

νεύρο<sup>24</sup>.

### 3.2 Υπογνάθιος αδένας

Ο υπογνάθιος σιαλογόνος αδένας εντοπίζεται κάτω από την κάτω γνάθο, στο πρόσθιο τμήμα του υπογναθίου χώρου (εικόνα 8). Έχει σχήμα ακανόνιστο τριγωνικό ή ωοειδές με λοβωτή επιφάνεια και ζυγίζει 10-15 γραμμάρια. Σε οριζόντια διατομή ο αδένας έχει σχήμα U με άνισα σκέλη. Το μεγαλύτερο σκέλος αντιστοιχεί στο επιπολής τμήμα του αδένα και το μικρότερο στο εν τω βάθει. Τα δύο αυτά τμήματα είναι συνεχή, κατά το οπίσθιο άκρο του αδένα<sup>24</sup>.



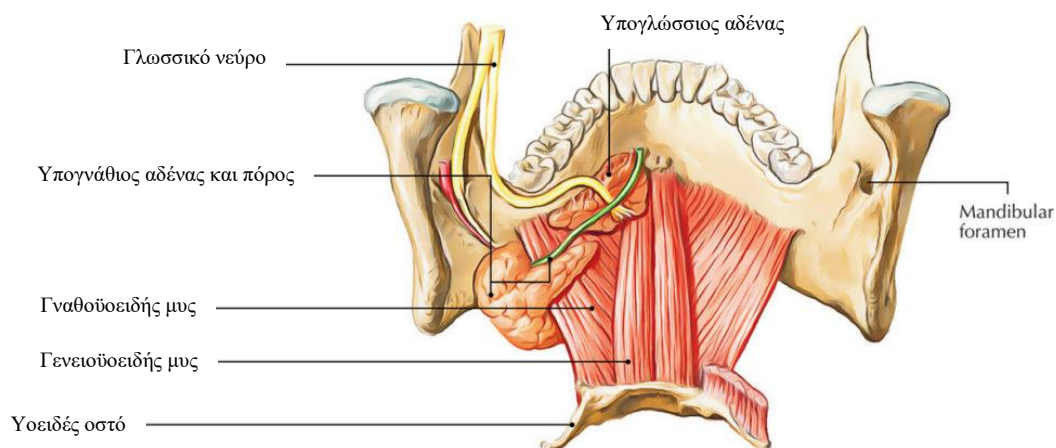
**Εικόνα 8:** Η ανατομική θέση του υπογναθίου αδένα<sup>27</sup>.

Ο υπογνάθιος αδένας εκτείνεται προς τα εμπρός μέχρι την πρόσθια γαστέρα του διγαστορα μυός και προς τα πίσω μέχρι το βελονογναθικό σύνδεσμο, που τον χωρίζει από την παρωτίδα<sup>23</sup>. Η έσω επιφάνεια του φέρεται επί του γναθουοειδούς και υογλωσσικού μυός, του εδάφους δηλαδή του υπογναθίου χώρου. Η έξω επιφάνεια του φέρεται έναντι του υπογναθίου βοθρίου της έσω επιφάνειας του σώματος της κάτω γνάθου. Η κάτω επιφάνεια του εκτείνεται μεταξύ του κάτω χείλους του σώματος της κάτω γνάθου και του διγαστορα της κάτω γνάθου και του βελονουοειδούς μυός.

Ο αδένας καλύπτεται από δέρμα, την επιπολής τραχηλική περιτονία, το μυώδες πλάτυσμα και το επιπολής πέταλο της εν τω βάθει τραχηλικής περιτονίας. Σχετίζεται με την προσωπική αρτηρία και φλέβα και με τον τραχηλικό και επιχείλιο κλάδο του προσωπικού νεύρου. Ο επιχείλιος κλάδος πορεύεται σε απόσταση μικρότερη των 2,5

εκατοστών κάτω από το χείλος της κάτω γνάθου<sup>23</sup>.

Ο πόρος του υπογναθίου αδένα ή πόρος του Wharton έχει μήκος περίπου 5 εκατοστά. Αναδύεται από το πρόσθιο άκρο του εν τω βάθει τμήματος του αδένα και φέρεται προς τα έσω, πρόσω και άνω, υπό το βλεννογόνο του εδάφους του στόματος, εκβάλλοντας στην κορυφή μίας μικρής θηλής, το υπογλώσσιο φύμα, εκατέρωθεν του γλωσσικού χαλινού<sup>24</sup> (εικόνα 9).



**Εικόνα 9:** Ο υπογνάθιος αδένας και πόρος<sup>17</sup>.

Η αγγείωση του αδένα προέρχεται από την προσωπική και την υπογενείδιο αρτηρία. Οι φλέβες ακολουθούν την πορεία των αρτηριών και εκβάλλουν στην πρόσθια προσωπική και στην υπογενείδια φλέβα.

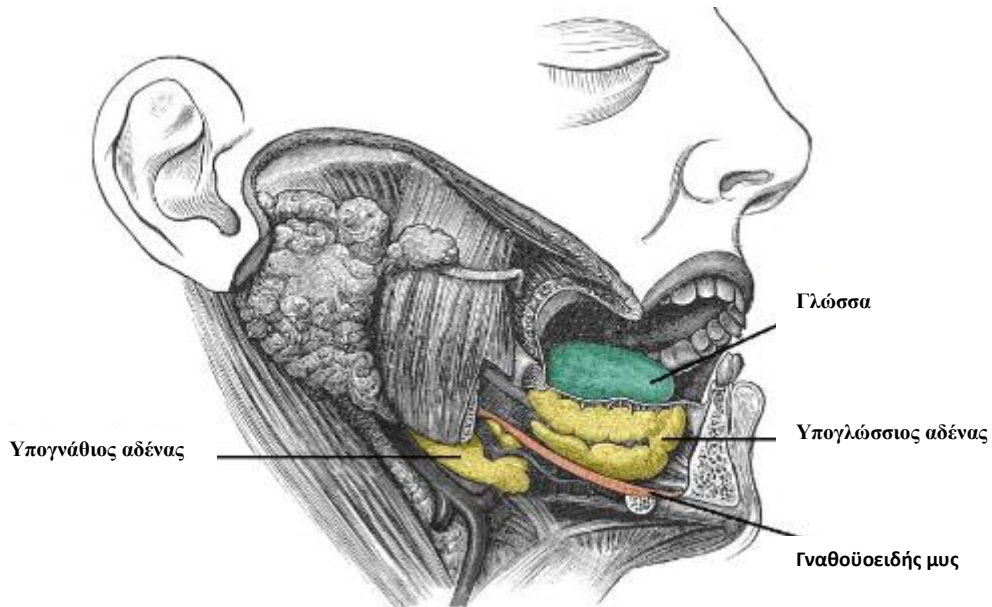
Στην έξω επιφάνεια και στο άνω χείλος του αδένα υπάρχουν μερικοί λεμφαδένες που διακινούν μέρος της λέμφου της στοματικής κοιλότητας.

Η νεύρωση του αδένα προέρχεται από το υπογνάθιο γάγγλιο, το γναθοουοειδές νεύρο, το οποίο είναι κλάδος του κάτω φατνιακού νεύρου, και από το συμπαθητικό στέλεχος<sup>24</sup>.

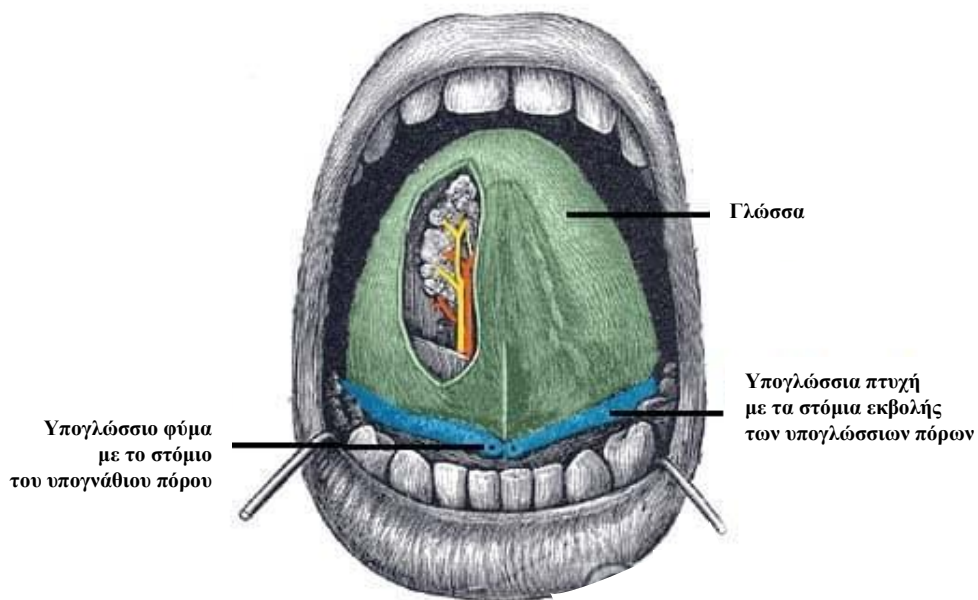
### 3.3 Υπογλώσσιος αδένας

Ο υπογλώσσιος σιαλογόνος αδένας είναι ωοειδής, στενός, αποπλατυσμένος, όμοιος με αμύγδαλο. Είναι ο μικρότερος από τους μείζονες σιελογόνους αδένες και ζυγίζει περίπου 2 γραμμάρια<sup>23</sup>. Εντοπίζεται στο υπογλώσσιο βοθρίο, στην έσω επιφάνεια της κάτω γνάθου υπεράνω του γναθοουοειδούς μυός και κάτω από το βλεννογόνο της στοματικής κοιλότητας, σχηματίζοντας την υπογλώσσια πτυχή (εικόνα 10). Δεν έχει κάψα σε αντίθεση με τους άλλους μείζονες σιελογόνους αδένες<sup>23</sup>. Έχει μέχρι και

20 εκφορητικούς πόρους, οι περισσότεροι των οποίων ανοίγουν χωριστά έκαστος εντός της στοματικής κοιλότητας, επί της υπογλωσσίου πτυχής, εκατέρωθεν του χαλινού της γλώσσας. Ο μείζων εκφορητικός πόρος εκβάλλει στο υπογλώσσιο φύμα μόνος του ή μετά από συνένωση του με τον πόρο του Wharton<sup>24</sup> (εικόνα 11).



*Εικόνα 10: Ο υπογλώσσιος αδένας<sup>28</sup>.*

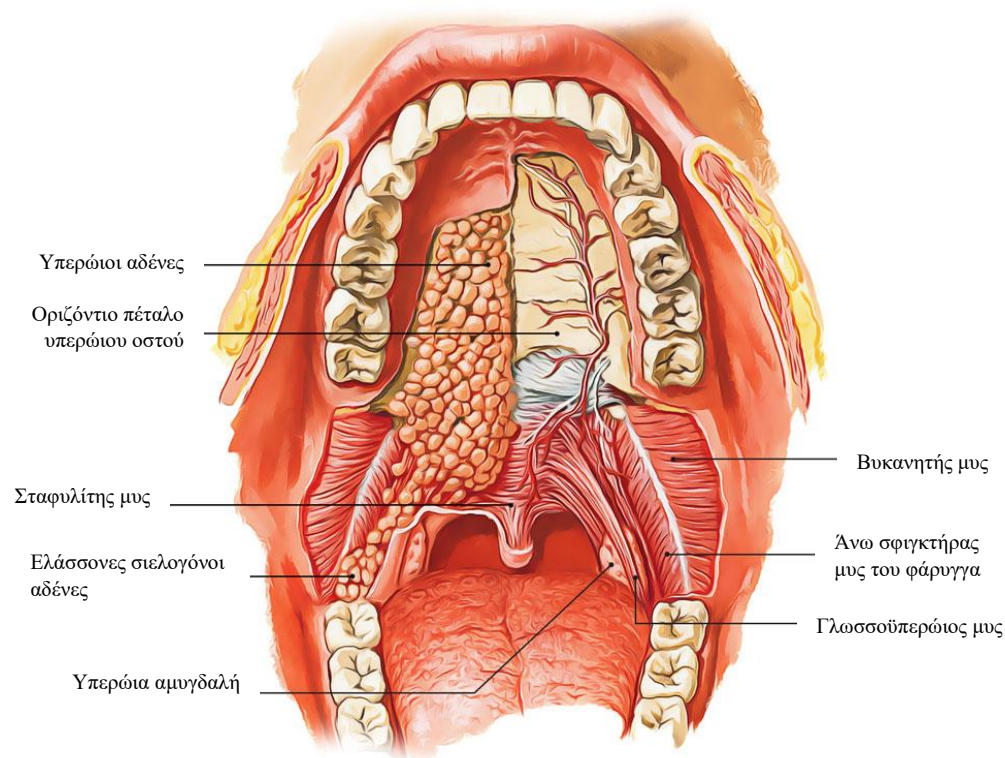


*Εικόνα 11: Έδαφος του στόματος<sup>29</sup>.*

Η αγγείωση του αδένου προέρχεται από την υπογλώσσιο και την υπογενειδίο αρτηρία. Οι φλέβες εκβάλλουν στη γλωσσική φλέβα. Τα λεμφαγγεία του παροχετεύονται στους υπογενειδίου και υπογνάθιους λεμφαδένες. Η νευρώσή του προέρχεται από το γλωσσικό νεύρο<sup>24</sup>.

### 3.4 Ελάσσονες σιαλογόνοι αδένες

Οι ελάσσονες ή μικροί σιαλογόνοι αδένες περιλαμβάνουν ομάδες αδενικού ιστού. Εντοπίζονται υποβλεννογόνια και είναι διάσπαρτοι σε όλη την αεροφόρο και πεπτική οδό, εκτός από τη σκληρά υπερώα και τη λαρυγγική επιφάνεια της επιγλωττίδας (εικόνα 12). Στις γνήσιες φωνητικές χορδές υπάρχει κατά κανόνα ένας αδένος στο πίσω άκρο τους. Ο αριθμός τους υπολογίζεται σε 700- 1.100 περίπου και είναι πολυάριθμοι στη στοματική κοιλότητα, ιδίως στη μαλθακή υπερώα<sup>23</sup>.



**Εικόνα 12:** Ελάσσονες σιελογόνοι αδένες στην περιοχή της υπερώας<sup>17</sup>.

## 4. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Οι σιελογόνοι αδένες είναι εξωκρινείς αδένες, οι οποίοι παράγουν τη σίελο. Η σίελος είναι ένα ελαφρώς όξινο οροβλεννώδες υγρό, που είναι κρίσιμο στη διατήρηση της στοματικής υγείας.

Η μέση ημερήσια παραγωγή σιέλου φυσιολογικά είναι μεταξύ 1.000- 1.500 ml. Ο υπογνάθιος παράγει το 70%, η παρωτίδα το 25% και ο υπογλώσσιος με τους ελάσσονες σιαλογόνους αδένες το 5% περίπου. Τα ποσοστά αυτά διαφοροποιούνται όταν διεγείρεται η παραγωγή της σιέλου, με την παρωτίδα να συμμετέχει στην παραγωγή της με ποσοστό άνω του 50%<sup>30</sup>.

Η σίελος αποτελείται από ένα πλήθος ηλεκτρολυτών, όπως νάτριο, κάλιο, ασβέστιο, μαγνήσιο, διττανθρακικά και φωσφορικά άλατα. Στη σίελο εντοπίζονται επίσης ανοσοσφαιρίνες, πρωτεΐνες, ένζυμα, βλεννίνες και αζωτούχα παράγωγα, όπως η ουρία και η αμμωνία. Τα παραπάνω στοιχεία αλληλοεπιδρούν στις διάφορες λειτουργίες της σιέλου. Τα διττανθρακικά, τα φωσφορικά άλατα και η ουρία ρυθμίζουν το pH της στοματικής κοιλότητας. Οι πρωτεΐνες και οι βλεννίνες προσκολλώνται και εξουδετερώνουν παθογόνους μικροοργανισμούς και συμβάλλουν στο μεταβολισμό της οδοντικής πλάκας. Το ασβέστιο, τα φωσφορικά άλατα και οι πρωτεΐνες ρυθμίζουν το μεταβολισμό του ασβεστίου στους οδόντες και αντιμετωπίζουν την αφαλάτωση και απασβέστωση τους. Οι ανοσοσφαιρίνες, οι πρωτεΐνες και τα ένζυμα έχουν αντιβακτηριδιακή δράση<sup>31</sup>.

Η σίελος είναι ένα πολύ αραιό διάλυμα, το οποίο αποτελείται από νερό σε ποσοστό άνω του 99%. Η σίελος δεν είναι ένα υπερδιήθημα του πλάσματος. Αρχικά η σίελος είναι ισοτονική, όπως σχηματίζεται στις αδενοκυψέλες, αλλά γίνεται υπότονη καθώς ταξιδεύει κατά μήκος του δικτύου των πόρων των σιελογόνων αδένων. Το γεγονός ότι η σίελος γίνεται υπότονη επιτρέπει στους γευστικούς κάλυκες να διακρίνουν τις διάφορες γεύσεις χωρίς αυτές να καλύπτονται από τα επίπεδα νατρίου που υπάρχουν στο πλάσμα. Η υποτονία της σιέλου επιτρέπει επίσης την ενυδάτωση των γλυκοπρωτεϊνών της βλεννίνης, οι οποίες καλύπτουν το στοματικό βλεννογόνο<sup>32</sup>. Σε φάση ηρεμίας, τα χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης, διττανθρακικών και ουρίας αυξάνουν το υπότονο περιβάλλον, βελτιώνοντας τη γεύση.

Το φυσιολογικό pH της σιέλου είναι 6 με 7, με αποτέλεσμα να είναι ελαφρώς όξινη. Οι μείζονες σιελογόνοι αδένες συνεισφέρουν περισσότερο στον όγκο της σιέλου



που εκκρίνεται και στην παρουσία ηλεκτρολυτών, ενώ οι ελάσσονες σιελογόνοι αδένες δεν συνεισφέρουν ιδιαίτερα στον όγκο, αλλά κυρίως εκκρίνουν ουσίες που προέρχονται από το πλάσμα αίματος<sup>30</sup>.

Οι λειτουργίες της σιέλου μπορούν να οργανωθούν σε πέντε κύριες κατηγορίες, οι οποίες βοηθούν στη διατήρηση της στοματικής υγείας: (1) λίπανση και προστασία, (2) κάθαρση, (3) διατήρηση της ακεραιότητας των οδόντων, (4) αντιβακτηριδιακή δράση και (5) γεύση και πέψη<sup>33</sup>.

Ως ένα οροβλενωδες στρώμα, η σιέλος λιπαίνει και προστατεύει τους ιστούς της στοματικής κοιλότητας, δρώντας ως ένας φραγμός ενάντια στους ερεθιστικούς παράγοντες. Οι ερεθιστικοί παράγοντες είναι τα πρωτεολυτικά και υδρολυτικά ένζυμα, που παράγονται από την οδοντική πλάκα, δυνητικά καρκινογόνες ουσίες από το κάπνισμα και τα εξωγενή χημικά και η αφυδάτωση από τη στοματική αναπνοή. Οι καλύτερες λιπαντικές ουσίες της σιέλου είναι οι βλεννίνες, οι οποίες εκκρίνονται από τους ελάσσονες σιελογόνους αδένες. Οι βλεννίνες είναι πολύπλοκα πρωτεϊνικά μόρια, τα οποία σχηματίζονται από πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συνδέονται μεταξύ τους. Αυτές οι ουσίες έχουν ιδιαίτερες ιδιότητες, όπως χαμηλή διαλυτότητα, υψηλό ιξώδες, υψηλή ελαστικότητα και ισχυρή συνοχή. Η μάσηση, η ομιλία και η κατάποση βοηθούνται από τη λιπαντική δράση της βλεννίνης<sup>34</sup>. Σημαντικές λειτουργίες της σιέλου είναι η διαβροχή των τροφών, ώστε η τροφή να γίνεται εύπλαστη και ημιπολτώδης, και η εφύγρανση του στοματικού βλεννογόνου, ώστε αυτός να είναι υγρός και ολισθηρός. Η πολτοποίηση των τροφών με τη βοήθεια του σάλιου διευκολύνεται η γεύση, η κατάποση και η πέψη. Το κυριότερο πεπτικό ένζυμο της σιέλου είναι η αμυλάση, η οποία υδρολύει τους πολυσακχαρίτες (άμυλο, δελτρίνες, γλυκαγόνο) και τους διασπά σε μαλτόζη και γλυκόζη.

Η κάθαρση της στοματικής κοιλότητας είναι μία καθοριστική λειτουργία της σιέλου. Η σιέλος απομακρύνει βλαβερές ουσίες από τη στοματική κοιλότητα και προστατεύει τα δόντια με την έκπλυση των υπολειμμάτων των τροφών και τα ούλα με την ελάττωση της τριβής στη μάσηση. Επίσης, βοηθά στη διατήρηση του όξινου περιβάλλοντος της στοματικής κοιλότητας και προφυλάσσει από την τερηδόνα<sup>35</sup>.

Μία ακόμη σημαντική λειτουργία της σιέλου είναι η αντιβακτηριδιακή της δράση, ελέγχοντας το βακτηριακό αποικισμό στη στοματική κοιλότητα. Οι σιελογόνοι αδένες είναι εξωκρινείς αδένες, που εκκρίνουν ανοσολογικούς και μη ανοσολογικούς παράγοντες για την προστασία των οδόντων και του στοματικού βλεννογόνου. Οι ανοσολογικοί παράγοντες είναι οι ανοσοσφαιρίνες, όπως η IgA, η IgG και η IgM. Ενώ,

οι μη ανοσολογικοί παράγοντες είναι ειδικές πρωτεΐνες, πεπτίδια και ένζυμα<sup>36,37</sup>.

Η παραγωγή του σάλιου δεν είναι σταθερή και εξαρτάται από ένα πλήθος παραγόντων. Η έκκριση είναι χαμηλή κατά τη διάρκεια του ύπνου και πολύ υψηλή κατά τη σίτιση. Η παραγωγή της σιέλου διαφοροποιείται μεταξύ ανδρών και γυναικών, με τις γυναίκες να παράγουν περίπου το 70% της συνολικής παραγωγής των ανδρών. Η έκκριση σιέλου μπορεί να μειωθεί σε ανθρώπους μεγαλύτερης ηλικίας<sup>38</sup>. Επομένως, παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, η ανατολή των οδόντων, η ώρα που γίνεται η μέτρηση, η ιδιοσυγκρασία του ατόμου, η ψυχική κατάσταση, η σκέψη, η θέα, η οσμή, η γεύση, η μάσηση, η πέψη, το είδος της τροφής, η άσκηση, το κάπνισμα, η θερμοκρασία περιβάλλοντος, ο φωτισμός, ο ωθητικός κύκλος και η λήψη διαφόρων φαρμάκων επηρεάζουν την παραγωγή του σάλιου.

Αναφορικά με τη σύσταση του σάλιου, διακρίνουμε δύο είδη πρωτογενούς εκκρίματος, το ορώδες και το βλεννώδες. Το ορώδες έκκριμα παράγεται κυρίως από την παρωτίδα και είναι πλούσιο σε πτυαλίνη (αμυλάση), η οποία είναι ένζυμο για την πέψη των αμύλων. Το βλεννώδες έκκριμα αποτελείται από τη βλέννη που έχει κύρια λειτουργία τη λίπανση<sup>39</sup>.

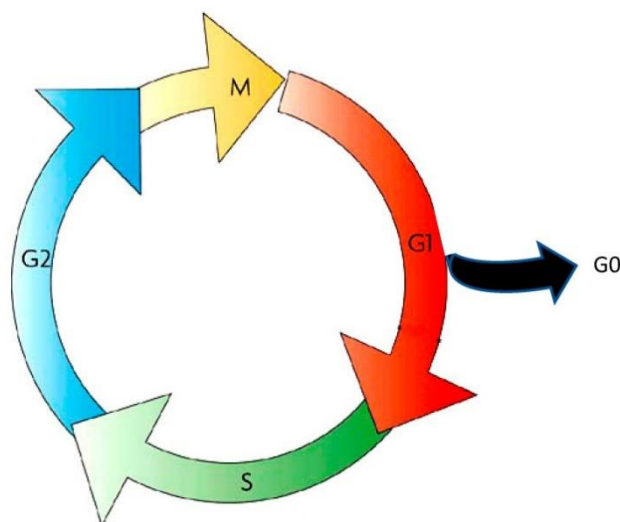
Η ρύθμιση της ποσότητας και της ποιότητας του εκκρίματος γίνεται μέσω της νεύρωσης των σιαλογόνων αδένων από το συμπαθητικό και παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα. Η βασική έκκριση ηρεμίας θεωρείται ότι οφείλεται σε αυτόματη δραστηριότητα των σιαλικών πυρήνων, ενώ οι διακυμάνσεις της έκκρισης σε αυξομειώσεις του τόνου υπό την επίδραση ερεθισμάτων. Οι προαγγλιακές νευρικές ίνες του συμπαθητικού και του παρασυμπαθητικού διεγείρουν τα γαγγλιακά κύτταρα με απελευθέρωση ακετυλοχολίνης. Οι μετααγγλιακές παρασυμπαθητικές ίνες απελευθερώνουν ακετυλοχολίνη, ενώ οι συμπαθητικές νορεπινεφρίνη<sup>40</sup>.

Η παραγωγή της σιέλου επηρεάζεται από υποκείμενα νοσήματα. Ως σιαλόρροια ή ξηροστομία χαρακτηρίζονται οι έκδηλες, μεγάλης διάρκειας αποκλίσεις, με τη μορφή της αύξησης ή της ελάττωσης αντίστοιχα του παραγόμενου εκκρίματος. Ενίοτε, η σιαλόρροια είναι η εκροή σάλιου από τη στοματική κοιλότητα που οφείλεται όχι σε υπερπαραγωγή σάλιου, αλλά σε αδυναμία κατάποσής του, λόγω κάποιας πάθησης. Η ξηροστομία είναι συνήθως παρενέργεια κάποιων φαρμάκων και συναντάται συχνότερα σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας<sup>41</sup>. Οι πιο σοβαρές μορφές ξηροστομίας απαντώνται σε ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου, οι οποίοι έχουν υποβληθεί σε ακτινοθεραπεία της περιοχής, και σε ασθενείς με σύνδρομο Sjogren<sup>42</sup>. Άλλες παθήσεις που επηρεάζουν την παραγωγή και σύσταση του σάλιου είναι η

κυστική ίνωση, η υπέρταση, η χρόνια παγκρεατίτιδα και ο σακχαρώδης διαβήτης<sup>43,44</sup>.

## 5. ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Τα κύτταρα του οργανισμού μας έχουν μία καθορισμένη διάρκεια της ζωής, η οποία υπόκειται σε ακριβείς ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι αρκετά πολύπλοκοι και αφορούν μία αλληλουχία γεγονότων που ονομάζεται «κυτταρικός κύκλος»<sup>45</sup>. Ο κυτταρικός κύκλος διαιρείται σε τέσσερις φάσεις (εικόνα 13). Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει η φάση S (synthesis) όπου γίνεται ο διπλασιασμός του γενετικού υλικού, η φάση M (mitosis) στην οποία λαμβάνει χώρα η κυτταρική διαίρεση, η φάση G1 που προηγείται της φάσης S και η φάση G2 που προηγείται της φάσης M. Η φάση G0 είναι μια φάση ηρεμίας, κατά την οποία τα κύτταρα δεν διαιρούνται.



*Εικόνα 13: Οι τέσσερις φάσεις του κυτταρικού κύκλου σε όλα τα ευκαριωτικά κύτταρα<sup>46</sup>.*

Ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου βρίσκεται σε δύο σημεία του κυτταρικού κύκλου. Το πρώτο σημείο είναι στη φάση G1, όπου λαμβάνεται η απόφαση για είσοδο στη φάση S και αντιγραφή του γενετικού υλικού. Το δεύτερο σημείο είναι στο τέλος της φάσης G2, όπου λαμβάνεται η απόφαση για είσοδο στη φάση S και μιτωτική διαίρεση του κυττάρου. Εξάιρεση αποτελούν τα καρκινικά κύτταρα, στα οποία έχει χαθεί ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου, με αποτέλεσμα να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα<sup>47</sup>.

Τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από την απώλεια ρύθμισης της ανάπτυξης και της διαίρεσης τους, με αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των

κυττάρων αυτών. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως η μειωμένη ανάγκη σε αυξητικούς παράγοντες, η αντίσταση σε αναστολές της αύξησης, η αποφυγή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός, η αγγειογένεση, η ικανότητα για μετάσταση<sup>48</sup>. Οι αλλαγές που λαμβάνουν χώρα σε ένα καρκινικό κύτταρο συνοψίζονται σε τρεις κατηγορίες. Αυτές είναι: η αθανатоποίηση, δηλαδή η ιδιότητα της συνεχούς και ανεξέλεγκτης διαίρεσης του κυττάρου, ο μετασχηματισμός, δηλαδή η έλλειψη των φυσιολογικών περιορισμών αύξησης, και η μετάσταση, δηλαδή η ικανότητα των κυττάρων να μεταναστεύουν από την πρωτοπαθή εστία σε κάποια διαφορετική εντόπιση στον οργανισμό<sup>49</sup>. Επομένως, τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσονται ανεξάρτητα από τους φυσιολογικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς.

## 6. ΑΔΕΝΟΚΥΣΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

### 6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι ένας σπάνιος όγκος, που αποτελεί περίπου το 1% του συνόλου των κακοηθειών στην κεφαλή και στον τράχηλο και περίπου το 10% του συνόλου των όγκων των σιελογόνων αδένων<sup>50</sup>. Το καρκίνωμα αυτό εμφανίζεται με μία ετήσια επίπτωση 3-4,5 περιστατικών ανά εκατομμύριο<sup>51</sup>. Είναι ο συχνότερος κακοήθης όγκος των ελάσσονων σιελογόνων αδένων και είναι επίσης ένας από τους συχνότερους καρκίνους των μείζονων σιελογόνων αδένων (του παρωτιδικού, υπογνάθιου και υπογλωσσίου σιελογόνου αδένου)<sup>52</sup>. Το αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορεί επίσης να εμφανιστεί στους δακρυϊκούς και κυψελιδοποιούς αδένες, όπως και σε άλλες εντοπίσεις στην κεφαλή και στον τράχηλο, συμπεριλαμβανομένης της ρινικής κοιλότητας και των παραρρινίων κόλπων, της τραχείας και του λάρυγγα<sup>53</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα περιεγράφηκε για πρώτη φορά από τους Robin, Lorain και Laboulbene, σε δύο άρθρα δημοσιευμένα το 1853 και 1854 αναφερόμενα σε έναν παρωτιδικό και δύο ρινικούς όγκους<sup>53</sup>. Αυτοί οι συγγραφείς περιέγραψαν την χαρακτηριστική ηθμοειδή διάταξη των καρκινικών κυττάρων στο μικροσκόπιο και παρατήρησαν την εισβολή του όγκου σε γειτονικές δομές και την εξάπλωσή του κατά μήκος των νεύρων<sup>54</sup>. Το 1856 ο Billroth πρότεινε τον όρο «κυλίδρωμα» για αυτόν τον όγκο, ενώ το σημερινό όνομα του αδενοκυστικού καρκινώματος προτάθηκε από τον Spies το 1930. Παρά τις αρχικές παρατηρήσεις του Robin, ο όγκος αυτός θεωρήθηκε ως μία παραλλαγή του καλοήθους μικτού όγκου. Η κακοήθης φύση αυτού του όγκου καθιερώθηκε τελικά από τους Dockerty και Mayo το 1943<sup>55</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι ένας όγκος, ο οποίος χαρακτηρίζεται από αργή αλλά σταθερή ανάπτυξη, περινευρική διήθηση και πολλαπλές τοπικές υποτροπές. Οι τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις θεωρούνται σπάνιες, ωστόσο αυτές μπορεί να υποδιαγιγνώσκονται λόγω δυνητικά κρυφών, κλινικά μη ανιχνεύσιμων τραχηλικών μεταστάσεων και λόγω λεμφαδενικών καθαρισμών στον τράχηλο που διενεργούνται σπάνια. Στον αντίποδα, οι αιματογενείς μεταστάσεις είναι συχνές, κυρίως στους πνεύμονες, στα οστά και στο ήπαρ<sup>54,56</sup>.

Κλινικά, το αδενοκυστικό καρκίνωμα θεωρείται ένα υψηλού σταδίου νεόπλασμα και επομένως η θεραπεία εκλογής είναι η ριζική χειρουργική εξαίρεση του όγκου, η

οποία στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ακολουθείται από μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία<sup>57,58</sup>. Η χημειοθεραπεία, τόσο η κυτταροτοξική χημειοθεραπεία όσο και οι στοχευμένες μοριακές θεραπείες, έχουν μελετηθεί εκτενώς σε ασθενείς με προχωρημένο αδενοκυστικό καρκίνωμα, αλλά η σχετικά αργή πορεία της νόσου κάνει δύσκολη την παρατήρηση της κλινικής απάντησης στις θεραπείες<sup>59</sup>.

Στα πλαίσια του μη θεραπεύσιμου αδενοκυστικού καρκινώματος, τα οφέλη και οι κίνδυνοι της θεραπείας πρέπει να σταθμίζονται προσεκτικά, καθώς η ανακουφιστική χημειοθεραπεία για αυτή τη συχνά αργής ανάπτυξης κακοήθεια μπορεί να συνδέεται με τοξικότητα χωρίς γνωστή επίδραση στην πορεία της νόσου και στην πρόγνωση των ασθενών<sup>60</sup>. Συνεπώς, κάποιοι συμπτωματικοί ασθενείς με μη θεραπεύσιμη νόσο μπορεί να παρακολουθούνται χωρίς θεραπευτική αγωγή, ενίοτε για χρόνια, ενώ η χημειοθεραπεία συστήνεται γενικά όταν οι ασθενείς είναι συμπτωματικού και παρουσιάζουν νόσο με ταχεία εξέλιξη<sup>61</sup>.

## 6.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα εντοπίζεται συχνότερα στην παρωτίδα, στον υπογνάθιο και στους ελάσσονες σιελογόνους αδένες. Μία μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη από τη Δανία έδειξε ότι το αδενοκυστικό καρκίνωμα ευθύνεται για το 27,9% της συνολικής επίπτωσης των καρκίνων των σιελογόνων αδένων (11/1.000.000/έτος), που αντιστοιχεί σε μία ετήσια επίπτωση 3/1.000.000/έτος<sup>57</sup>. Στη Νέα Σκωτία, η ετήσια επίπτωση ανέρχεται σε 4,5/1.000.000/έτος<sup>62</sup>. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι αυτές οι εκτιμήσεις αναφορικά με την επίπτωση του αδενοκυστικού καρκινώματος είναι βέβαιο ότι επηρεάζονται από την πρόκληση της ιστολογικής διάγνωσης των καρκίνων των σιελογόνων αδένων<sup>63</sup>. Ο ηθμοειδής υποτύπος αναγνωρίζεται εύκολα, ωστόσο οι υπόλοιποι υποτύποι μπορεί να είναι λιγότερο αναγνωρίσιμοι σε μη ειδικούς, επομένως οι επιδημιολογικές μελέτες των καρκίνων των σιελογόνων αδένων πρέπει να λαμβάνουν υπόψη το κέντρο από το οποίο τα δεδομένα συλλέγονται.

Η επίπτωση του αδενοκυστικού καρκινώματος ανάμεσα στους κακοήθεις όγκους των σιελογόνων αδένων διαφοροποιείται ανάλογα με την εντόπιση του πρωτοπαθούς όγκου. Σε μία ολλανδική εθνική μελέτη για το καρκίνωμα της παρωτίδας, το αδενοκυστικό καρκίνωμα ήταν το πιο συχνό παθολογοανατομικό εύρημα, αντιστοιχώντας σε ένα κάθε έξι παρωτιδικά καρκινώματα<sup>64</sup>. Η πιθανότητα αδενοκυστικού καρκινώματος είναι ακόμα μεγαλύτερη στον υπογνάθιο αδένα, όπου αντιστοιχεί στο 40% των καρκίνων των σιελογόνων αδένων<sup>65</sup>. Το αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι ο πιο συχνός καρκίνος στους ελάσσονες σιελογόνους αδένες, όπου η επίπτωσή του κυμαίνεται από 32% έως 71%. Στους ελάσσονες σιελογόνους αδένες, το αδενοκυστικό καρκίνωμα εντοπίζεται συχνότερα στην υπερώα, ακολούθως στους παραρρίνιους κόλπους (14-17%) και σε άλλες εντοπίσεις στη στοματική κοιλότητα<sup>66</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα εμφανίζεται σε ασθενείς κάθε ηλικίας με μια αυξημένη συχνότητα σε μέσης και μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς<sup>67</sup>. Η πέμπτη και έκτη δεκαετία ζωής πλήττεται συχνότερα<sup>68</sup>. Δεν έχει βρεθεί κάποιος ιδιαίτερος προδιαθεσικός παράγοντας κινδύνου και το κάπνισμα δεν φαίνεται να επηρεάζει την επίπτωση της νόσου<sup>69</sup>.



### 6.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα χαρακτηρίζεται μία φαινομενικά αργή κλινική πορεία. Εντούτοις έχει μία επιθετική μακροχρόνια κλινική πορεία με διαρκή και υποτροπιάζουσα ανάπτυξη και όψιμη εμφάνιση μεταστάσεων με αποτέλεσμα συχνά το θάνατο<sup>68</sup>. Περιγράφεται ως ένας από τους πιο καταστρεπτικούς και απρόβλεπτους όγκους της κεφαλής και του τραχήλου<sup>70</sup>.

Το πιο συχνό αρχικό σύμπτωμα είναι μία αργά αναπτυσσόμενη μάζα. Επίσης, οι ασθενείς αναφέρουν άλγος, που αποδίδεται στην τάση του καρκινώματος για περινευρική διήθηση. Η σχέση μεταξύ άλγους, δυσλειτουργίας προσωπικού νεύρου και μικροσκοπικής περινευρικής διήθησης υπογραμμίσθηκε σε μία σειρά ασθενών με καρκίνο παρωτίδας του ολλανδικού ινστιτούτου καρκίνου (Netherlands' Cancer Institute), όπου η πλειοψηφία των ασθενών με αυτά τα χαρακτηριστικά είχε αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>71</sup>. Σε μία μελέτη του Nascimento, το 98% των ασθενών ανέφερε μία μάζα, το 48% είχε άλγος, το 30% είχε εξέλκωση και ένας ασθενής είχε παράλυση του προσωπικού νεύρου<sup>67</sup>. Αυτά τα συμπτώματα είχαν παρουσιαστεί από ένα μήνα έως τέσσερα έτη. Τα συμπτώματα του αδενοκυστικού καρκινώματος διαφοροποιούνται σύμφωνα με την εντόπιση της νόσου. Στους μείζονες σιελογόνους αδένες, ο όγκος δημιουργεί μία μάζα, η οποία όταν εντοπίζεται στην παρωτίδα, μπορεί να παρουσιαστεί πάρεση του προσωπικού νεύρου. Στην υπερώα, η εμφάνιση μίας μάζας είναι συνήθης, ωστόσο εξέλκωση ή ακόμα και στοματοκολπικό συρίγγιο μπορούν να εμφανιστούν. Στο λάρυγγα, η δύσπνοια μπορεί να είναι το πρώτο σύμπτωμα, λόγω απόφραξης του αεραγωγού από τον όγκο. Στη ρινική κοιλότητα και στους παραρρινίους κόλπους, η ρινική απόφραξη, η προσωπαλγία, οι επιστάξεις και τα οφθαλμικά συμπτώματα είναι στην πρώτη γραμμή<sup>72</sup>. Σε μία μεγάλη μελέτη του Perez, έγινε περιγραφή της κλινικής εικόνας 129 ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου<sup>73</sup>. Αυτοί οι ασθενείς παρουσίασαν σκληρή διόγκωση (92,1%), άλγος (59,8%), παραισθησία (12,6%) και ρινική συμφόρηση (11,8%).

## 6.4 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

### Ατομικό αναμνηστικό και κλινική εξέταση

Σε περίπτωση μίας διόγκωσης στην παρωτίδα ή στον υπογνάθιο σιελογόνο αδένα, είναι αναγκαία η λήψη λεπτομερούς ατομικού αναμνηστικού σχετικά με την έναρξη των συμπτωμάτων και την ταχύτητα ανάπτυξης της διόγκωσης. Εν συνεχεία, η προσεκτική κλινική εξέταση μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση μίας φλεγμονώδους νόσου από έναν όγκο. Συστήνεται να αναζητούμε πιθανές δερματικές ουλές στο τριχωτό της κεφαλής, στο πρόσωπο και στο έξω ους, σαν αποτέλεσμα χειρουργικής εκτομής κάποιου δερματικού καρκινώματος ή μελανώματος στο παρελθόν. Τοπική ευαισθησία στη ψηλάφηση μπορεί να είναι σύμπτωμα ενός αδενοκυστικού καρκινώματος, ακόμη και εάν απουσιάζουν άλλα πιο χαρακτηριστικά κλινικά σημεία ενδεικτικά κακοήθειας, όπως η σύμφυση σε γειτονικές δομές, η πάρεση ή παράλυση κάποιου νευρικού κλάδου, η παρουσία τραχηλικής λεμφαδενοπάθειας. Ένα αδενοκυστικό καρκίνωμα, που αναπτύσσεται στους ελάσσονες σιελογόνους αδένες σχεδόν πάντα παρουσιάζεται σαν μία ασυμπτωματική υποβλεννογόνια μάζα<sup>74</sup>.

### Απεικονιστικός έλεγχος

Ο υπερηχογραφικός έλεγχος έγχρωμο Doppler αποτελεί μία ασφαλή, χρήσιμη και οικονομική μέθοδο απεικόνισης μαζών στους σιελογόνους αδένες. Ωστόσο, η διαγνωστική του ακρίβεια στη διάκριση κακοηθών από καλοήθεις όγκους δεν φτάνει σε ένα επιθυμητό διαγνωστικό επίπεδο<sup>75</sup>.

Όπως σε όλα τα καρκινώματα των σιελογόνων αδένων, η προεγχειρητική απεικόνιση του αδενοκυστικού καρκινώματος περιλαμβάνει την αξονική τομογραφία (CT) και/ή τη μαγνητική τομογραφία (MRI). Αυτή επιτρέπει την εκτίμηση της εξάπλωσης της νόσου, η οποία είναι κρίσιμη για τον σωστό χειρουργικό σχεδιασμό. Είναι κοινά αποδεκτό ότι η CT είναι καταλληλότερη στον προσδιορισμό της οστικής διήθησης, ενώ η MRI είναι ανώτερη στην αξιολόγηση της επέκτασης του όγκου στα μαλακά μόρια<sup>76</sup>.

Στην περίπτωση που, κατά την κλινική εξέταση του ασθενούς, προκύψουν ενδείξεις δυσλειτουργίας κάποιου αισθητικού (άλγος ή παραισθησία) ή κινητικού (πάρεση ή παράλυση) νεύρου, κρίνεται αναγκαία ο απεικονιστικός έλεγχος με MRI για εκτίμηση των αντίστοιχων νεύρων. Σε μελέτη του Hanna και συνεργατών,

αξιολογήθηκε η ευαισθησία και εξειδίκευση της CT και MRI στην ανίχνευση της περινευρικής διήθησης στην περιοχή της βάσης του κρανίου και κατέληξαν ότι η MRI είναι σαφώς ανώτερη της CT για αυτόν το σκοπό<sup>77</sup>.

Ο κύριος ρόλος της Τομογραφίας Εκπομπής Ποζιτρονίων (Positron Emission tomography- 18F-FDG PET), κατά προτίμηση σε συνδυασμό με CT, είναι ο αποκλεισμός της μεταστατικής νόσου στους καρκίνους της περιοχής της κεφαλής και του τραχήλου και πιο συγκεκριμένα στους καρκίνους των σιελογόνων αδένων και στο αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>78</sup>. Μία μελέτη του Roh και συνεργατών του, στην οποία διερεύνησαν το ρόλο της 18F-FDG PET στη διαχείριση των ασθενών με καρκίνους των σιελογόνων αδένων, έδειξε ότι είναι χρήσιμη στην αρχική σταδιοποίηση και στην παρακολούθηση μετά τη θεραπεία<sup>79</sup>. Ωστόσο, η 18F-FDG PET δεν είναι χρήσιμη στο να αποκλείσει απομακρυσμένες μεταστάσεις στις περιπτώσεις που ο πρωτοπαθής όγκος δεν παρουσιάζει αυξημένη πρόσληψη της fluorodeoxyglucose (FDG), μία κατάσταση που δεν είναι σπάνια στο αδενοκυστικό καρκίνωμα. Επιπροσθέτως, τα αδενοκυστικά καρκινώματα που παρουσιάζουν χαμηλή πρόσληψη της FDG μπορεί να αποκρυφθούν από τη φυσιολογική πρόσληψη της FDG από τους σιελογόνους αδένες. Αντιστρόφως, οι σιελογόνοι αδένες συχνά πάσχουν από φλεγμονώδεις διεργασίες όπου η αυξημένη πρόσληψη της FDG μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα.

### **Βιοψία δια λεπτής βελόνης (FNAB) και βιοψία δια κόπτουσας βελόνης (CB)**

Η κυτταρολογική εξέταση υλικού εξ αναρροφήσεως δια λεπτής βελόνης (fine-needle aspiration biopsy, FNAB) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση του αδενοκυστικού καρκινώματος<sup>53</sup>. Η αποκάλυψη μεγάλων σφαιριδίων εξωκυτταρικής μάτριγας, που μερικώς περιβάλλεται από βασικά κύτταρα, υποδεικνύει την παρουσία του<sup>80</sup>. Το αναρροφηθέν υλικό έχει καρκινικά κύτταρα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα και σφαιρικούς, συμμετρικούς πυρήνες σε στρώματα και συμπλέγματα. Αυτά τα γνωρίσματα από μόνα τους δεν είναι χαρακτηριστικά και μάλιστα είναι τόσο ήπια που μπορεί να υποδεικνύουν μία καλοήγη νόσο. Εντούτοις, το εύρημα των καλά καθοριζόμενων, σφαιρικών «κυλίνδρων» και/ή σφαιρών ακυτταρικού στρώματος που συνυπάρχει με αυτά τα κύτταρα είναι τυπικό, αλλά όχι 100% ειδικό, για το αδενοκυστικό καρκίνωμα. Τα κύτταρα συχνά προσκολλώνται σε αυτές τις σφαιρικές δομές. Η διάγνωση καρκίνων των σιελογόνων αδένων με FNAC είναι εξαιρετικά δύσκολη και προκύπτουν συχνά ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

Η βιοψία δια κόπτουσας βελόνης υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση (ultrasound-guided core biopsy, USCB) χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στον προεγχειρητικό έλεγχο των όγκων των σιελογόνων αδένων. Η εξέταση πραγματοποιείται με τοπική αναισθησία υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση με κόπτουσα βελόνη 20-17 G<sup>81</sup>. Με τη μέθοδο αυτή λαμβάνουμε ένα μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος για ανάλυση από τη μέθοδο FNAC, γεγονός που μειώνει το ποσοστό των ακατάλληλων δειγμάτων. Ωστόσο, κάποιες μελέτες αναφέρουν ότι η χρήση βελόνων μεγάλης διαμέτρου συνδέεται με τη διασπορά του καρκίνου κατά μήκος της πορείας της παρακέντησης<sup>82</sup>. Επιπροσθέτως, η USCB είναι δυσκολότερη κατά την εκτέλεσή της, ακριβότερη και πιο χρονοβόρα εξέταση από την FNAC. Η FNAC πρέπει να συνεχίσει να είναι η εξέταση εκλογής για τους όγκους των σιελογόνων αδένων, αφήνοντας την USCB για τις περιπτώσεις στις οποίες ο ασθενής δεν μπορεί να χειρουργηθεί ή μετά από επαναλαμβανόμενες αποτυχίες της FNAC να δώσει μία διάγνωση<sup>83</sup>.

Σε αυτό το σημείο αξίζει να τονιστεί ότι η ιστοπαθολογική διάγνωση παραμένει ο «χρυσός κανόνας» (“gold standard”) για τη διάγνωση του αδενοκυστικού καρκινώματος<sup>53</sup>. Αυτή η εξέταση είναι αναγκαία για την τελική διάγνωση, αλλά και για τον καθορισμό των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών κάθε όγκου.

## 6.5 ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ

Τα αδενοκυστικά καρκινώματα είναι συνήθως συμπαγείς, χρώματος ανοικτού καφέ, στερεοί και καλώς περιεγραμμένοι, χωρίς κάψα, όγκοι. Προέρχονται από το αδενικό επιθήλιο των σιελογόνων αδένων με παρουσία επιθηλιακών και μυοεπιθηλιακών κυττάρων<sup>84</sup>.

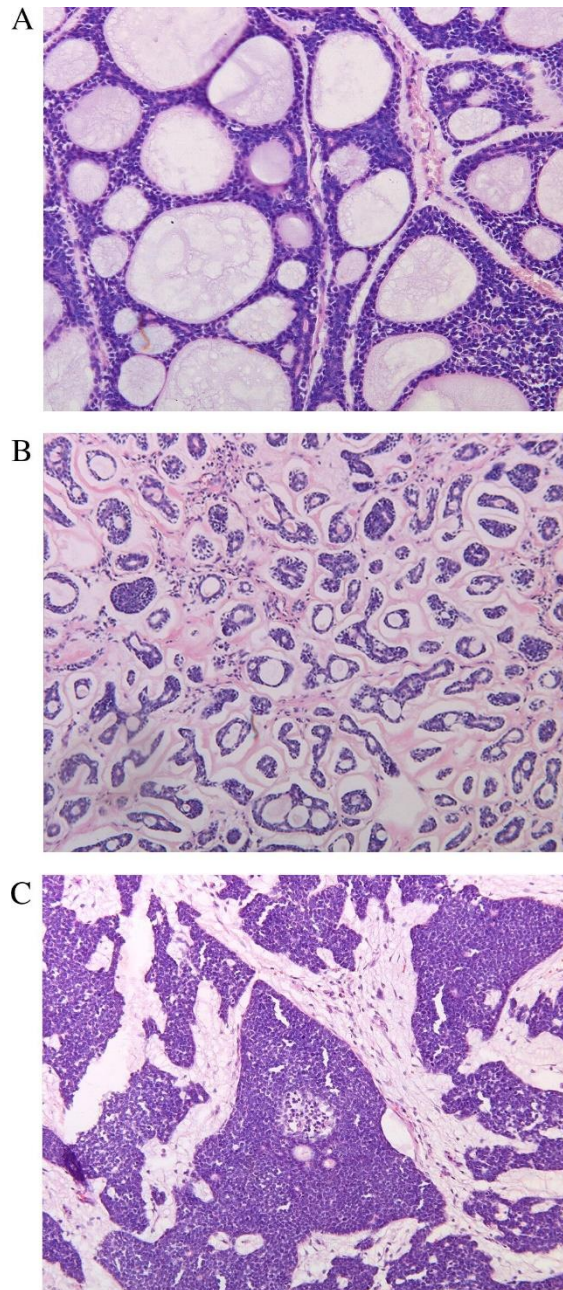
Τα κύτταρα στο αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι εμφανώς βασικά στην εμφάνιση, με λίγο κυτταρόπλασμα και σφαιρικούς ή ωοειδείς πυρήνες, οι οποίοι είναι σκούροι και υπερχρωματικοί χωρίς πυρήνια. Επίσης συνήθως υπάρχει μία στεφάνη από δυσδιάκριτα μυοεπιθηλιακά κύτταρα με διαυγές κυτταρόπλασμα<sup>85</sup>.

Μικροσκοπικά, αναγνωρίζονται τρία βασικά πρότυπα ανάπτυξης: ηθμοειδές, σωληνοειδές και συμπαγές<sup>86</sup>. Οι τρεις αυτοί υποτύποι προκύπτουν από την αρχιτεκτονική του όγκου και είναι σε άμεση συσχέτιση με την πρόγνωση και την κλινική συμπεριφορά του<sup>53</sup> (εικόνα 14).

Ο ηθμοειδής υποτύπος αποτελεί το κλασσικό και πιο εύκολα αναγνωρίσιμο πρότυπο ανάπτυξης. Φωλέες κυττάρων είναι διατεταγμένες γύρω από όμοιους, με αδενικούς χώρους που αποτελούνται από PAS-θετικό μπλε ή ρόδινο υλικό. Τα κύτταρα είναι διατεταγμένα σε συμπλέγματα με κενά ανάμεσα τους. Αρχιτεκτονικά, ο όγκος έχει τη δομή αδένα με τη χαρακτηριστική εικόνα « ελβετικού τυριού ».

Ο σωληνοειδής υποτύπος παρουσιάζει σωληνοειδείς δομές με ένα κεντρικό αυλό και επίσης έχει αρχιτεκτονική αδένα. Οι σωληνοειδείς δομές επικάθονται σε ένα ρόδινο, υαλώδες και υποκυτταρικό στρώμα.

Ο συμπαγής υποτύπος χαρακτηρίζεται από υψηλή πυκνότητα κυττάρων χωρίς να έχει δομή αδένα. Αποτελείται μόνο από σφαιρικά λοβία καρκινικών κυττάρων με λίγους (ή και καθόλου) σχηματισμούς που ομοιάζουν με αδενικούς. Ο υποτύπος αυτός δεν παρουσιάζει μία καθορισμένη αρχιτεκτονική.



*Εικόνα 14: (Α) Ηθμοειδής, (Β) σωληνοειδής και (C) συμπαγής υποτύπος αδενοκυστικού καρκινώματος<sup>87</sup>.*

Στο αδενοκυστικό καρκίνωμα τα κύτταρα είναι σχετικά ομοιόμορφα σε μέγεθος και έχουν χαμηλή μιτωτική δραστηριότητα, με εξαίρεση το συμπαγή τύπο, στον οποίο η μιτωτική δραστηριότητα κυμαίνεται από ελάχιστη μέχρι ιδιαίτερος εμφανής. Στις περισσότερες μελέτες, το συμπαγές πρότυπο ανάπτυξης σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση, προχωρημένο στάδιο και εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων<sup>88</sup>. Ασθενείς με τον συμπαγή ιστολογικό τύπο έχουν την χειρότερη πρόγνωση, ενώ αυτοί με τον ηθμοειδή τύπο έχουν την καλύτερη. Ασθενείς με τον σωληνοειδή υποτύπο έχουν ενδιάμεση πρόγνωση. Κάθε αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορεί να έχει στοιχεία από

όλους τους υποτύπους, γεγονός που αφήνει τον παθολογοανατόμο με την πρόκληση να αποφασίσει ποιος ιστολογικός τύπος επικρατεί.

Ο Szanto και οι συνεργάτες του πρότειναν ένα ιστολογικό σύστημα ταξινόμησης βασισμένο στο βαθμό του συμπαγούς προτύπου<sup>89</sup> (πίνακας 1). Προτάθηκαν τρεις βαθμοί. Ο βαθμός I, στον οποίο οι όγκοι έχουν σωληνοειδείς και ηθμοειδείς περιοχές, αλλά χωρίς συμπαγή στοιχεία. Ο βαθμός II, στον οποίο οι όγκοι έχουν ηθμοειδείς περιοχές, και οι οποίοι είναι χωρίς άλλα στοιχεία ή είναι μικτοί > 30% με συμπαγείς περιοχές. Τέλος, ο βαθμός III, στον οποίο οι όγκοι είναι κυρίως με συμπαγές πρότυπο. Αντίστοιχη ταξινόμηση προτάθηκε από τον Perzin και τους συνεργάτες του<sup>90</sup>.

Ο Spiro και οι συνεργάτες του πρότειναν ένα σύστημα ταξινόμησης (πίνακας 1), στο οποίο ο βαθμός I αντιστοιχεί σε όγκους με κυρίως σωληνοειδείς ή ηθμοειδείς περιοχές και σποραδικά συμπαγείς περιοχές. Ο βαθμός II αντιστοιχεί σε μικτούς όγκους με εκτεταμένες συμπαγείς περιοχές (>50%). Ο βαθμός III αντιστοιχεί σε όγκους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται μόνο από τον συμπαγή υποτύπο<sup>91</sup>.

Τα συστήματα ταξινόμησης για το αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορούν να διαφοροποιήσουν τους ασθενείς, οι οποίοι έχουν πτωχή πρόγνωση, βασιζόμενα στην αναλογία του συμπαγούς υποτύπου σε ένα όγκο. Ένας όγκος διαφοροποιείται σε χαμηλού και υψηλού βαθμού αδενοκυστικό καρκίνωμα. Στα συστήματα ταξινόμησης, που προτάθηκαν από τους Perzin και Szanto, ένα αδενοκυστικό καρκίνωμα θεωρείται ότι έχει πτωχή πρόγνωση, όταν περισσότερο από το 30% του όγκου αποτελείται από το συμπαγές πρότυπο. Στο σύστημα ταξινόμησης, που προτάθηκε από τον Spiro, ένας όγκος θεωρείται πτωχής πρόγνωσης, όταν περισσότερο από το 50% του όγκου αποτελείται από το συμπαγές πρότυπο<sup>87</sup>. Πιο συγκεκριμένα, χαμηλού βαθμού αδενοκυστικό καρκίνωμα θεωρούνται όγκοι βαθμού I και II, σύμφωνα με τα συστήματα Perzin / Szanto και βαθμού I, σύμφωνα με το σύστημα Spiro. Οι όγκοι, οι οποίοι είναι βαθμού III, σύμφωνα με τα συστήματα Perzin / Szanto και βαθμού II και III, σύμφωνα με το σύστημα Spiro, θεωρούνται υψηλού βαθμού. Σε αυτά τα συστήματα ταξινόμησης, δεν διευκρινίζεται το ποσοστό του όγκου, που είναι απαραίτητο να εξεταστεί.

Μία μελέτη του van Weert και συνεργατών του διερεύνησε την αποτελεσματικότητα ενός νέου συστήματος ιστοπαθολογικής ταξινόμησης (πίνακας 1), το οποίο βαθμολογεί την ύπαρξη του συμπαγούς υποτύπου στα παρασκευάσματα, ανεξαρτήτως από την ποσότητά του<sup>87</sup>. Το σύστημά τους παρουσίασε συγκρίσιμα αποτελέσματα με τα άλλα συστήματα ταξινόμησης, αναφορικά με την αναγνώριση των

ασθενών με πτωχή πρόγνωση. Η παρουσία του συμπαγούς υποτύπου, ανεξαρτήτως της αναλογίας του σε ένα παρασκεύασμα, φαίνεται να είναι ένας αρνητικός προγνωστικός παράγοντας. Οι συγγραφείς της μελέτης πρότειναν την αναφορά μονάχα της παρουσίας ή όχι του συμπαγούς υποτύπου, καθώς η προγνωστική αξία του είναι συγκρίσιμη με τα άλλα συστήματα ταξινόμησης.

**Πίνακας 1:** Συστήματα ιστοπαθολογικής σταδιοποίησης για το αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>87</sup>.

<b>Perzin / Szanto</b>	<b>Spiro</b>	<b>Van Weert</b>
I. κυρίως σωληνοειδές, όχι συμπαγές	I. Κυρίως σωληνοειδές ή ηθμοειδές, σποραδικά συμπαγές	I. Συμπαγές (κάθε αναλογίας)
II. κυρίως ηθμοειδές, <30% συμπαγές	II. Μικτό, κυρίως συμπαγές (>50%)	II. Όχι συμπαγές
III. > 30% συμπαγές	III. Μόνο συμπαγές	

Κατά την παθολογοανατομική εξέταση ενός χειρουργικού παρασκευάσματος, είναι ιδιαίτερα σημαντική η αναγνώριση της παρουσίας περινευρικής διήθησης. Η περινευρική διήθηση μπορεί να παρατηρηθεί ακόμα και σε όγκους αρχικού σταδίου και θεωρείται αρνητικός προγνωστικός παράγοντας, που συνδέεται με απομακρυσμένες μεταστάσεις και δυσμενή τελική έκβαση<sup>92</sup>.

Οι τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορούν να ανιχνευτούν ιστοπαθολογικά, όταν εκτελεστεί τραχηλικός λεμφαδενικός καθαρισμός κατά την χειρουργική αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου. Η μεταστατική νόσος στους τραχηλικούς λεμφαδένες είναι συνήθως μικρής έκτασης, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει γιατί η κλινική εξέταση και η απεικόνιση συχνά αποτυγχάνουν να την εντοπίσουν. Δυστυχώς, η γνώση της πραγματικής επίπτωσης των τραχηλικών λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι ελλιπής, διότι οι λεμφαδενικοί καθαρισμοί δεν εκτελούνται συχνά<sup>53</sup>.



## 6.6 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα θεωρείται ένα υψηλού βαθμού νεόπλασμα (high grade neoplasm). Η αντιμετώπιση του αδενοκυστικού καρκινώματος επηρεάζεται από την εντόπιση του όγκου, το στάδιο κατά τη διάγνωση και τη βιολογική συμπεριφορά που εκφράζεται στον ιστολογικό βαθμό κακοήθειας<sup>93</sup>. Ο «χρυσός κανόνας» στην αντιμετώπιση του αδενοκυστικού καρκινώματος, το οποίο θεωρείται δυνητικά εξαιρεσιμο μετά από λεπτομερή εξέταση, είναι η ριζική χειρουργική εκτομή, εξασφαλίζοντας ελεύθερα όρια, και η μετεγχειρητική ακτινοβολία<sup>53</sup>. Ο Mendenhall και συνεργάτες σύγκριναν την ακτινοθεραπεία ως μονοθεραπεία με την ακτινοθεραπεία συνδυασμένη με το χειρουργείο και συμπέραναν ότι η συνδυασμένη αντιμετώπιση είναι προτιμότερη<sup>94</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα έχει τάση να διηθεί γειτονικούς ιστούς, ειδικά μέσω περινευρικής διήθησης επομένως ακόμα και σε «εξαιρεσιμους» όγκους ο στόχος των «ελεύθερων ορίων» συχνά να μην επιτυγχάνεται. Η μερική εκτομή είναι συνήθως ένα πρόβλημα σε αδενοκυστικά καρκινώματα που εξορμούνται από εντοπίσεις με δύσκολη πρόσβαση. Αυτό υπογραμμίστηκε σε μία μελέτη που έδειξε ότι το 80% των αδενοκυστικών καρκινώματων στη βάση του κρανίου είχαν θετικά χειρουργικά όρια, παρά την προεγχειρητική εντύπωση έμπειρων χειρουργών ότι η εκτομή με ελεύθερα όρια θα ήταν δυνατή<sup>95</sup>.

Όταν το αδενοκυστικό καρκίνωμα εξορμάται από την παρωτίδα, το προσωπικό νεύρο πρέπει να διατηρηθεί εάν δεν έχει παραλύσει προεγχειρητικά και δεν διηθείται από τον όγκο στο χειρουργείο. Η μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία είναι μία αποτελεσματική συμπληρωματική θεραπεία για την υπολειπόμενη μικροσκοπική νόσο στο προσωπικό νεύρο<sup>96-98</sup>.

Λόγω χαμηλής επίπτωσης των κρυφών λεμφαδενικών μεταστάσεων, ο τραχηλικός λεμφαδενικός καθαρισμός εκτελείται μόνο σε περιπτώσεις κλινικά θετικών λεμφαδένων. Οι κλινικά προφανείς λεμφαδενικές μεταστάσεις δεν είναι συχνές στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, ειδικά σε πρωτοπαθείς όγκους της παρωτίδας. Ωστόσο, σε όγκους των ελάσσονων σιελογόνων αδένων η επίπτωση των θετικών λεμφαδένων φαίνεται υψηλότερη<sup>53</sup>. Ο Min και οι συνεργάτες του περιέγραψαν μία συνολική επίπτωση των τραχηλικών μεταστάσεων σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου της τάξης του 10%, το οποίο αποδίδεται κυρίως σε εντοπίσεις όπως η ρίζα της γλώσσας και το έδαφος του στόματος<sup>99</sup>. Αυτοί οι

συγγραφείς παρατήρησαν ότι η πρωτοπαθής εντόπιση του όγκου και λεμφαγγειακή διήθηση περίξ του όγκου σχετίζονται σε σημαντικό βαθμό με τις τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις. Σε αυτή τη βάση, ο εκλεκτικός λεμφαδενικός καθαρισμός συστήνεται για όγκους που παρουσιάζουν λεμφαγγειακή διήθηση. Παρατηρείται εντούτοις ότι η λεμφαγγειακή διήθηση είναι πιο πιθανό να εντοπιστεί ιστολογικά στο παρασκεύασμα παρά στις διαγνωστικές βιοψίες, οι οποίες αναμένεται να είναι μικρές όταν λαμβάνονται από ανατομικά «δύσκολες» εντοπίσεις. Ο Lee και οι συνεργάτες του πρόσφατα ανακοίνωσαν ότι 15,38% των ασθενών που υποβλήθηκαν σε εκλεκτικό λεμφαδενικό καθαρισμό είχαν κρυφές μεταστάσεις, και συνιστούν τη διενέργεια εκλεκτικού λεμφαδενικού καθαρισμού για σταδιοποίηση και επίτευξη καλύτερου τοποπεριοχικού ελέγχου<sup>100</sup>. Δεν είναι ξεκάθαρο εάν ο τοποπεριοχικός έλεγχος, ανεξαρτήτως της επιβίωσης, βελτιώνεται με τη διενέργεια εκλεκτικού λεμφαδενικού καθαρισμού σε αυτούς τους ασθενείς σε σύγκριση με τη στρατηγική της πρωτοπαθούς ακτινοθεραπείας των τραχηλικών λεμφαδένων. Για το αδενοκυστικό καρκίνωμα σε εντοπίσεις όπως ο υπογνάθιος αδένας, η παρωτίδα και ο λάρυγγας, οι λεμφαδένες μπορεί να διηθούνται από την απευθείας επέκταση του πρωτοπαθούς όγκου<sup>101,102</sup>.

Δυστυχώς, τοπικές υποτροπές συμβαίνουν παρά τη συνδυασμένη αντιμετώπιση με χειρουργείο και ακτινοθεραπεία. Μερικοί συγγραφείς εκτιμούν ότι η μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία μπορεί να καθυστερήσει, αλλά όχι να αποτρέψει την υποτροπή<sup>103</sup>. Άλλοι τρόποι ακτινοθεραπείας, ιδιαίτερα η ακτινοβολία νετρονίων, έχουν επίσης μελετηθεί. Ο Huber και οι συνεργάτες του αναδρομικά συνέκριναν την ακτινοθεραπεία με νετρόνια, φωτόνια και μία συνδυασμένη ακτινοθεραπεία με φωτόνια/νετρόνια σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου<sup>104</sup>. Αυτοί εκτίμησαν ότι η ακτινοβολία με νετρόνια μείωσε τον παράγοντα δέσμευσης οξυγόνου, τη μεταβλητότητα στην ευαισθησία μέσω του κυτταρικού κύκλου και την επιδιόρθωση της κυτταρικής βλάβης, που εξηγεί τον υψηλό πενταετή τοποπεριοχικό έλεγχο σε μέχρι και 75% των ασθενών με μη εξαιρεσιμο αδενοκυστικό καρκίνωμα που αντιμετωπίστηκαν με αυτόν τον τρόπο<sup>105</sup>. Δυστυχώς αυτό δεν έχει όφελος στην επιβίωση, κυρίως λόγω των απομακρυσμένων μεταστάσεων. Επιπλέον, σοβαρές όψιμες παρενέργειες αυτής της θεραπείας περιλαμβάνουν τη νέκρωση των μαλακών ιστών, της γνάθου, του κροταφικού οστού και του κροταφικού λοβού, όπως και η αυχενική μυελοπάθεια και η νευροαισθητήριος βαρηκοΐα<sup>106,107</sup>.

Η χημειοθεραπεία, τόσο η κυτταροτοξική χημειοθεραπεία όσο και οι στοχευμένες μοριακές θεραπείες, έχουν μελετηθεί στους ασθενείς με προχωρημένο αδενοκυστικό

καρκίνωμα, αλλά η αργή πορεία αυτής της νόσου κάνει δύσκολη την εκτίμηση της κλινικής ανταπόκρισης των ασθενών στα χημειοθεραπευτικά σχήματα<sup>50</sup>. Στο προχωρημένο και μη θεραπεύσιμο αδενοκυστικό καρκίνωμα, τα οφέλη και οι κίνδυνοι μίας θεραπευτικής προσέγγισης πρέπει να σταθμιστούν προσεκτικά, καθώς η παρηγορητική χημειοθεραπεία για αυτήν την κακοήθεια, που εξελίσσεται συχνά με αργό ρυθμό, μπορεί να συνδεθεί με τοξικότητα και επιπλοκές, χωρίς να επιδρά θετικά, όπως φαίνεται σε κάποιες μελέτες, στην πορεία της νόσου και στην πρόγνωση των ασθενών<sup>59,108,109</sup>. Συνεπώς, ορισμένοι ασυμπτωματικοί ασθενείς με προχωρημένη νόσο μπορούν να παρακολουθούνται, ορισμένες φορές για χρόνια, χωρίς να λαμβάνουν κάποια φαρμακευτική αγωγή. Η χημειοθεραπεία συνίσταται γενικά όταν οι ασθενείς παρουσιάζουν μία ταχέως εξελισσόμενη νόσο ή είναι συμπτωματικοί<sup>53</sup>.

Κάποιος μπορεί να καταλήξει ότι μέχρι σήμερα, η συστηματική θεραπεία με κυτταροτοξική χημειοθεραπεία ή στοχευμένες μοριακές θεραπείες δεν καταλήγουν ακόμα σε θεραπεία του ασθενή με προχωρημένο (τοπικά υποτροπιάζων ή μεταστατικό) αδενοκυστικό καρκίνωμα. Στην καλύτερη περίπτωση, προσωρινή μερική ανταπόκριση της νόσου ή σταθεροποίηση μπορεί να επιτευχθεί. Η χημειοθεραπεία συνεπώς πρέπει να χρησιμοποιείται ως παρηγορητική θεραπεία για ασθενείς με μη ελεγχόμενη νόσο ή με συμπτωματικές μεταστάσεις<sup>110</sup>.

Σε μία ανασκόπηση σχετικά με την αποτελεσματικότητα των διάφορων χημειοθεραπευτικών σχημάτων και μοριακών θεραπειών για την αντιμετώπιση του υποτροπιάζοντος ή μεταστατικού αδενοκυστικού καρκινώματος, οι Dodd και Slevin εξέτασαν 114 δημοσιεύσεις αναφορικά με τη χημειοθεραπεία και πιθανούς μοριακούς θεραπευτικούς στόχους, συμπεριλαμβανομένων των KIT, epidermal growth factor receptor (EGFR), human epidermal growth receptor-2 (HER-2), oestrogen and progesterone receptors, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Ki-67, p53, bcl-2 και SOX-4<sup>111</sup>. Τα συμπεράσματα των συγγραφέων ήταν ότι τα ποσοστά απάντησης στα χημειοθεραπευτικά σχήματα ήταν χαμηλά. Ωστόσο, ο Andry και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι στο υποτροπιάζων ή μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα η χημειοθεραπεία (με βάση την πλατίνα) δίνει ένα 25% ποσοστό απάντησης και πρέπει να χρησιμοποιείται όταν υπάρχει προχωρημένη νόσος<sup>112</sup>. Η απόκριση στις στοχευμένες μοριακές θεραπείες με αναστολές του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor, EGF), αναστολείς της αγγειογένεσης και αναστολείς της κίνησης της τυροσίνης δεν είναι επαρκής.

Συμπερασματικά, οι εξελίξεις στους θεραπευτικούς τρόπους δεν είχε μία σημαντική επίπτωση στη φυσική πορεία του αδενοκυστικού καρκινώματος. Η προτιμώμενη θεραπεία για την πλειοψηφία των ασθενών είναι η ριζική χειρουργική με μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Η συχνή ανάπτυξη απομακρυσμένων μεταστάσεων συνεχίζει να καθορίζει την έκβαση της θεραπείας. Αυτή τη στιγμή, οι μόνες επιλογές για ασθενείς με μεταστατική νόσο είναι υποστηρικτική φροντίδα, παρηγορητική συστηματική θεραπεία ή ένταξη σε κλινικές δοκιμές για να καθορίσουν αποτελεσματικές και στοιχειοθετημένες θεραπευτικές στρατηγικές.

Η αυξανόμενη κατανόηση της μοριακής βιολογίας του αδενοκυστικού καρκινώματος μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη βιοδεικτών για την επιλογή των ασθενών και καινοτόμων θεραπειών.

## 6.7 ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Η πρόγνωση του αδενοκυστικού καρκινώματος της κεφαλής και του τραχήλου είναι μάλλον πτωχή, και αυτός είναι ο λόγος που πολλοί συγγραφείς θεωρούν το αδενοκυστικό καρκίνωμα ένα «κλινικά υψηλού βαθμού κακοήθειας» (clinically high grade) νεόπλασμα<sup>53</sup>. Η πρόγνωση των ασθενών ποικίλει σε μεγάλο βαθμό στις διάφορες μελέτες, κυρίως λόγω των διαφορών που προκύπτουν στην ποιότητα και στην διάρκεια της παρακολούθησης. Σε μία μεγάλη Ευρωπαϊκή μελέτη για το αδενοκυστικό καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου, η δείκτης δεκαετούς επιβίωσης ήταν 65%<sup>113</sup>. Μία μελέτη του Van Weert και συνεργατών του, σε μία σειρά 105 ασθενών, έδειξε πενταετή, δεκαετή και εικοσαετή επιβίωση στο 68%, 52% και 28%, αντίστοιχα<sup>66</sup>. Ο Huang και συνεργάτες του έδειξαν σε μελέτη τους ότι η συνολική επιβίωση και η επιβίωση ελεύθερη νόσου στα τρία έτη ήταν 84,6% και 58,2%, αντίστοιχα, ενώ το ποσοστό ασθενών, οι οποίοι επιβίωσαν αλλά παρουσίασαν υποτροπή ήταν 26,4%<sup>114</sup>. Υπολογίζεται ότι η πενταετής επιβίωση είναι περίπου 60-70%, η δεκαετής 40-50% και η δεκαπενταετής 30%. Μετά τα 15 έτη, η συνολική επιβίωση ήταν 24,5% και η επιβίωση ελεύθερη νόσου ήταν 22,6%.

Πολλοί συγγραφείς αναφέρουν ότι η θεραπεία στο αδενοκυστικό καρκίνωμα δεν επιτυγχάνεται ποτέ. Περιστασιακά αναφέρονται αισιόδοξοι δείκτες πενταετούς επιβίωσης (π.χ., 92% σε μία σειρά ασθενών από την Αυστραλία)<sup>115</sup>, αλλά οι δείκτες δεκαετούς και εικοσαετούς επιβίωσης, στην πλειοψηφία των μελετών, είναι χαμηλοί. Σε μία σειρά ασθενών από το Ηνωμένο Βασίλειο, το 40% των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα ήταν εν ζωή στα 20 έτη και η επιβίωση συνέχισε να μειώνεται μέχρι τα 30 έτη. Επιπροσθέτως, ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα η διαπίστωση ότι σε αυτήν τη μελέτη ο δείκτης υποτροπής της πρωτοπαθούς εστίας στα 30 έτη ήταν 100%<sup>116</sup>, ενώ στη σειρά ασθενών από την Αυστραλία ήταν 54%.

Η έκταση της νόσου κατά την διάγνωση είναι ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας, με την προχωρημένη ηλικία και την διάρκεια των συμπτωμάτων να συνδέονται με χαμηλό προσδόκιμο επιβίωσης. Ασθενείς με προχωρημένη νόσο κατά την διάγνωση και με νεοπλάσματα που εντοπίζονται στην υπογνάθια χώρα, στον λάρυγγα και στους παραρρινίους κόλπους έχουν την χειρότερη πρόγνωση. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση και συνδέονται με αυξημένη θνησιμότητα είναι ο συμπαγής ιστολογικός τύπος, η διήθηση νεύρων, οι θετικοί λεμφαδένες και τα θετικά χειρουργικά όρια<sup>117-120</sup>.

Η επίπτωση του ιστοπαθολογικού σταδίου στην πρόγνωση είναι αμφιλεγόμενη. Η πλειοψηφία των μελετών έχει δείξει ότι οι ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα, στο οποίο υπερέχει ο συμπαγής υποτύπος, χαρακτηρίζονται από χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με ασθενείς, στους οποίους υπερέχει ο ηθμοειδής ή ο σωληνοειδής υποτύπος<sup>121-124</sup>. Ωστόσο, υπάρχουν μελέτες, στις οποίες αυτό δεν αποδεικνύεται<sup>125</sup>. Πρέπει να τονιστεί ότι οι τρεις ιστολογικοί υποτύποι (ηθμοειδής, σωληνοειδής και συμπαγής) συνήθως συνυπάρχουν σε ένα όγκο. Ο Mays και οι συνεργάτες του, σε μία μελέτη 160 ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα, αναγνώρισαν τον συμπαγή υποτύπο στο 38% των ασθενών, ωστόσο μόνο στο 10% των ασθενών υπερίσχυε ο συμπαγής υποτύπος<sup>122</sup>.

Ένα συχνό ιστολογικό χαρακτηριστικό του αδενοκυστικού καρκινώματος είναι η περινευρική διήθηση. Αν και σχετικά αντιφατικό στη βιβλιογραφία, πολλοί έχουν συσχετίσει αυτό το εύρημα με χειρότερη πρόγνωση, ιδιαίτερα όταν προσβάλλει ένα μείζον νευρικό κλάδο<sup>126-128</sup>. Είναι επίσης αποδεκτό ότι αυτός ο διηθητικός περινευρικός όγκος είναι πιθανότατα η αιτία των υποτροπών ακόμα και μετά από φαινομενικά πλήρη χειρουργική εκτομή του πρωτοπαθούς όγκου. Ο Marciniow και οι συνεργάτες του αναγνώρισαν τη περινευρική διήθηση ως αρνητικό προγνωστικό παράγοντα σε σχέση με την επιβίωση ελεύθερη νόσου, αλλά όχι σε σχέση με τη συνολική επιβίωση<sup>126</sup>. Υπέθεσαν ότι αυτό σχετίζεται με την αργή εξέλιξη της νόσου, η οποία χαρακτηρίζεται από συχνές υποτροπές, αλλά και από μακροχρόνια επιβίωση των ασθενών.

Ο χαμηλός δείκτης μακροχρόνιας επιβίωσης στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με την αποτυχία ελέγχου της μεταστατικής νόσου<sup>53</sup>. Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις εντοπίζονται συχνότερα στους πνεύμονες. Είναι χαρακτηριστικό του αδενοκυστικού καρκινώματος ότι οι μεταστάσεις τείνουν να είναι απομακρυσμένες και πιο συχνά στους πνεύμονες. Επίσης, είναι ασύνηθες να μεθίσταται στους επιχώριους λεμφαδένες. Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις μπορούν να παραμένουν σταθερές για πολλά χρόνια και ως εκ τούτου δεν πρέπει απαραίτητως να αποτρέπει τη χειρουργική εκτομή του πρωτοπαθούς όγκου. Απομακρυσμένες μεταστάσεις στα οστά συχνά συνδέονται με μία ιδιαίτερα πτωχή πρόγνωση, με πενταετή επιβίωση περίπου στο 30%. Σε μελέτη του, ο Spigo ανέφερε ότι η επίπτωση των απομακρυσμένων μεταστάσεων σε άλλες ανατομικές εντοπίσεις εκτός των πνευμόνων πιθανώς να είναι μεγαλύτερη από αυτή που θεωρούσαμε στο παρελθόν<sup>129</sup>. Ο Van der Wal και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι ο μέσος χρόνος μεταξύ της εμφάνισης των πνευμονικών μεταστάσεων και του θανάτου ήταν 32,3 μήνες, ενώ ο

μέσος όρος μεταξύ της εμφάνισης μεταστάσεων κάπου αλλού και του θανάτου ήταν 20,6 μήνες<sup>130</sup>. Η διαφορά αυτή πιθανώς να οφείλεται στο ότι οι μεταστάσεις εκτός του πνεύμονα ανιχνεύονται αργότερα στην πορεία της νόσου ή ότι εμπλέκονται στις ζωτικές λειτουργίες πιο γρήγορα. Ο Umeda και συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι ο εκτιμώμενος χρόνος διπλασιασμού των πνευμονικών μεταστάσεων στους ασθενείς με μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα κυμαίνεται από 86 έως 1064 ημέρες, με ένα μέσο όρο 393 ημερών<sup>131</sup>. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι μεταστάσεις σε κυτταρικό επίπεδο μπορεί να συμβαίνουν προγενέστερα (κατά μέσο όρο, 227 μήνες) της κλινικής εμφάνισης του πρωτοπαθή καρκίνου.

## 6.8 ΑΔΕΝΟΚΥΣΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΡΙΝΟΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΡΡΙΝΙΩΝ ΚΟΛΠΩΝ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα αποτελεί το 3 με 5% των κακοηθών νεοπλασμάτων στην κεφαλή και στον τράχηλο. Χαρακτηρίζεται από ένα ενδιάμεσο ρυθμό ανάπτυξης, μία χαμηλή πιθανότητα λεμφαδενικής διασποράς και από συχνές απομακρυσμένες μεταστάσεις, κυρίως στον πνεύμονα<sup>132</sup>. Εντούτοις, το αδενοκυστικό καρκίνωμα της ρινικής κοιλότητας, των παραρρινίων κόλπων και της βάσης κρανίου αποτελούν μία παθολογία με ξεχωριστά κλινικά χαρακτηριστικά<sup>133</sup>. Αυτοί οι όγκοι συνήθως διαγιγνώσκονται αργά και η εγγύτητά τους σε ζωτικά όργανα, όπως ο εγκέφαλος, ο οφθαλμός, τα κρανιακά νεύρα και η μήνιγγα, κάνει την πλήρη χειρουργική εξαίρεσή τους λιγότερο πιθανή<sup>134</sup>. Ένα άλλο χαρακτηριστικό του αδενοκυστικού καρκινώματος των παραρρινίων κόλπων είναι η περινευρική επέκταση του με μία επίπτωση άνω του 50%<sup>133</sup>. Λόγω της τάσης για τοπική διήθηση σε γειτονικές ζωτικές ανατομικές δομές και συχνά καθυστερημένης διάγνωσης, το αδενοκυστικό καρκίνωμα, που προσβάλλει την περιοχή της ρινός και των παραρρινίων κόλπων, συνδέεται με πτωχή πρόγνωση, ενδοκράνια επέκταση και θετικά χειρουργικά όρια<sup>135</sup>. Η κύρια θεραπευτική αντιμετώπιση του αδενοκυστικού καρκινώματος είναι η χειρουργική επέμβαση<sup>136</sup>. Η συμπληρωματική ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται σε περιστατικά με θετικά όρια και σε προχωρημένο στάδιο<sup>137</sup>.

Λόγω της σπανιότητας του όγκου, υπάρχει μία σχετική διχογνωμία πάνω στους κλινικούς και ιστοπαθολογικούς παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα των παραρρινίων κόλπων και της βάσης κρανίου. Η περινευρική διήθηση, η αποτελεσματικότητα της συμπληρωματικής θεραπείας και η αρχική εντόπιση έχουν αξιολογηθεί από κάποιους συγγραφείς ως σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες, ενώ άλλοι συγγραφείς αναφέρουν στις μελέτες τους ότι δεν έχουν επίπτωση στην επιβίωση<sup>127,136,138</sup>. Δεδομένου ότι οι περισσότερες μελέτες για το αδενοκυστικό καρκίνωμα της ρινικής κοιλότητας και των παραρρινίων κόλπων βασίζονται σε μελέτες με περιορισμένο αριθμό ασθενών και σε μελέτες που περιλαμβάνουν όγκους και από άλλες εντοπίσεις, οι πληροφορίες για τους προγνωστικούς παράγοντες είναι λίγες.

Μία μετα-ανάλυση διενεργήθηκε από τον Amit και τους συνεργάτες του, κατά την οποία αξιολογήθηκαν τα δημοσιευμένα ιστοπαθολογικά και κλινικά δεδομένα για το αδενοκυστικό καρκίνωμα των παραρρινίων κόλπων και της πρόσθιας βάσης κρανίου<sup>139</sup>. Ο σκοπός τους ήταν να αξιολογήσουν τα κλινικά και ιστοπαθολογικά



χαρακτηριστικά αυτού του πληθυσμού ασθενών, να εκτιμήσουν την πρόγνωση αυτών των ασθενών και να αναγνωρίσουν τους ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες. Η αναγνώριση της βιολογικής συμπεριφοράς αυτού του όγκου και των προγνωστικών παραγόντων για επιβίωση μπορεί να επηρεάσει τη θεραπεία και την πρόγνωση των ασθενών και μπορεί να παίζει ρόλο στο σχεδιασμό της έκτασης της χειρουργικής επέμβασης.

Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης έδειξαν ότι τα χειρουργικά όρια και η εντόπιση του όγκου είναι σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα των παραρρινίων κόλπων και της πρόσθιας βάσης κρανίου. Ασθενείς με θετικά χειρουργικά όρια είχαν χειρότερη πρόγνωση από ασθενείς με αρνητικά χειρουργικά όρια. Επιπροσθέτως, οι όγκοι του σφηνοειδή ή των ηθμοειδών κόλπων συνδέονται με χειρότερη πρόγνωση σε σύγκριση με νεοπλάσματα με αρχική εντόπιση στον γναθιαίο κόλπο ή στην ρινική κοιλότητα. Επίσης οι θετικοί για κακοήθεια λεμφαδένες συνδέονται με μειωμένη συνολική επιβίωση.

Στη μετα-ανάλυση αυτή εκτιμήθηκε επίσης η σημασία της περινευρικής διήθησης. Η σημασία της στο αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι αμφιλεγόμενη, με τις περισσότερες προγενέστερες μελέτες να έχουν δείξει ότι δεν επηρεάζει την επιβίωση. Τα συνολικά αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης έδειξαν ότι η περινευρική διήθηση δεν έχει κάποια σημαντική επίπτωση στην επιβίωση των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα των παραρρινίων κόλπων. Οι συγγραφείς υπέθεσαν ότι η εγγύτητα των παραρρινίων κόλπων με τη βάση του κρανίου και με άλλα ζωτικά όργανα μπορεί να περιορίζει την επίπτωση της περινευρικής διήθησης στην επιβίωση.

Τέλος, τα ευρήματα της μετα-ανάλυσης δεν έδειξαν κάποιο πρόσθετο όφελος της συμπληρωματικής θεραπείας αναφορικά με την επιβίωση ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα της ρινός και των παραρρινίων κόλπων. Είναι απαραίτητες περαιτέρω προοπτικές μελέτες, ώστε να αποσαφηνιστεί ο ρόλος της χειρουργικής και συμπληρωματικής θεραπείας στους ασθενείς αυτούς.

## 6.9 ΠΕΡΙΝΕΥΡΙΚΗ ΔΙΗΘΗΣΗ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι ένα σπάνιο κακοήθες νεόπλασμα της περιοχής της κεφαλής και του τραχήλου, ωστόσο είναι ένας από του πιο συχνούς κακοήθεις όγκους με τάση για περινευρική διήθηση. Η πρόγνωση των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα συνδέεται στενά με την παρουσία περινευρικής διήθησης<sup>128</sup>.

Υπάρχουν τρεις κύριοι τρόποι επέκτασης των όγκων: κατά συνέχεια ιστών με άμεση προσβολή των γειτονικών δομών, οι αιματογενείς μεταστάσεις και η λεμφαδενική επέκταση<sup>140</sup>. Ωστόσο, η περινευρική διήθηση θεωρείται μία τέταρτη οδός επέκτασης, η οποία μπορεί να είναι μεγάλης σημασίας για τη διήθηση και μετάσταση των νεοπλασμάτων<sup>128</sup>. Η περινευρική διήθηση αποτελεί ένα σημαντικό παθολογικό χαρακτηριστικό πολλών κακοηθών νεοπλασμάτων, συμπεριλαμβανομένων αυτών του παγκρέατος, του προστάτη, του παχέος εντέρου, του ορθού, της κεφαλής και του τραχήλου και άλλων<sup>140</sup>. Διαπιστώνεται υψηλή επίπτωση της περινευρικής διήθησης σε πολλά από αυτά τα νεοπλάσματα και αυτό το χαρακτηριστικό είναι ένας δείκτης πτωχής πρόγνωσης και συνδέεται σε πολλές περιπτώσεις με μειωμένη επιβίωση<sup>141</sup>.

Το φυσιολογικό περιφερικό νεύρο αποτελείται από τρεις στιβάδες συνδετικού ιστού με διαφορετικά χαρακτηριστικά<sup>128</sup>. Το επινεύριο, η εξωτερική στιβάδα, αποτελείται από πυκνό ακανόνιστο συνδετικό ιστό, ο οποίος συνδέει μεμονωμένες νευρικές δέσμες σε ένα νευρικό κορμό. Το περινεύριο, η μεσαία στιβάδα, αποτελείται από στρώματα επίπεδων κυττάρων, τα οποία σχηματίζουν δομές με διάταξη κατά στρώματα που περιβάλλουν τα νευρικά δεμάτια. Τέλος, το ενδονεύριο είναι η εσωτερική στιβάδα, η οποία περιβάλλει τους άξονες μαζί με τα κύτταρα Schwann. Το επινεύριο περιβάλλει ολόκληρο το νευρικό κορμό, συνεπώς συνεισφέρει στην ελαστικότητα και αντοχή του νεύρου, αλλά δεν έχει λειτουργία φραγμού. Η ύπαρξη σφιχτών συνδέσμων (tight junctions, TJ) στο περινεύριο και ενδονεύριο σχηματίζει τον περιφερικό νευρικό φραγμό<sup>142,143</sup>. Αυτές οι δομές αναγνωρίζονται ως προστατευτικοί φραγμοί στη παρακυτταρική διάχυση ορισμένων μορίων και ιόντων<sup>144</sup>. Πρόσφατα, ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι οι σφιχτοί σύνδεσμοι μπορεί να δρουν ως φραγμός ενάντια στην διήθηση των καρκινικών κυττάρων και στις μεταστάσεις<sup>145</sup>. Συνεπώς, μία πιθανή εξήγηση της περινευρικής διήθησης των κακοηθών όγκων είναι ότι όταν τα καρκινικά κύτταρα αρχίζουν να διηθούν ένα περιφερικό νεύρο, οι σφιχτοί σύνδεσμοι του περινευρίου πρέπει πρώτα να διαταραχθεί ώστε να διευκολυνθεί η διείσδυση των καρκινικών κυττάρων<sup>146</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα χαρακτηρίζεται από περινευρική διήθηση, σημαντική τοπική διήθηση των γειτονικών δομών και αιματογενείς μεταστάσεις. Συνήθως έχει μία αργή κλινική πορεία, εντούτοις οι όγκοι σε προχωρημένο στάδιο μπορούν να προκαλέσουν άλγος και παράλυση νεύρων, καθώς το αδενοκυστικό καρκίνωμα έχει την τάση να διηθεί άμεσα το περίβλημα των γειτονικών στον πρωτοπαθή όγκο νεύρων και επεκτείνεται κατά μήκος των διηθημένων νεύρων, μία κατάσταση που αναφέρεται ως περινευρική διήθηση και επέκταση, αντίστοιχα<sup>128</sup>.

Το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης είναι σχετικά υψηλό στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα, σε αντίθεση με την πτωχή πρόγνωση σε άλλα επιθηλιακά καρκινώματα<sup>53</sup>. Εντούτοις, το ποσοστό υποτροπής είναι υψηλό στο αδενοκυστικό καρκίνωμα και συνδέεται στενά με την περινευρική διήθηση<sup>147</sup>.

Η περινευρική διήθηση σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό τόσο με τις απομακρυσμένες μεταστάσεις όσο και με τη δυσμενή έκβαση της ασθένειας<sup>148</sup>. Ειδικότερα, σε μία σειρά ασθενών με αρνητικά χειρουργικά όρια, το 80% των ασθενών που παρουσίαζαν περινευρική διήθηση τελικώς παρουσίασαν τοπική ή απομακρυσμένη υποτροπή, συγκριτικά με μόνο 27% των ασθενών χωρίς περινευρική διήθηση<sup>149</sup>. Δεδομένου ότι η μικροσκοπική διήθηση των καρκινικών κυττάρων στους γειτονικούς νευρικούς ιστούς φέρεται να προκύπτει μέσω της «οδού με τη μικρότερη αντίσταση», είναι συχνά μία πρόκληση για το χειρουργό να εντοπίσει και να καθορίσει το όριο εκτομής κατά τη διάρκεια του χειρουργείου. Λόγω του μικροσκοπικού της μεγέθους, η αξονική τομογραφία και η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (positron emission Tomography, PET) μπορούν επίσης να αποτύχουν να ανιχνεύσουν την περινευρική διήθηση. Ωστόσο, ο Singh και οι συνεργάτες του περιέγραψαν ότι η μαγνητική τομογραφία μπορεί να εντοπίσει την μεγέθυνση και ενίσχυση της εικόνας των νεύρων που έχουν διηθηθεί από τον όγκο. Επομένως, μπορεί να εκτιμήσει εάν ο όγκος παρουσιάζει κάποιου βαθμού περινευρική διήθηση, λόγω της αυξημένης σκιαγράφησης των μαλακών μορίων. Συγκριτικά με την αξονική τομογραφία, η μαγνητική τομογραφία είναι πιο ευαίσθητη στο να εντοπίζει την περινευρική διήθηση, ωστόσο η αξονική τομογραφία θεωρείται συμπληρωματική της μαγνητικής τομογραφίας, διότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό εντοπισμένων οστικών αλλοιώσεων<sup>150</sup>. Υπάρχουν αρκετές μελέτες αναφορικά με τη στατιστική συσχέτιση μεταξύ των χειρουργικών ορίων και την περινευρική διήθηση. Μία τέτοια μελέτη έδειξε ότι η περινευρική διήθηση ήταν ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης σε μία σειρά ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>151</sup>. Ωστόσο, οι συγγραφείς δεν παρουσίασαν κάποια

συγκεκριμένη τιμή  $p$  για να υποστηρίξουν τα δεδομένα τους. Σε μία άλλη μελέτη, ο Jang και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τα αδενοκυστικά καρκινώματα με περινευρική διήθηση συχνά παρουσίαζαν μεταστάσεις κατά την πορεία της νόσου, ενώ απομακρυσμένες μεταστάσεις δεν παρατηρήθηκαν στους ασθενείς χωρίς περινευρική διήθηση<sup>152</sup>. Πολυπαραγοντικές αναλύσεις έδειξαν ότι η περινευρική διήθηση ήταν ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για τις απομακρυσμένες μεταστάσεις<sup>153</sup>. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η περινευρική διήθηση ενισχύει την ανάπτυξη απομακρυσμένων μεταστάσεων και συνεπώς επηρεάζει την κλινική πορεία των ασθενών.

Δεδομένου ότι η περινευρική διήθηση σχετίζεται στενά με την πρόγνωση των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα, μία σε βάθος έρευνα των υποκείμενων μηχανισμών είναι απαραίτητη για την αναγνώριση προγνωστικών παραγόντων αυτής της κατάστασης, αλλά και για τον αποκλεισμό δεικτών που σχετίζονται με την πρόγνωση, οι οποίοι μπορεί να συμβάλλουν στην ανάπτυξη καινοτόμων στοχευμένων φαρμάκων και στη μείωση του κινδύνου υποτροπής σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα.

Επί του παρόντος, υπάρχουν δύο προέχουσες θεωρίες αναφορικά με την παθογένεση της περινευρικής διήθησης: η μία είναι «η οδός με τη μικρότερη αντίσταση» και η άλλη είναι η αμοιβαία αλληλεπίδραση σημάτων. Λόγω της ανατομικής εγγύτητας μεταξύ των σιελολόγων αδένων και κάποιων κρανιακών νεύρων, όπως το προσωπικό νεύρο, το τρίδυμο νεύρο, το υπογλώσσιο νεύρο και το γλωσσοφαρυγγικό νεύρο, η διήθηση των νεύρων είναι συχνή. Ορισμένοι ερευνητές υποθέτουν ότι τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσονται κατά μήκος των νευρικών ιστών, ενώ άλλοι ερευνητές πιστεύουν ότι υπάρχουν συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις παραγόντων μεταξύ καρκινικών κυττάρων και νεύρων, οι οποίες παρέχουν το κατάλληλο περιβάλλον για ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων γύρω από τα νεύρα<sup>154</sup>. Επιπροσθέτως, πολλές πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι κυτταρικοί παράγοντες συνεισφέρουν στην αλληλεπίδραση μεταξύ του όγκου και του νευρικού ιστού, για παράδειγμα αυξάνοντας την έλξη των καρκινικών κυττάρων για το νευρικό ιστό<sup>151</sup>. Σήμερα, στην ύπαρξη νευροτροπισμού θεωρείται ότι συμμετέχει ένα πλήθος ρυθμιστικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των κυτταροκινών και των υποδοχέων τους, κυττάρων που σχετίζονται με την περινευρική διήθηση (όπως μακροφάγα, αστροκύτταρα και κύτταρα Schwann), πρωτεϊνών της οικογένειας του παράγοντα ανάπτυξης νεύρου (NGF) και των υποδοχέων τους, πρωτεϊνών της

οικογένειας του νευροτροφικού παράγοντα που προέρχεται από τον εγκέφαλο (BDNF) και των υποδοχέων τους, και των μεταλλοπρωτεϊνάσεων μήτρας (matrix metalloproteinases, MMPs)<sup>155</sup>.

## 6.10 ΛΕΜΦΑΔΕΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου είναι ένας σπάνιος, αργής ανάπτυξης, κακοήθης επιθηλιακός όγκος. Αυτός ο όγκος χαρακτηρίζεται από την αργή του εξέλιξη, την περινευρική διήθηση, τη σπάνια λεμφογενή εξάπλωση του στον τράχηλο, τα υψηλά ποσοστά τοπικής υποτροπής της νόσου και την καθυστερημένη εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων<sup>156</sup>.

Παρόλο που ο τραχηλικός λεμφαδενικός καθαρισμός διενεργείται σε όλους τους ασθενείς με λεμφαδενικές μεταστάσεις (κλινικά θετικός τράχηλος, cN+), η αντιμετώπιση των ασθενών χωρίς επιβεβαιωμένες κλινικά ή απεικονιστικά λεμφαδενικές μεταστάσεις (κλινικά αρνητικός τράχηλος, cN0) παραμένει αμφιλεγόμενη. Ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός δεν πραγματοποιείται συστηματικά σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα. Ωστόσο μελέτες δείχνουν ότι ενώ οι μεμονωμένες τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις δεν έχουν σημαντική επίδραση στην επιβίωση των ασθενών, φαίνεται ότι αποτελούν παράγοντα κινδύνου για μεταγενέστερη εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων<sup>129</sup>.

Μία μετα-ανάλυση των Sutton και Luksic αναφέρει ότι η παρακολούθηση των ασθενών με cN0 τράχηλο είναι μία λογική επιλογή, ανεξαρτήτως του σταδίου T<sup>156</sup>. Φαίνεται ότι ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός δεν συνδέεται με όφελος αναφορικά με την επιβίωση. Μία εξήγηση αυτών των ευρημάτων θα μπορούσε να είναι η ίδια η βιολογική συμπεριφορά του αδενοκυστικού καρκινώματος. Ενώ οι τραχηλικές μεταστάσεις στην πλειοψηφία των καρκινωμάτων της κεφαλής και του τραχήλου και κυρίως στο πλακώδες καρκίνωμα αποτελούν ένα σπουδαίο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα, που συνδέεται στενά με την πτωχή εξέλιξη της νόσου, αυτό το μειονέκτημα σχετικά με την επιβίωση φαίνεται να είναι λιγότερο σημαντικό στην περίπτωση του αδενοκυστικού καρκινώματος, λόγω της αργής πορείας αυτού του όγκου.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το αδενοκυστικό καρκίνωμα παρουσιάζει ανομοιογενή συμπεριφορά αναφορικά με την τάση του για μετάσταση στους λεμφαδένες του τραχήλου. Αυτό εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την αρχική του εντόπιση. Έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχουν εντοπίσεις με υψηλότερο κίνδυνο για κρυφές τραχηλικές μεταστάσεις. Οι ασθενείς, οι οποίοι διαγιγνώσκονται με αδενοκυστικό καρκίνωμα σε αυτές τις εντοπίσεις, θα μπορούσαν δυνητικά να ωφεληθούν από τον προφυλακτικό λεμφαδενικό καθαρισμό (λ.χ. έδαφος στόματος και γλώσσα με υψηλό T στάδιο)<sup>156</sup>.

Παρόλο που ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός παρέχει πληροφορίες για την σωστή σταδιοποίηση της νόσου και συνδέεται με έναν καλύτερο τοποπεριοχικό έλεγχο, φαίνεται να μην επηρεάζει την επιβίωση. Αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ενώ οι λεμφαδενικές μεταστάσεις του τραχήλου είναι ο πιο σημαντικός αρνητικός προγνωστικός παράγοντας στην πλειοψηφία των νεοπλασμάτων κεφαλής και τραχήλου, στο αδενοκυστικό καρκίνωμα οι πιο κοινές αιτίες υποτροπής και θανάτου είναι οι απομακρυσμένες μεταστάσεις και η τοπική υποτροπή.

Τα συμπεράσματα της μετα-ανάλυσης των Sutton και Luksic ήταν ότι οι ασθενείς με κλινικά αρνητικό για λεμφαδενικές μεταστάσεις τράχηλο (cN0) πρέπει αρχικά να παρακολουθούνται για πιθανή υποτροπή στον τράχηλο αντί να αντιμετωπίζονται προκαταβολικά με προφυλακτικό λεμφαδενικό καθαρισμό. Οι περισσότεροι ασθενείς δεν αναπτύσσουν τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις κατά την παρακολούθησή τους, κάνοντας τον προφυλακτικό λεμφαδενικό καθαρισμό αμφισβητήσιμο αναφορικά με το όφελός του για τη βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών<sup>156</sup>.

Μία μεγάλη αναδρομική πολυκεντρική μελέτη από τον Amit και τους συνεργάτες του αναφέρει ότι, λόγω της σπανιότητας του αδενοκυστικού καρκινώματος, δεδομένα αναφορικά με την επίπτωση των λεμφαδενικών μεταστάσεων και την επίδρασή τους στην πρόγνωση των ασθενών είναι ανεπαρκή για να καθορίσουν το όφελος του προφυλακτικού λεμφαδενικού καθαρισμού στην θεραπευτική διαχείριση των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>157</sup>. Ευρήματα από μελέτες έχουν δείξει ότι οι λεμφαδενικές μεταστάσεις είναι μία συχνή αιτία θεραπευτικής αποτυχίας σε αυτόν τον πληθυσμό<sup>158</sup>. Από την άλλη, η συχνότητα των τραχηλικών λεμφαδενικών μεταστάσεων στο αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι της τάξεως του 6-10%. Η συχνότητα αυτή σημαντικά χαμηλότερη από τη συχνότητα των λεμφαδενικών μεταστάσεων στο πλακώδες καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου, για την αντιμετώπιση του οποίου ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός διενεργείται συχνά<sup>159,160</sup>.

Για να επιτευχθεί ένας μεγάλος αριθμός ασθενών, δεδομένου της μικρής συχνότητας του αδενοκυστικού καρκινώματος, οι συγγραφείς της μελέτης αποφάσισαν να συλλέξουν λεπτομερή δεδομένα από εννέα κέντρα αναφοράς για τον καρκίνο. Στη μελέτη έλαβαν μέρος 457 ασθενείς με κλινικά αρνητικό τράχηλο για λεμφαδενικές μεταστάσεις<sup>157</sup>.

Στο σύνολο των ασθενών η επίπτωση των κρυφών λεμφαδενικών μεταστάσεων ήταν 17%. Η συχνότητα ήταν υψηλότερη σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας (22%), χαμηλότερη σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα

στη ρινική κοιλότητα και στους παραρρινίους κόλπους (17%) και ακόμη χαμηλότερη σε ασθενείς με όγκο στους μείζονες σιελογόνους αδένες (11%).

Το ερώτημα και σε αυτή την μελέτη ήταν η παρακολούθηση ή η διενέργεια προφυλακτικού λεμφαδενικού καθαρισμού σε ασθενείς χωρίς κλινικές ενδείξεις λεμφαδενικών μεταστάσεων στον τράχηλο. Ενώ ο λεμφαδενικός καθαρισμός διενεργείται σε όλους τους ασθενείς με κλινική ένδειξη λεμφαδενικών μεταστάσεων, η απόφαση του προφυλακτικού λεμφαδενικού καθαρισμού είναι πιο πολύπλοκη<sup>161</sup>. Σε περιπτώσεις ασθενών με πλακώδες καρκίνωμα στην κεφαλή και στον τράχηλο, ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός υποδεικνύεται εάν η πιθανότητα των κρυφών λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι υψηλότερη από 15-20%<sup>162</sup>. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ένα ποσοστό της τάξης του 17% για κρυφές λεμφαδενικές μεταστάσεις στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα, γεγονός που υποστηρίζει τη διενέργεια του προφυλακτικού λεμφαδενικού καθαρισμού σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα, εάν ακολουθηθούν οι οδηγίες που ισχύουν για τους ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα. Ωστόσο, για να εκτιμηθεί ορθά εάν ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός συνδέεται με καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα, οι συγγραφείς της μελέτης συνέκριναν την επιβίωση ασθενών που υποβλήθηκαν σε προφυλακτικό λεμφαδενικό καθαρισμό με την επιβίωση αυτών που δεν υποβλήθηκαν σε λεμφαδενικό καθαρισμό. Το αποτέλεσμα ήταν ότι δεν αναδείχτηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων αναφορικά με την επιβίωση. Επιπροσθέτως, το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται από το γεγονός ότι η ανάλυση υποομάδων, που αντιστοιχούν στην εντόπιση του όγκου και στο στάδιο της νόσου, υπέδειξαν ότι, ακόμη και σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο τραχηλικών λεμφαδενικών μεταστάσεων (π.χ., στοματική κοιλότητα) και με προχωρημένο στάδιο T (T3 και T4), ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός δεν συνδέεται με καλύτερη πρόγνωση των ασθενών.

Προτάθηκαν κάποιες πιθανές επεξηγήσεις για τα αποτελέσματα της μελέτης. Κατ' αρχάς, τα αναγνωρισμένα πλεονεκτήματα σχετικά με την επιβίωση των ασθενών με πλακώδες καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου, που υποβάλλονται σε προφυλακτικό λεμφαδενικό καθαρισμό, μπορεί να είναι λιγότερο εμφανή στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, λόγω της σχετικά αργής εξέλιξης της νόσου. Επιπλέον, είναι πιθανό ότι η ακτινοθεραπεία στον τράχηλο έχει εφάμιλλα αποτελέσματα με τον προφυλακτικό λεμφαδενικό καθαρισμό. Ωστόσο, η ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης αναγνώρισε το στάδιο T, το στάδιο N και την πρωτοπαθή εστία ως



ανεξάρτητους παράγοντες για την πρόγνωση των ασθενών, ενώ η ακτινοθεραπεία δεν είχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πρόγνωση.

Οι κρυφές λεμφαδενικές μεταστάσεις στους ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη εντοπίστηκαν μόνο στα επίπεδα I-III. Επιπροσθέτως, κανένας ασθενής, που υποβλήθηκε σε αμφοτερόπλευρο λεμφαδενικό καθαρισμό, δεν είχε λεμφαδενικές μεταστάσεις ετερόπλευρα στον τράχηλο. Αυτό υποδεικνύει ότι εάν διενεργηθεί ο προφυλακτικός λεμφαδενικός καθαρισμός, αυτός πρέπει να περιορίζεται στα επίπεδα I-III του τραχήλου ομόπλευρα με την πρωτοπαθή εντόπιση.

Η πιθανότητα παρουσίας κρυφών λεμφαδενικών μεταστάσεων στον τράχηλο στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα υποδεικνύει την ανάγκη διενέργειας απεικονιστικών μεθόδων, όπως η PET-CT και το υπερηχογράφημα τραχήλου, κατά την παρακολούθηση των ασθενών, ώστε να υπάρξει έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση<sup>157</sup>.

## 6.11 ΑΙΜΑΤΟΓΕΝΕΙΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Οι μεταστάσεις στο αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι κυρίως αιματογενείς. Τα όργανα που κυρίως προσβάλλονται είναι οι πνεύμονες, το ήπαρ και τα οστά<sup>53</sup>. Ποικίλοι παράγοντες, όπως το μεγάλο μέγεθος ενός όγκου, τα θετικά χειρουργικά όρια και η διήθηση μεγάλων νεύρων, μπορεί να ευθύνονται για τις απομακρυσμένες μεταστάσεις στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα. Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις είναι μία σημαντική αιτία αποτυχίας της θεραπευτικής αντιμετώπισης στο αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>163</sup>.

Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις είναι σχετικά συχνές. Παρουσιάζονται ακόμα και στο 50% των περιπτώσεων και συνήθως εμφανίζονται 10 με 20 χρόνια μετά την αρχική διάγνωση<sup>164</sup>. Οι πνεύμονες είναι το όργανο που προσβάλλεται συχνότερα (75%) και ακολουθούν τα οστά (6,9%), το ήπαρ (3,4%) και άλλες εντοπίσεις, συμπεριλαμβανομένων του εγκεφάλου και των μαλακών ιστών<sup>165</sup>.

Κατά τη διάγνωση της μεταστατικής νόσου, οι ασθενείς δυνητικά μπορεί να έχουν ένα μεγάλο προσδόκιμο ζωής (10ετής συνολική επιβίωση στο 45,7% των ασθενών)<sup>165</sup>. Ωστόσο, κάποιοι συγγραφείς αμφισβητούν την ορθότητα του προσδιορισμού του μεταστατικού αδενοκυστικού καρκινώματος ως μία σχετικά αργής εξέλιξης νόσο, υπογραμμίζοντας το ευρύ φάσμα βιολογικής συμπεριφοράς του συγκεκριμένου νεοπλασματος<sup>166</sup>.

Η θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με απομακρυσμένες μεταστάσεις αποτελεί μία μεγάλη πρόκληση για τον θεράποντα ιατρό, καθώς δεν υπάρχει ομοφωνία αναφορικά με τη θεραπευτική αντιμετώπιση της μεταστατικής νόσου. Μέχρι σήμερα δεν έχει εγκριθεί καμία αποτελεσματική συστηματική θεραπεία και οι προτεινόμενες θεραπευτικές προσεγγίσεις δεν έχουν επιδείξει βελτίωση της συνολικής επιβίωσης. Το προσδόκιμο ζωής των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι συχνά παρατεταμένο, επομένως καθίσταται δυσχερής η αναγνώριση της επίπτωσης της θεραπείας στην πρόγνωση των ασθενών<sup>163</sup>.

Σε σύγκριση με άλλα κακοήγη νεοπλασματα, οι ασθενείς με μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα έχουν ένα αυξημένο προσδόκιμο ζωής, με ένα ποσοστό επιβίωσης 69-76% στην πενταετία<sup>167</sup>. Η απουσία αποτελεσματικών συστηματικών θεραπειών σε συνδυασμό με την έλλειψη συμπτωμάτων σε ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών δικαιολογούν μία προσέγγιση στενής παρακολούθησης έως ότου η εξέλιξη της νόσου και/ή συμπτωματολογία του ασθενή επιβάλλουν τη χρήση

διαφορετικής θεραπευτικής αντιμετώπισης (λ.χ. χειρουργική εκτομή πνευμονικών μεταστάσεων<sup>168</sup>, επεμβατική τοπική εκτομή για ηπατικές μεταστάσεις, χημειοθεραπεία<sup>169</sup> ή αναστολείς της αγγειογένεσης<sup>170</sup>), ακόμα και με μη αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα. Συνήθως, η προσέγγιση των ασθενών, παρακολούθηση ή συστηματική θεραπεία, επιλέγεται με βάση την κλινική εκτίμηση και εμπειρία των θεραπόντων ιατρών. Δεν υπάρχουν προγνωστικοί παράγοντες, ώστε η αναγνώρισή τους να βοηθά στην επιλογή της κατάλληλης αντιμετώπισης των ασθενών με μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>163</sup>.

Η στενή παρακολούθηση είναι μία πιθανή επιλογή σε ασυμπτωματικούς ασθενείς με μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα, δεδομένου της αργής πορείας της νόσου, αφήνοντας τη θεραπευτική αντιμετώπιση σε ασθενείς με συμπτώματα ή εξάπλωση της νόσου<sup>163</sup>.

Η χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα είναι η πιο συχνή θεραπευτική επιλογή στην περίπτωση εκτεταμένης νόσου<sup>109</sup>. Παρόλα αυτά η θεραπευτικές απαντήσεις δεν είναι συχνές (10-13%) και η παρατεταμένη σταθεροποίηση της νόσου είναι η καλύτερη απάντηση στις περισσότερες περιπτώσεις. Στοχευμένες θεραπείες, όπως το cetuximab, donitinib, imatinib και αναστολείς της αγγειογένεσης, όπως το sorafenib, axitinib and Lenvatinib έχουν αποτύχει στο να δείξουν κάποια σημαντική βελτίωση την κλινική πορεία των ασθενών<sup>171-173</sup>.

Η εντόπιση της μετάστασης φαίνεται να συνδέεται στενά με τη συνολική επιβίωση<sup>163</sup>. Η επιλογή της παρακολούθησης ή της χειρουργικής εκτομής των μεταστάσεων μπορεί να προταθεί σε ασθενείς με μεμονωμένες πνευμονικές μεταστάσεις, οι οποίες θεωρούνται ότι έχουν μία σχετικά καλή πρόγνωση στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, συγκριτικά με την πλειοψηφία των νεοπλασμάτων. Αντιθέτως, η παρουσία οστικών ή ηπατικών μεταστάσεων είναι ένας πτωχός προγνωστικός παράγοντας. Πιο συγκεκριμένα, ασθενείς με πνευμονικές μεταστάσεις παρουσιάζουν παρατεταμένη συνολική επιβίωση (μέση συνολική επιβίωση 44 μήνες αντί 8 μηνών σε μεταστάσεις σε άλλες εντοπίσεις)<sup>165</sup>. Οι πνευμονικές μεταστάσεις συνδέονται με καλύτερη συνολική επιβίωση (HR 0.547), ενώ ασθενείς με ηπατικές και οστικές μεταστάσεις είχαν ταχύτερη εξέλιξη της νόσου με μικρότερη επιβίωση (HR 2.001 για το ήπαρ, 4.012 για τα οστά)<sup>163</sup>. Η τοποπεριοχική υποτροπή, από την άλλη, δε φαίνεται να επηρεάζει τη συνολική επιβίωση. Πράγματι, ο Sung και οι συνεργάτες του έδειξαν μία μεγαλύτερη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με πνευμονικές μεταστάσεις από ότι σε ασθενείς με οστικές μεταστάσεις σε ένα σύνολο 46 ασθενών<sup>174</sup>. Μία μελέτη

του Van Weert και των συνεργατών του ανέφερε μία μέση συνολική επιβίωση 32 μηνών σε ασθενείς με πνευμονικές μεταστάσεις αντί 20 μηνών σε ασθενείς με μεταστατική νόσο σε άλλες εντοπίσεις<sup>166</sup>. Για τους ασθενείς με πτωχή πρόγνωση, η θεραπευτική αντιμετώπιση είναι απαραίτητη και η ένταξη σε κλινικές δοκιμές συνιστάται θερμά.

Στις μέρες μας γίνεται μεγάλη προσπάθεια για την κατανόηση των μοριακών βιολογικών μηχανισμών του αδενοκυστικού καρκινώματος, στοχεύοντας στην αναγνώριση ασθενών υψηλού κινδύνου για υποτροπιάζουσα ή μεταστατική νόσο, με την ελπίδα ότι αυτοί θα επωφεληθούν από άλλους τρόπους θεραπείας όπως η χημειοθεραπεία και η ανοσοθεραπεία.

## 6.12 ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

Η ανοσοϊστοχημεία (immunohistochemistry, IHC) αποτελεί μία ιδιαίτερης σημασίας τεχνική, η οποία αξιοποιεί την ειδική σύνδεση μεταξύ ενός αντισώματος και ενός αντιγόνου, που ως στόχο να ανιχνεύσει και να εντοπίσει συγκεκριμένα αντιγόνα στα κύτταρα και στους ιστούς με τη βοήθεια οπτικού μικροσκοπίου<sup>175</sup>.

Η πρώτη αναφορά στη χρήση της ανοσοϊστοχημείας ήταν το 1941 από τον Coons, ο οποίος ανέφερε την ανάπτυξη ενός αντισώματος για την ανίχνευση βακτηρίων πνευμονιοκόκκου<sup>176</sup>. Ο Albert Hewett Coons (1912-1978) ήταν Αμερικανός παθολόγος, παθολογοανατόμος και ανοσολόγος. Ήταν ο πρώτος που ανέπτυξε τις μεθόδους του ανοσοφθορισμού για αντισώματα στις αρχές της δεκαετίας του 1940.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται σε πολλούς κλάδους της έρευνας, και έχει γίνει μία απαραίτητη τεχνική για τη διάγνωση στην παθολογική ανατομική<sup>177</sup>. Χρησιμοποιείται με αποτελεσματικότητα σε ιστούς που έχουν σταθεροποιηθεί με φορμόλη και ενβυθιστεί σε παραφίνη<sup>178</sup>. Η μέθοδος χαρακτηρίζεται από υψηλή αναπαραγωγιμότητα. Η ανοσοϊστοχημεία χρησιμοποιείται συχνά στην κατηγοριοποίηση των νεοπλασμάτων, στην αναγνώριση της πρωτοπαθούς εστίας ενός μεταστατικού όγκου και στην ανίχνευση μικροσκοπικών εστιών καρκινικών κυττάρων δυσδιάκριτων στην συνηθισμένη χρώση με αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Επιπροσθέτως, χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο για να παρέχει προγνωστικές πληροφορίες σε πολλές κακοήθειες, όπως στον καρκίνο του μαστού, στο γαστρεντερικό καρκίνο, στον καρκίνο του πνεύμονα, στους αιματολογικούς καρκίνους και στους καρκίνους του κεντρικού νευρικού συστήματος<sup>179</sup>. Παράδειγμα αυτού αποτελεί ο έλεγχος για την ενίσχυση του HER-2 στον καρκίνο του μαστού<sup>180</sup>. Επίσης χρησιμοποιείται ως δείκτης για μοριακές μεταβολές σε νεοπλάσματα, όπως οι IDH1 και ATRX μεταλλάξεις σε όγκους του εγκεφάλου<sup>181</sup>.

Τα διαδοχικά βήματα στην ανοσοϊστοχημεία μπορούν να συνοψιστούν ως εξής: ανάκτηση του αντιγόνου, προσθήκη του πρωταρχικού αντισώματος, εφαρμογή ενός δευτερεύοντος αντισώματος, το οποίο συνδέεται με το πρωταρχικό αντίσωμα, και προσθήκη ενός αντιδραστικού παράγοντα, που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό του πρωταρχικού αντισώματος. Το πρώτο βήμα είναι συνήθως η ανάκτηση του αντιγόνου, η οποία περιλαμβάνει την προετοιμασία του ιστού, ώστε να ανακτηθεί το αντιγόνο, το οποίο καλύπτεται από τη σταθεροποίηση με φορμόλη και με αυτόν τον τρόπο γίνεται πιο προσβάσιμο στη σύνδεση με το αντίσωμα<sup>182</sup>. Αυτή η τεχνική, που αρχικά

περιεγράφηκε από τον Shi και συνεργάτες του, έχει αυξήσει σημαντικά την ευαισθησία της ανοσοϊστοχημείας και συνεπώς έχει διευρύνει την εφαρμογή της<sup>183,184</sup>.

Το πρωταρχικό αντίσωμα μπορεί να είναι μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό<sup>185</sup>. Γενικά, τα μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία στοχεύουν ένα συγκεκριμένο αντιγόνο, τείνουν να είναι περισσότερο ειδικά, ενώ τα πολυκλωνικά αντισώματα, τα οποία μπορούν να συνδεθούν με διαφορετικά αντιγόνα, τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα<sup>175</sup>.

Για να είναι εμφανής η σύνδεση του αντιγόνου με το αντίσωμα στο οπτικό μικροσκόπιο, είτε το πρωταρχικό είτε το δευτερεύον αντίσωμα, πρέπει να σημανθεί. Στην άμεση μέθοδο, το πρωταρχικό αντίσωμα σημαίνεται και εφαρμόζεται στον υπό εξέταση ιστό σε μία γρήγορη ενός βήματος διαδικασία. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος δεν χρησιμοποιείται συχνά, λόγω της έλλειψης της ενίσχυσης και επομένως υπάρχει ανάγκη για υψηλότερες συγκεντρώσεις αντισώματος, καθώς και είναι απαραίτητη η σήμανση κάθε πρωταρχικού αντισώματος. Στην έμμεση μέθοδο, το δευτερεύον αντίσωμα σημαίνεται, επιτρέποντας την ενίσχυση του σήματος, και χρησιμοποιείται με πολλά διαφορετικά πρωταρχικά αντισώματα. Υπάρχουν διάφορα μόρια σήμανσης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όπως φθορίζοντα μόρια και ένζυμα, όπως η αλκαλική φωσφατάση ή η υπεροξειδάση, τα οποία μετατρέπουν ένα άχρωμο υπόστρωμα σε έγχρωμο προϊόν αντιδράσεως, του οποίου η εναπόθεση μπορεί να παρατηρηθεί με οπτικό μικροσκόπιο<sup>175</sup>.

## 6.13 ΜΕΘΟΔΟΣ FISH

Η μέθοδος του φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού (Fluorescence In Situ Hybridisation, FISH) είναι μία τεχνική που άρχισε να εφαρμόζεται στις αρχές της δεκαετίας του 1980 και αποτελεί μία από τις σημαντικότερες εξελίξεις στο χώρο της κυτταρογενετικής<sup>186</sup>. Αποτελεί μια μεθοδολογία υβριδισμού DNA με την οποία είναι δυνατή η ανίχνευση και απεικόνιση συγκεκριμένων ακολουθιών DNA πάνω στα χρωμοσώματα<sup>187</sup>.

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται ειδικοί φθορίζοντες DNA ανιχνευτές (probes) επισημασμένοι με μόρια αναφοράς και η παρατήρηση και απεικόνιση γίνεται με ειδικά μικροσκόπια φθορισμού. Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται τη συμπληρωματικότητα ενός επισημασμένου μονόκλωνου κομματιού DNA (DNA ανιχνευτής), που περιέχει μια συγκεκριμένη ακολουθία DNA, τη συμπληρωματική της οποίας (DNA στόχος) αναζητάμε στα χρωματοσώματα. Με αυτόν τον τρόπο, η μέθοδος αυτή επιτρέπει τον προσδιορισμό του αριθμού και της τοποθεσίας συγκεκριμένων ακολουθιών DNA στα ανθρώπινα κύτταρα<sup>188</sup>.

Με τη βοήθεια της FISH μπορούμε να εντοπίσουμε ισορροπημένες ή όχι μεταθέσεις (translocations), να αναγνωρίζουμε χρωματοσωματικές διπλοποιήσεις (duplications) και να αναλύσουμε πολύπλοκους χρωματοσωματικούς ανασυνδυασμούς (rearrangements). Στην τεχνική FISH γίνεται είτε ανίχνευση του αριθμού των αντιγράφων ενός γονιδίου σε ένα κύτταρο είτε απεικόνιση των μεταβολών της δομής του οι οποίες προκαλούνται από χρωμοσωμικές αναδιατάξεις (χιμαιρικά γονίδια)<sup>189</sup>.

Η τεχνική FISH χρησιμοποιείται για τη διάγνωση γενετικών ασθενειών, τη χαρτογράφηση των χρωμοσωμάτων και την αναγνώριση πρωτοογκογονιδίων και χρωμοσωμικών ανωμαλιών που συμβάλλουν στην ανάπτυξη διαφόρων τύπων καρκίνου. Επομένως, η FISH μπορεί να βοηθήσει καθοριστικά στη διάγνωση, στον καθορισμό της πρόγνωσης και στην εκτίμηση της αποδρομής μίας νόσου, όπως ο καρκίνος. Αυτή η τεχνική μπορεί να ανιχνεύσει καρκινικά κύτταρα με μεγαλύτερη ευκολία από άλλες κυτταρογενετικές μεθόδους<sup>190</sup>.

Ένα από τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματα της FISH σε σχέση με τις άλλες μεθόδους της μοριακής βιολογίας είναι η παροχή μοριακών πληροφοριών σε συνδυασμό της μορφολογίας του κυττάρου. Στοχεύοντας το πυρηνικό RNA και τα αντίστοιχα γονίδια των κυττάρων, η FISH μπορεί να παρέχει σημαντικές πληροφορίες πάνω στη γονιδιακή έκφραση στα υγιή και παθολογικά κύτταρα. Η χρήση της RNA FISH για τη μελέτη της

ενδοκυττάριας εντόπισης του RNA έχει αυξήσει τη γνώση πάνω στη μεταγραφή του DNA και στη μετάφραση του RNA. Επιπροσθέτως, η FISH εξετάζει πολλές ενδιαφέρουσες πτυχές της οργάνωσης του κυτταρικού πυρήνα. Η μέθοδος αυτή μπορεί να προσφέρει υψηλής ανάλυσης πληροφορίες πάνω στη δομή των χρωμοσωμάτων, τη θέση των γονιδίων και τη σχέση των γονιδίων και των μεταγραφών τους στα διάφορα κύτταρα και κατά τη διάρκεια διαφορετικών σταδίων του κυτταρικού κύκλου. Η ακριβής ανάλυση της FISH εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την υψηλή ποιότητα της ανάλυσης με το μικροσκόπιο φθορισμού<sup>190</sup>.

Η FISH επίσης επιτρέπει τον έλεγχο του συνόλου του γονιδιώματος για χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Αυτό στηρίζεται στη σύγκριση του DNA από δύο διαφορετικά γονιδιώματα και αναγνωρίζει γονιδιακές αλλαγές του ενός γονιδιώματος σε σχέση με το άλλο. Αυτό επιτρέπει την ανίχνευση ακόμη και μικρού αριθμού χρωμοσωμικών αλλαγών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί διαγνωστικά για την αναγνώριση μικρών διαγραφών ή ενισχύσεων που επηρεάζουν ένα ή δύο γονίδια. Επομένως, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορούν όλες να αναγνωριστούν, παρέχοντας σημαντικές διαγνωστικές και προγνωστικές πληροφορίες για την αντιμετώπιση του καρκίνου<sup>190</sup>.



## 6.14 MYB

Πολλές κακοήθεις νεοπλασίες χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες χρωμοσωμικές μετατοπίσεις, που θεωρούνται σήμα κατατεθέν τους. Οι επακόλουθες γονιδιακές αναδιατάξεις μπορούν να δημιουργήσουν ογκογόνες πρωτεΐνες όταν η αρχική εντόπιση της μετατόπισης περιλαμβάνει πρωτοογκογονίδια<sup>191</sup>. Από τις αρχές του 1990, μελέτες στον καρυότυπο είχαν δείξει ότι μία μετατόπιση που περιλαμβάνει τα χρωμοσώματα 6 και 9 αποτελεί ένα όχι τυχαίο, αλλά αντίθετα συχνό γεγονός στο αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>192</sup>. Μία μελέτη από τον Presson και τους συνεργάτες του εξέτασε σχολαστικά τη μετατόπιση μεταξύ των χρωμοσωμάτων 6 και 9 [t(6;9)] σε 11 ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα των σιελογόνων αδένων και του μαστού και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ήταν πράγματι ένα επαναλαμβανόμενο γεγονός, το οποίο αναγνωρίστηκε στο 100% των περιπτώσεων που εξετάστηκαν<sup>193</sup>. Αυτή η μετατόπιση οδήγησε στη σύντηξη του ογκογονιδίου MYB, που εντοπίζεται στη χρωμοσωμική θέση 6q23, με το μεταγραφικό παράγοντα NFIB, που εντοπίζεται με τη σειρά του στη χρωμοσωμική θέση 9p22–23. Αργότερα, ο Mitani και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι κάποια t(6;9)- αρνητικά περιστατικά με αδενοκυστικό καρκίνωμα παρουσιάζουν γονιδιακές αναδιατάξεις στο γονίδιο MYB-like 1 (MYBL1)<sup>194</sup>.

Συνολικά φαίνεται ότι άνω του 70% των περιπτώσεων αδενοκυστικού καρκινώματος παρουσιάζουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες που σχετίζονται με τα γονίδια MYB ή MYBL1<sup>194,195</sup>. Οι αναδιατάξεις στο γονίδιο MYB είναι πιο συχνές, συνήθως ανευρίσκονται μέχρι και στο 60% των περιπτώσεων<sup>195</sup>, ενώ οι αναδιατάξεις στο γονίδιο MYBL1 λαμβάνουν χώρα περίπου στο 35% των MYB-NFIB αρνητικών ασθενών<sup>194</sup>. Πολλές μελέτες διερεύνησαν σε ποικίλα επίπεδα αυτές τις γονιδιακές αναδιατάξεις, από την εκτίμηση της διαγνωστικής και προγνωστικής αξίας τους έως τις βιολογικές συνέπειες αυτών των χρωμοσωμικών αλλαγών<sup>195–197</sup>.

Με την ανακάλυψη της μετατόπισης μεταξύ των γονιδίων MYB και NFIB σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα, πολλές μελέτες διενεργήθηκαν με σκοπό την κατανόηση των συνεπειών της μετατόπισης αυτής σε μοριακό επίπεδο και πώς αυτή συνδέεται με την ανάπτυξη και εξέλιξη του νεοπλασματος. Η πλειοψηφία των μελετών έδειξε ότι το αποτέλεσμα της μετατόπισης t(6;9) MYB-NFIB είναι η υπερλειτουργία του γονιδίου MYB, η οποία οδηγεί σε μία αύξηση του επιπέδου της πρωτεΐνης MYB<sup>193,197,198</sup>. Έχει αποδειχθεί ότι οι MYB-NFIB θετικοί ασθενείς έχουν αυξημένα επίπεδα mRNA του MYB σε σύγκριση με τους MYB-NFIB αρνητικούς ασθενείς<sup>198</sup>.

Επίσης, ο χρόνος ημίσειας ζωής της πρωτεΐνης MYB στα κύτταρα που εκφράζουν τη σύντηξη MYB-NFIB είναι σημαντικά μεγαλύτερος<sup>197</sup>. Ωστόσο, για να καταλάβουμε πλήρως τις συνέπειες της έκφρασης της μετατόπισης στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, είναι σημαντικό να συγκεντρώσουμε πληροφορίες πάνω στο ογκογονίδιο MYB.

Η ιστορία πίσω από την ανακάλυψη του MYB ως ένα ογκογονίδιο στον άνθρωπο μας πηγαίνει πίσω στις αρχές του εικοστού αιώνα. Στη δεκαετία του 1930, ανακαλύφθηκε ένας ιός που ευθύνεται για μία μορφή λευχαιμίας στα πτηνά (Ιός της Λευχαιμίας των Πουλερικών, Avian Myeloblastosis Virus, AMV)<sup>199</sup>. Μερικές δεκαετίες αργότερα, διαπιστώθηκε ότι σχεδόν όλα τα γονίδια αυτού του ρετροϊού είχαν αντικατασταθεί από μία ακολουθία κυτταρικής προέλευσης, τη MYB<sup>200,201</sup>. Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι το MYB προκαλεί λευχαιμία όχι μόνο στα πτηνά και στα τρωκτικά, αλλά εμπλέκεται επίσης στην ανάπτυξη αιματολογικών κακοηθειών στον άνθρωπο και καρκίνου του παχέος εντέρου<sup>202</sup>. Το MYB δρα κυρίως ως ένα ενεργοποιητής της μεταγραφής, το οποίο σημαίνει ότι η πλειοψηφία των στόχων του MYB είναι ρυθμισμένοι θετικά, ενώ σχετικά λίγοι στόχοι καταστέλλονται από το MYB. Έχει σημαντική θέση στην εμβρυογένεση και ομοίωση, όπως στην αιμοποίηση<sup>202</sup>. Ένα παράδειγμα είναι ότι ο αποκλεισμός του γονιδίου MYB είναι θανατηφόρος στη 15<sup>η</sup> εμβρυική ημέρα, με τα πειραματόζωα να παρουσιάζουν έλλειψη όλων των σειρών των διαφοροποιημένων αιμοσφαιρίων<sup>203</sup>. Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε, αυτό το γονίδιο μπορεί επίσης να δρα ως ένα ογκογονίδιο. Πολλά γονίδια, τα οποία ρυθμίζονται από το MYB, συνδέονται με την ογκογένεση, όπως τα γονίδια MYC, CCNA1, CCNB1, CCNE1 και KIT (κυτταρικός πολλαπλασιασμός), BCL2, HSPA5 και HSP70 (κυτταρική επιβίωση) και GATA3 (κυτταρική διαφοροποίηση)<sup>202</sup>. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι όργανα και ιστοί, στους οποίους το MYB έχει ένα φυσιολογικό ρόλο, φαίνεται να είναι ιδιαίτερες επιρρεπείς στην ογκογένεση σχετιζόμενη με το MYB, όπως ο μυελός των οστών (οξεία και χρόνια μυελογενής λευχαιμία), το παχύ έντερο (καρκίνος παχέος εντέρου) και οι σιελογόνοι αδένες (αδενοκυστικό καρκίνωμα)<sup>202</sup>. Ενδιαφέρον είναι επίσης ότι το MYB δρα ως καταστολέας της έκφρασης του Kit κατά την ανάπτυξη του υπογνάθιου σιελογόνου αδένου<sup>204</sup>. Η ελάττωση του Kit καταστέλλει την μορφογένεση και την κυτταρική διαφοροποίηση. Επομένως, η ενεργοποίηση του MYB συμβάλλει στο σωστό συγχρονισμό της οργανογένεσης διατηρώντας τα κύτταρα σε ένα αδιαφοροποίητο στάδιο<sup>204</sup>.

Η συμμετοχή του MYB σε χρωμοσωμικές μετατοπίσεις δεν περιορίζεται μόνο στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, καθώς και άλλες κακοήθεις νεοπλασίες παρουσιάζουν αναδιατάξεις του MYB με διαφορετικά γονίδια, όπως το TCRB στην οξεία λεμφοβλαστική T λευχαιμία (T-cell acute lymphoblastic leukemia) (T-ALL)<sup>202</sup>, το GATA1 στην οξεία λευχαιμία (acute basophilic leukemia)<sup>205</sup> και το QKI στο αγγειοκεντρικό γλοίωμα (angiocentric glioma)<sup>206</sup>. Στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, η σύντηξη των MYB-NFIB προκαλεί υπερενεργοποίηση του MYB, ωστόσο ο ακριβής μηχανισμός δράσης δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Δεν είναι γνωστό εάν η αύξηση στην έκφραση του MYB είναι αποτέλεσμα της απώλειας στο γονίδιο MYB ή εάν η μικρή έκταση περιοχή του γονιδίου NFIB, που υπάρχει στο νέο γονίδιο σύντηξης, έχει το σπουδαιότερο ρόλο<sup>207</sup>. Μία έρευνα από τον Gao και συνεργάτες του έδειξε ότι μόνο κύτταρα που εκφράζουν τη σύντηξη MYB-NFIB παράγουν πρωτεΐνη MYB με σημαντικά μεγαλύτερη ημίσεια ζωή, υποδεικνύοντας ότι το γονίδιο NFIB έχει ένα σημαντικό ρόλο στην αύξηση της δράσης της πρωτεΐνης MYB<sup>197</sup>.

Σημαντική πρόοδος στην κατανόηση μας ως προς τον τρόπο που η σύντηξη των MYB-NFIB πυροδοτεί την ενεργοποίηση του MYB επιτευχθεί από τον Drier και τους συνεργάτες του<sup>208</sup>. Οι συγγραφείς χαρτογράφησαν τα χρωμοσώματα και εξέτασαν τις γονιδιακές περιοχές που μετατοπίστηκαν στο γονίδιο MYB στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα και αναγνώρισαν πολλούς ενισχυτές στις αναδιαταγμένες περιοχές του NFIB, γεγονός που υποδεικνύει ότι η αναδιάταξη μεταξύ των γονιδίων MYB-NFIB προκαλεί την τοποθέτηση ισχυρών ρυθμιστών στο γονίδιο MYB<sup>208</sup>. Οι ενισχυτές αλληλοεπιδρούν με το MYB, δημιουργώντας ένα κύκλωμα, το οποίο διατηρεί υψηλού βαθμού έκφραση του MYB. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτοί οι μηχανισμοί δεν φαίνεται να εξαρτώνται αποκλειστικά από το NFIB και μπορούν να προκληθούν και με άλλα γονίδια που αλληλοεπιδρούν με το MYB, όπως τα γονίδια TGFBR3 και RAD51B<sup>208</sup>. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η αλληλεπίδραση με ενισχυτές είναι ιδιαίτερα σημαντικό γεγονός στην ογκογένεση του αδενοκυστικού καρκινώματος<sup>207</sup>.

Αλλαγές στη συμπεριφορά των κυττάρων είναι πιθανώς μία συνέπεια της υπερλειτουργίας του MYB ως ένας μεταγραφικός ενισχυτής. Οι ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα θετικό στη σύντηξη MYB-NFIB επιδεικνύουν υπερέκφραση στόχων του MYB που σχετίζονται με την απόπτωση (API5, BCL2, BIRC3, HSPA8, SET), την ανάπτυξη του κυττάρου ή την αγγειογένεση (CD53, FGF2, KIT, MYC, VEGFA), τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου (CCNB1, CDC2, MAD1L1) και την κυτταρική συνοχή (CD34)<sup>193</sup>. Η υπερέκφραση του MYB φαίνεται να διεγείρει την

έκφραση γονιδίων, τα οποία σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (CCND1, MCL1) και την κυτταρική μετανάστευση και επιθετικότητα (ICAM1, VEGFA, MMP7, MMP9)<sup>209</sup>. Μελέτη έδειξε ότι οι βιολογικές διαδικασίες που επηρεάστηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό ήταν ο κυτταρικός κύκλος, η κυτταρική διαίρεση, η επιδιόρθωση του DNA, η μίτωση και η αντιγραφή του DNA<sup>210</sup>. Σε πρωτεϊνικό επίπεδο, η υπερέκφραση του MYB πυροδοτεί την παραγωγή β-catenin, N-cadherin, vimentin και α-SMA, ενώ καταστέλλει την παραγωγή της E-cadherin, γεγονός που θα μπορούσε να προκαλέσει αυξημένο κίνδυνο μεταστάσεων<sup>209</sup>.

Στην εποχή της εξατομικευμένης και στοχευμένης ιατρικής, ένα επαναλαμβανόμενο μοριακό γεγονός, που σχετίζεται με ένα ογκογονίδιο μοιάζει σαν ένας υποσχόμενος θεραπευτικός στόχος. Η προγνωστική αξία του MYB είναι ακόμα υπό συζήτηση, με αντιφατικά αποτελέσματα να έχουν δημοσιευτεί. Σε μία πρόσφατη μελέτη μίας σειράς 123 ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα σε μακροχρόνια παρακολούθηση, διαπιστώθηκε ότι ασθενείς με αλλαγές στο γονίδιο MYB είχαν βελτιωμένη επιβίωση συγκριτικά με αυτούς που δεν είχαν αυτήν τη γενετική αλλαγή<sup>211</sup>. Αντίθετα, ο Mitani και οι συνεργάτες του παρουσίασαν με άμεση συσχέτιση μεταξύ των αλλαγών στο MYB και στην εμφάνιση μεταστάσεων<sup>212</sup>. Σε αυτό το συμπέρασμα κατέληξαν ο Xu και οι συνεργάτες του μετά από μελέτες<sup>209</sup>. Αυξημένα επίπεδα MYB mRNA αναγνωρίστηκαν επίσης σε ασθενείς με μία τάση για μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με λιγότερο επιθετικές περιπτώσεις ασθενών<sup>213</sup>. Οι ασθενείς με αναδιατάξεις στο γονίδιο MYB βρέθηκε ότι παρουσιάζουν μικρότερη συνολική επιβίωση<sup>214</sup>. Σχετικά με τη συγκεκριμένη σύντηξη MYB-NFIB, η πλειοψηφία των μελετών δεν έδειξε κάποια άμεση σχέση με την επιβίωση ελεύθερη νόσου<sup>213-216</sup>. Συμπέρασμα που τονίζεται σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση<sup>217</sup>.

Ανεξάρτητα της προγνωστικής της αξίας, το υψηλό ποσοστό ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα, που παρουσιάζουν τη μετατόπιση MYB-NFIB, ενισχύει τη σκέψη ότι θα μπορούσε να αποτελέσει ένα ελπιδοφόρο θεραπευτικό παράγοντα. Επομένως, ένα φάρμακο, το οποίο αναστέλλει τη δράση του MYB θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στους ασθενείς, στους οποίους εκφράζεται αυτή η μετατόπιση. Ο Mandelbaum και οι συνεργάτες του αναγνώρισαν κάποιους αγωνιστές του ρετινοϊκού οξέος ως ισχυρούς αναστολλείς του MYB<sup>218</sup>. Σε κλινική μελέτη δεκαοκτώ ασθενών με υποτροπιάζον, μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα, οι έντεκα ασθενείς (68%) παρουσίασαν σταθεροποίηση της νόσου<sup>219</sup>. Κανένας ασθενής δεν είχε μερική ή πλήρη απόκριση στη φαρμακευτική αγωγή. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι οι αγωνιστές

ρενιτοϊκού οξέος ήταν μία αποτελεσματική και ασφαλής φαρμακευτική αγωγή για τη σταθεροποίηση της νόσου, καθώς δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική παρενέργεια<sup>219</sup>.

Μία μελέτη του Yusenko και συνεργατών του έδειξε ότι το monensin, ένας ισχυρός αναστολέας, είχε ελπιδοφόρα αποτελέσματα. Αυτό το φάρμακο πυροδότησε τη διάσπαση του MYB και επίσης ανέστειλε τη μεταγραφική του δράση<sup>220</sup>. Επόμενη μελέτη των συγγραφέων έδειξε ότι το orprozomib ανέστειλε με επιτυχία την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων του αδενοκυστικού καρκινώματος και προκάλεσε την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων.

Μία κλινική μελέτη για το μεταστατικό αδενοκυστικό καρκίνωμα χρησιμοποιεί την εξουδετέρωση του MYB ως θεραπευτικό στόχο. Η κλινική μελέτη εξετάζει ένα εμβόλιο, το TetMYB, το οποίο στοχεύει στο MYB, σε συνδυασμό με ένα αντι-PD1 αντίσωμα, BGB-A317. Αυτή η μελέτη είναι η πρώτη εξέταση αυτού του εμβολίου στους ανθρώπους<sup>221</sup>.

Οι μελέτες δείχνουν ότι η αναστολή του MYB αποτελεί ένα ελπιδοφόρο μονοπάτι για τη στοχευμένη συστηματική θεραπεία του αδενοκυστικού καρκινώματος, με αρκετές προκλινικές μελέτες να έχουν ήδη θετικά αποτελέσματα. Σήμερα, δεν υπάρχουν εγκεκριμένα φάρμακα για τη συστηματική θεραπεία του αδενοκυστικού καρκινώματος<sup>207</sup>.

Το γονίδιο MYB αποτελεί ένα σημαντικό μεταγραφικό παράγοντα, ο οποίος συμμετέχει στην κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό. Αναζητήθηκαν χρωμοσωμικές μεταλλάξεις στο γονίδιο MYB που οδηγούν στη δημιουργία ογκογονιδίων όπως το MYB- NFIB. Η μετατόπιση μεταξύ του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 6 και του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 9 [t(6:9)(q22-23;p23-24)] έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του χμαιρικού γονιδίου MYB- NFIB. Το ογκογονίδιο αυτό έχει σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και φαίνεται να χαρακτηρίζει σε μοριακό επίπεδο το αδενοκυστικό καρκίνωμα, και θα μπορούσε μελλοντικά να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο.

## 6.15 NTRK

Η οικογένεια των νευροτροφικών υποδοχέων τυροσίνης κινάσης (NTRK) αποτελείται από 3 γονίδια καθοριστικά για την ανάπτυξη και φυσιολογία του νευρικού συστήματος<sup>222</sup>. Αυτά τα γονίδια (NTRK1, NTRK2 και NTRK3) κωδικοποιούν τους υποδοχείς TRKA, TRKB και TRKC, αντίστοιχα. Οι υποδοχείς έχουν ένα εξωκυττάριο τμήμα, όπου γίνεται η σύνδεση των συμπλόκων, μία διαμεμβρανική περιοχή και ένα ενδοκυττάριο τμήμα κινάσης<sup>223</sup>. Τα σύμπλοκα των TRK υποδοχέων ονομάζονται νευροτροφίνες και έχουν μία συγκεκριμένη εντόπιση για σύνδεση. Ο κάθε υποδοχέας ενεργοποιείται από ένα διαφορετικό σύμπλοκο, το οποίο πυροδοτεί τη φωσφορυλίωση της περιοχής της πρωτεϊνικής ενδοκυττάριας κινάσης. Ο παράγοντας ανάπτυξης νεύρου (nerve growth factor, NGF) συνδέεται με το NTRK1, ο εγκεφαλικός νευροτροφικός παράγοντας (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) μαζί με τη νευροτροφίνη 4 και 5 συνδέονται με το NTRK2 και η νευροτροφίνη 3 συνδέεται με το NTRK3 αλλά και με το NTRK1. Η σύνδεση των νευροτροφινών με τους υποδοχείς τους ενεργοποιεί σημαντικές πρωτεΐνες, όπως η C- γ φωσφολιπάση (C- γ phospholipase), πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα (mitogen activated protein kinase), φωσφοινοσιτιδική 3 κινάση (phosphatidylinositol 3 kinase). Οι υποδοχείς αυτοί συμβάλλουν στον πολλαπλασιασμό και επιβίωση των νευρικών κυττάρων, διατηρώντας με αυτόν τον τρόπο τη φυσιολογική λειτουργία του νευρικού συστήματος<sup>224</sup>.

Το γονίδιο NTRK1 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1 q21-q22. Η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται είναι η TRKA. Η πρωτεΐνη TRKA δρα ως ένας υποδοχέας του παράγοντα ανάπτυξης νεύρου βήτα (nerve growth factor beta, NGFβ)<sup>225</sup>.

Το γονίδιο NTRK2 εντοπίζεται στο γονίδιο 9 q22.1. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί τον υποδοχέα TRKB, ο οποίος συνδέεται με τον εγκεφαλικό νευροτροφικό παράγοντα (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) και τη νευροτροφίνη 4 (neurotrophin 4, NTF4). Το γονίδιο προωθεί την πλαστικότητα και επιβίωση των νευρικών κυττάρων, καθώς και τη λειτουργία των συνάψεων<sup>226</sup>.

Το γονίδιο NTRK3 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 15 q25. Η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί είναι η TRKC, η οποία είναι μία γλυκοπρωτεΐνη. Το γονίδιο αυτό συμμετέχει στη διαφοροποίηση και επιβίωση των νευρικών κυττάρων<sup>227</sup>.

Αλλαγές στα NTRK γονίδια μπορούν να προκαλέσουν καρκινογένεση στα νευρικά αλλά και μη νευρικά κύτταρα<sup>224</sup>. Η σύντηξη των NTRK γονιδίων οδηγούν στη

δημιουργία παθολογικών πρωτεϊνών, οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων. Η περιοχή 3' του γονιδίου NTRK ενώνεται με την αλληλουχία 5' ενός άλλου γονιδίου, δημιουργώντας μία χμαιρική πρωτεΐνη με την περιοχή της NTRK κινάσης ενεργοποιημένη ανεξαρτήτως της ύπαρξης ή όχι συμπλόκου. Αυτό οδηγεί στην ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των νευρικών κυττάρων. Η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός, η απόπτωση και σημαντικά μονοπάτια συνάψεων δεν λειτουργούν φυσιολογικά<sup>222,223</sup>.

Μία μελέτη του Li και των συνεργατών του, στην οποία συμμετείχαν 173 ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα, έδειξε αλλαγές στο γονίδιο NTRK σε οκτώ ασθενείς<sup>228</sup>. 4 ασθενείς είχαν μεταλλάξεις, δύο είχαν συντήξεις και δύο είχαν διαγραφές του γονιδίου NTRK. Η συχνότητα της σύντηξης στο γονίδιο NTRK είναι κάτω από 1% στους συμπαγείς όγκους, αλλά είναι πολύ συχνό (με συχνότητα που πλησιάζει το 100%) σε σπάνιους όγκους, όπως το εκκριτικό καρκίνωμα μαστού, το εκκριτικό καρκίνωμα των σιελογόνων αδένων (mammary analogue secretory carcinoma of the salivary gland), το συγγενές νεογνικό ινοσάρκωμα και το συγγενές μεσοβλαστικό νεφρώμα. Σύντηξη στο γονίδιο NTRK υπάρχει περίπου στο 40% των υψηλού βαθμού γλοιωμάτων των παιδικής ηλικίας. Αυτές οι συντήξεις υπάρχουν συχνότερα στα γονίδια NTRK1 και NTRK2<sup>224,229</sup>. Σε καρκινώματα με μεγαλύτερη συχνότητα, η επίπτωση των συντήξεων στο γονίδιο NTRK είναι λιγότερο από 5%. Αυτές οι γονιδιακές αλλαγές απαντώνται σε ποσοστά περίπου 0,2% στα νεοπλάσματα της κεφαλής και του τραχήλου, 0,2-0,3% στον καρκίνο του πνεύμονα, 0,7-1,5% στον καρκίνο του παχέος εντέρου, 0,3% στο δερματικό μελάνωμα και 1% στο σάρκωμα<sup>230</sup>.

Μικρός αριθμός μελετών έχει εξετάσει το γονίδιο NTRK σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα. Ο Ivanov και οι συνεργάτες του ανέφεραν υψηλή έκφραση του NTRK3 σε 17 από 18 παρασκευάσματα με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>231</sup>. Σε μία μελέτη του Le σχετικά με τη θεραπευτική δράση του Larotrectinib σε ασθενείς με NTRK-θετικούς καρκίνους των σιελογόνων αδένων, έλαβε μέρος μόνο ένας ασθενής με NTRK-θετικό αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>232</sup>. Ο Assunção και οι συνεργάτες του παρουσίασαν ένα περιστατικό γυναίκας 51 ετών με αδενοκυστικό καρκίνωμα μαστού, το οποίο ήταν NTRK-θετικό<sup>233</sup>.

Η ανοσοϊστοχημεία χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των αλλαγών στο γονίδιο NTRK. Θετική χρώση θεωρείται όταν εντοπίζεται τουλάχιστον στο 1% των καρκινικών κυττάρων. Η ευαισθησία για τις χρωμοσωμικές αλλαγές στα γονίδια NTRK1 και NTRK2 υπολογίζεται περίπου στο 96% και 100%, αντίστοιχα, ενώ στο

γονίδιο NTRK3 είναι 79%<sup>223</sup>. Μία άλλη μέθοδος είναι ο φθορίζοντας in situ υβριδισμός (fluorescence in situ hybridization, FISH), που χρησιμοποιείται συχνά στην ανίχνευση ογκογονιδίων σε συμπαγείς όγκους. Αυτή η μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει δομικές αλλαγές στο DNA<sup>222</sup>.

Η προσπάθεια θεραπευτικής αντιμετώπισης των καρκινωμάτων, που συνδέονται με αλλαγές στο γονίδιο NTRK οδήγησε στην ανάπτυξη του larotrectinib και του entrectinib, δύο καινοτόμων θεραπειών που εγκρίθηκαν από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA) το 2018 και το 2019, αντίστοιχα<sup>234-236</sup>. Το entrectinib είναι ένας αναστολέας των τυροσινικών κινασών των υποδοχέων τροπομυοσίνης TRKA, TRKB και TRKC, της πρωτοογκογονικής πρωτεϊνικής τυροσινικής κινάσης ROS (ROS1) και της κινάσης αναπλαστικού λεμφώματος (ALK). Το larotrectinib είναι ένας επιλεκτικός αναστολέας της κινάσης των υποδοχέων τροπομυοσίνης TRKA, TRKB και TRKC. Αυτό το φάρμακο σχεδιάστηκε ορθολογικά για να αποφεύγει τη δραστηριότητα με κινάσες εκτός στόχου. Χρησιμοποιείται σε ενήλικες, αλλά και σε παιδιά. Αμφότερα τα φάρμακα χορηγούνται από το στόμα, διεισδύουν στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και έχουν δείξει αποτελεσματικότητα και ασφάλεια σε τοπικά εκτεταμένα ή μεταστατικά καρκινώματα, που παρουσιάζουν συντήξεις του γονιδίου NTRK, ανεξαρτήτως της εντόπισης, του τύπου της σύντηξης, του ιστοπαθολογικού τύπου ή της ηλικίας του ασθενούς<sup>237</sup>. Η αναγνώριση ασθενών με νεοπλάσματα που παρουσιάζουν συντήξεις του γονιδίου NTRK συνεχώς αυξάνεται, επιτρέποντας μία προσωποποιημένη θεραπευτική προσέγγιση με την ανακάλυψη των NTRK αναστολέων. Επομένως, είναι σημαντικό να αναγνωρίσουμε τη σύντηξη σε NTRK γονίδια σε τοπικά εκτεταμένα ή μεταστατικά νεοπλάσματα, ώστε να επιτευχθούν καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα με τη χρήση προσωποποιημένων, στοχευμένων και καλά ανεκτών φαρμάκων, όπως το entrectinib και το larotrectinib<sup>222</sup>, τα οποία αποτελούν την πρώτη γενιά NTRK αναστολέων. Παρά το γεγονός ότι αυτά τα φάρμακα ελέγχουν αποτελεσματικά τη νόσο σε πολλούς ασθενείς, τα προχωρημένου σταδίου NTRK-θετικά καρκινώματα τελικά μπορεί να αποκτήσουν αντοχή στη NTRK αναστολή. Η αντοχή προκαλείται από την εμφάνιση μεταλλάξεων στο τμήμα της NTRK κινάσης. Ευτυχώς, κάποιες μεταλλάξεις που προκαλούν αντοχή μπορούν να ξεπεραστούν με τους NTRK αναστολείς δεύτερης γενιάς, όπως οι αναστολείς LOXO-195 και TPX-0005, η δράση των οποίων διερευνάται σε κλινικές μελέτες.



## 6.16 HER-2

Τα γονίδια έχουν τις πληροφορίες για τις διάφορες πρωτεΐνες που ένα κύτταρο χρειάζεται για να παραμείνει υγιές και για να λειτουργεί φυσιολογικά. Μερικά γονίδια και οι πρωτεΐνες που αυτά κωδικοποιούν μπορούν να επηρεάσουν τον τρόπο που τα καρκινικά κύτταρα συμπεριφέρονται και που ανταποκρίνονται σε μία συγκεκριμένα θεραπεία. Επομένως, μπορούμε σε ιστικό παρασκεύασμα να ελέγξουμε ποια γονίδια είναι φυσιολογικά και ποια είναι παθολογικά. Επίσης, οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα παθολογικά γονίδια μπορούν με τη σειρά τους να ελεγχθούν.

Το γονίδιο του υποδοχέα του Ανθρώπινου Επιδερμικού Αυξητικού Παράγοντα Τύπου 2 (Human epidermal growth factor receptor 2, HER-2) σχετίζεται με την ανάπτυξη του καρκίνου. Το HER-2 γονίδιο κωδικοποιεί τις HER-2 πρωτεΐνες. Οι HER-2 πρωτεΐνες είναι υποδοχείς των κυττάρων. Σε φυσιολογικές συνθήκες οι HER-2 υποδοχείς βοηθούν στον έλεγχο της ανάπτυξης, της διαίρεσης και της επιδιόρθωσης ενός υγιούς κυττάρου. Ωστόσο σε κάποιες περιπτώσεις καρκινωμάτων το γονίδιο HER-2 δεν λειτουργεί σωστά και παράγει πολλά αντίγραφα αυτού. Όλα τα επιπλέον γονίδια HER-2 δίνουν την εντολή στα κύτταρα να παράγουν πολλούς HER-2 υποδοχείς. Αυτό το γεγονός έχει ως αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη και διαίρεση των κυττάρων.

Οι καρκίνοι, οι οποίοι παρουσιάζουν ενίσχυση του γονιδίου HER-2 ή υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER-2, ονομάζονται HER-2 θετικοί καρκίνοι. Αυτοί χαρακτηρίζονται από ταχύτερη ανάπτυξη και είναι πιο πιθανό να διασπείρονται και να υποτροπιάζουν σε σύγκριση με τους HER-2 αρνητικούς καρκίνους. Ωστόσο, υπάρχουν φάρμακα που στοχεύουν ειδικά τους HER-2 θετικούς καρκίνους.

Οι εργαστηριακές εξετάσεις που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των HER-2 θετικών καρκινωμάτων είναι η ανοσοϊστοχημεία και η μέθοδος του φθορίζοντος in situ υβριδισμού (Fluorescence In Situ Hybridisation, FISH).

Στον ανοσοϊστοχημικό έλεγχο χρησιμοποιήσαμε μία χημική βάση που βάφει τις HER-2 πρωτεΐνες. Η ανοσοϊστοχημεία βαθμολογεί από το 0 έως το 3+ και μετράει το σύνολο των HER-2 πρωτεϊνών στην επιφάνεια των κυττάρων σε ένα καρκινικό ιστικό παρασκεύασμα. Εάν η βαθμολόγηση είναι από 0 έως 1+, θεωρείται HER-2 αρνητικό. Εάν είναι 2+, θεωρείται οριακό. Μία βαθμολόγηση του 3+ θεωρείται HER-2 θετικό. Εάν τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημείας είναι οριακά τότε είναι απαραίτητος ο έλεγχος με FISH, ώστε να καθοριστεί εάν ένα καρκίνωμα είναι HER-2 θετικό.

Κατά τον έλεγχο με FISH χρησιμοποιούνται ειδικές ουσίες, οι οποίες συνδέονται στις HER-2 πρωτεΐνες. Αυτές οι ειδικές ουσίες είναι χημικές ενώσεις που έχουν ως ιδιότητα να αλλάζουν χρώμα και να φωσφορίζουν στο σκοτάδι όταν προσδένουν στις HER-2 πρωτεΐνες. Αυτή η εξέταση είναι πιο ακριβής από την ανοσοϊστοχημεία. Με τον έλεγχο με FISH έχουμε μία βαθμολόγηση θετικό ή αρνητικό.

Εάν ένας όγκος αποδειχθεί ότι είναι HER-2 θετικός, τότε οι HER-2 πρωτεΐνες μπορούν να αποτελέσουν θεραπευτικό στόχο. Η τραστουζουμάμπη (Trastuzumab) είναι ένα ανασυνδυασμένο εξανθρωποποιημένο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υποδοχέα HER-2. Έχει δειχθεί ότι η τραστουζουμάμπη αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων ογκογόνων κυττάρων τα οποία υπερεκφράζουν το HER-2<sup>238</sup>.

Μελέτες έχουν προσπαθήσει να διερευνήσουν μία πιθανή συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης του υποδοχέα HER-2 και της παθογένεσης του αδενοκυστικού καρκινώματος. Υπάρχουν αντιφατικές αναφορές σχετικά με την HER-2 έκφραση σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα, με το ποσοστό να διαφοροποιείται σημαντικά από καμία υπερέκφραση<sup>239-241</sup> έως 5%<sup>242</sup>, 17%<sup>243</sup>, άνω του 50%<sup>244,245</sup> και 100%<sup>246,247</sup>.

Μία μελέτη 24 ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα έδειξε ότι υπήρχε υπερέκφραση του HER-2 στους 11 ασθενείς (45,8%)<sup>248</sup>. Σε μία άλλη έρευνα 32 ασθενών βρέθηκε υπερέκφραση του HER-2 σε μόνο 5 ασθενείς (16%)<sup>249</sup>. Μία μελέτη 15 ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα έδειξε ότι κανένας ασθενής δεν είχε υπερέκφραση του HER-2<sup>250</sup>.

Μία μετα-ανάλυση του Egebjerg και συνεργατών του εξέτασε την έκφραση του HER-2 σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>251</sup>. Δεκαπέντε μελέτες συμπεριλήφθησαν με ένα σύνολο 614 ασθενών. Η επίπτωση της HER-2 θετικότητας ήταν 0,15%. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών δεν ήταν στατιστικά σημαντική, ωστόσο τρεις μελέτες ανέφεραν επίπτωση της τάξεως του 4,3%, 6,9% και 36%, ενώ 12 μελέτες ανέφεραν μία επίπτωση του 0%.

## 6.17 Ki-67

Ο πολλαπλασιασμός των νεοπλασματικών κυττάρων αποτελεί έναν καθοριστικό προγνωστικό δείκτη για τα κακοήθη νεοπλάσματα. Η κινητική των κυττάρων ενός όγκου επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την κλινική έκβαση των ασθενών που πάσχουν από καρκίνο. Ανάμεσα στις τεχνικές που ανιχνεύουν την πολλαπλασιαστική δραστηριότητα ενός όγκου, η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση των πρωτεϊνών που συσχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό έχει σημαντική θέση στη διερεύνηση των νεοπλασμάτων. Το Ki-67 είναι ένα αντιγόνο που συχνά χρησιμοποιείται για την ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι αντισωμάτων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων<sup>252</sup>.

Το αντιγόνο Ki-67 είναι μία πρωτεΐνη που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο MKI67. Το αντιγόνο αυτό αναγνωρίστηκε αρχικά σε κυτταρικούς πυρήνες ασθενών με λέμφωμα Hodgkin<sup>253</sup>. Το αντιγόνο Ki-67 είναι μία πρωτεΐνη στον πυρήνα που συνδέεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αποτελεί ένα κυτταρικό δείκτη πολλαπλασιασμού. Κατά την ενδιάμεση, μεταξύ δύο σταδίων της μίτωσης, φάση, το αντιγόνο Ki-67 ανιχνεύεται αποκλειστικά στον κυτταρικό πυρήνα, ενώ στη μίτωση η πρωτεΐνη μεταφέρεται στην επιφάνεια των χρωμοσωμάτων. Η πρωτεΐνη Ki-67 είναι παρούσα κατά τη διάρκεια όλων των ενεργών φάσεων του κυτταρικού κύκλου (G1, S, G2 και μίτωση), αλλά απουσιάζει από τα αδρανή κύτταρα (G0)<sup>254</sup>. Πιο συγκεκριμένα, το αντιγόνο Ki-67 εκφράζεται από τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα κατά τις φάσεις G1, S, G2 και M. Ξεκινά να εκφράζεται από το μέσο της G1 και κορυφώνεται στις G2 και M. Τα κύτταρα που βρίσκονται στις φάσεις G0 ή στην αρχή της G1 δεν εκφράζουν το αντιγόνο. Η περιεκτικότητα του κυττάρου στην πρωτεΐνη Ki-67 αυξάνει σημαντικά κατά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω της φάσης S του κυτταρικού κύκλου. Επιπροσθέτως, συνδέεται με τη μεταγραφή του ριβοσωμικού RNA. Αδρανοποίηση του αντιγόνου Ki-67 οδηγεί στην αναστολή της σύνθεσης του ριβοσωμικού RNA<sup>255</sup>.

Η μέτρηση του επιπέδου της έκφρασης του Ki-67 στα καρκινικά κύτταρα μέσω μίας διαδικασίας χρώσης μπορεί να μας δώσει πληροφορίες για τη συμπεριφορά ενός νεοπλάσματος και τη πρόγνωση των ασθενών. Υπάρχουν τρεις βαθμοί έκφρασης του Ki-67 αναλόγως του πολλαπλασιασμού των κυττάρων<sup>256</sup>. Στον βαθμό I (χαμηλό) έχουμε λιγότερα από δύο κύτταρα που πολλαπλασιάζονται σε κάθε εκατό κύτταρα. Στον βαθμό II (ενδιάμεσο) έχουμε μεταξύ 3 και 20 κυττάρων που πολλαπλασιάζονται σε κάθε 100 κύτταρα. Ενώ στον βαθμό III (υψηλό) έχουμε πάνω από 20 κύτταρα σε

κάθε 100 που πολλαπλασιάζονται. Σε αυτόν το βαθμό ο όγκος αναπτύσσεται ταχέως και εξαπλώνεται γρήγορα.

Ένας όγκος ο οποίος έχει μία έκφραση Ki-67 κάτω από 10% θεωρείται χαμηλής κακοήθειας. Αντίθετα ένας όγκος με έκφραση Ki-67 πάνω από 10% θεωρείται υψηλής κακοήθειας με μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι πιο επιθετικός και να εξαπλωθεί γρηγορότερα<sup>257</sup>. Επιπροσθέτως, μία μετα-ανάλυση 41 μελετών, στις οποίες συμμετείχαν 64.196 ασθενείς, έδειξε ότι το όριο της Ki-67 έκφρασης στο 25% αποτελεί έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την συνολική επιβίωση και την επιβίωση ελεύθερη νόσου<sup>258</sup>.

Αυτό το χαρακτηριστικό καθιστά το Ki-67 ένα κλινικά σημαντικό δείκτη πολλαπλασιασμού για πολλούς τύπους καρκίνων με επιβεβαιωμένη προγνωστική αξία σε μεγάλες κλινικές μελέτες<sup>259,260</sup>. Η διαγνωστική αξία του δείκτη Ki-67 μπορεί να είναι πολύ μεγάλη, βάσει ερευνών που δείχνουν ότι οι όγκοι με αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού είναι πιο επιθετικοί και έχουν μεγαλύτερη μεταστατική ικανότητα.

Μία μελέτη είκοσι ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα έδειξε ότι η υψηλή έκφραση του Ki-67 είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας μειωμένης συνολικής επιβίωσης. Επιπροσθέτως, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι οι ασθενείς οι οποίοι παρουσιάζουν υψηλή έκφραση αυτού του δείκτη πολλαπλασιασμού χρήζουν πιο επιθετική θεραπευτική αντιμετώπιση<sup>261</sup>.

Μία άλλη μελέτη από τον Norberg και συνεργάτες του προσπάθησε να αναλύσει την επίπτωση της έκφρασης του Ki-67 στην επιβίωση. Στη μελέτη συμμετείχαν 31 ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα και έδειξε ότι μία έκφραση του Ki-67 άνω του 10% υπάρχει σε όγκους βιολογικά πιο επιθετικούς και με αυξημένο κίνδυνο για μειωμένη συνολική επιβίωση<sup>262</sup>.

Μία αναδρομική μελέτη 32 ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα στους ελάσσονες σιελογόνους αδένες διενεργήθηκε από τον Bussari και τους συνεργάτες του<sup>263</sup>. Ιστοπαθολογικά, δεκατέσσερις ασθενείς (43,75%) είχαν καταταχθεί στο βαθμό I, οκτώ (25%) στο βαθμό II και δέκα (31,25%) στο βαθμό III. Το μέσο ποσοστό της έκφρασης του Ki-67 ήταν 27,12% στο βαθμό I, 34,43% στο βαθμό II και 38,45% στο βαθμό III. Επομένως, φαίνεται ότι η έκφραση του Ki-67 αυξάνεται παράλληλα με την αύξηση των ιστοπαθολογικών βαθμών του αδενοκυστικού καρκινώματος.

Μία μελέτη του Park και συνεργατών του είχε ως σκοπό να αξιολογήσει πιθανούς προγνωστικούς παράγοντες στους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>264</sup>. Ένα σύνολο 68 ασθενών συμμετείχαν στη μελέτη. Αυτή έδειξε ότι η έκφραση του Ki-

67 άνω του 7% ήταν στατιστικά σημαντικός παράγοντας για πτωχή επιβίωση. Το Ki-67 είχε ανεξάρτητη συσχέτιση με μειωμένη συνολική επιβίωση.

Μία μελέτη του Nordgård και συνεργατών του διερεύνησε την έκφραση του αντιγόνου Ki-67 σε σύγκριση με την κλινική εικόνα των ασθενών, την ιστοπαθολογική σταδιοποίηση και την πρόγνωση<sup>265</sup>. Στη μελέτη συμμετείχαν 44 ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα στους σιελογόνους αδένες. Η έκφραση του Ki-67 ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς που παρουσίαζαν αποτυχία της θεραπευτικής αντιμετώπισης. Επίσης, η έκφραση του Ki-67 ήταν υψηλότερη στους όγκους που εμφάνιζαν πάνω από 30% το συμπαγή υποτύπο και στους όγκους της ρινός και των παραρρινίων κόλπων σε σχέση με άλλες εντοπίσεις. Μία τιμή του Ki-67 άνω του 4% ήταν ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης στη μελέτη.

Συνοψίζοντας, οι εξελίξεις στη θεραπευτική αντιμετώπιση του αδενοκυστικού καρκινώματος δεν έχει σημαντική επίδραση στη φυσική εξέλιξη της νόσου. Η κυριότερη θεραπευτική επιλογή στην πλειοψηφία των ασθενών είναι η ριζική χειρουργική επέμβαση συνοδευόμενη από μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Η συχνή εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων συνεχίζει να καθορίζει την έκβαση της νόσου. Επί του παρόντος, η μόνες επιλογές σε ασθενείς με μεταστατική νόσο είναι η υποστηρικτική φροντίδα, η παρηγορητική χημειοθεραπεία ή η ένταξη σε κάποια κλινική μελέτη.

Η εις βάθος κατανόηση της μοριακής ταυτότητας αυτού του νεοπλάσματος είναι απαραίτητη, ώστε να αναπτυχθούν στο μέλλον νέες στοχευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις, οι οποίες θα μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν ιδιαίτερα στη θεραπεία του υποτροπιάζοντος ή μεταστατικού αδενοκυστικού καρκινώματος. Επιπροσθέτως, ο καθορισμός των κυριότερων παθογενετικών μηχανισμών αυτού του καρκινώματος θα οδηγήσει στην ανακάλυψη νέων προγνωστικών παραγόντων, οι οποίοι θα βοηθήσουν στον καλύτερο σχεδιασμό της θεραπευτικής αντιμετώπισης αλλά και παρακολούθησης αυτών των ασθενών.

# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι ένα σχετικά σπάνιο καρκίνωμα, το οποίο ευθύνεται για το 1% όλων των κακοηθών νεοπλασμάτων στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου, όπως και για το 10% όλων των νεοπλασμάτων των σιελογόνων αδένων<sup>266</sup>. Είναι το πιο συχνό κακοήθες νεόπλασμα των ελάσσονων σιελογόνων αδένων και ένα από τα πιο συχνά κακοήθη νεοπλάσματα των μείζονων σιελογόνων αδένων. Επιπροσθέτως, ο όγκος αυτός μπορεί να προέρχεται από περιοχές της κεφαλής και του τραχήλου όπου υπάρχουν εκκριτικοί αδένες, όπως η ρινική κοιλότητα, οι παραρρίνιοι κόλποι, ο λάρυγγας, η τραχεία, οι δακρυϊκοί και οι σημηματογόνοι αδένες<sup>53</sup>. Παρά το γεγονός ότι το αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορεί να παρουσιαστεί σχεδόν σε κάθε ηλικία, εμφανίζεται συνήθως κατά την πέμπτη και έκτη δεκαετία ζωής. Αναφορικά με την κατανομή του στα δύο φύλα, είναι πιο συχνό στις γυναίκες από τους άντρες<sup>120</sup>.

Οι ιστολογικοί υποτύποι, που αναγνωρίζονται κατά την παθολογοανατομική εξέταση του αδενοκυστικού καρκινώματος, είναι ο ηθμοειδής, ο σωληνοειδής και ο συμπαγής<sup>267</sup>. Αυτά τα καρκινώματα εμφανίζουν στις περισσότερες περιπτώσεις ένα συνδυασμό του ηθμοειδούς και σωληνοειδούς υποτύπου. Ο συμπαγής υποτύπος συνδέεται με προχωρημένο στάδιο κατά τη διάγνωση, απομακρυσμένες μεταστάσεις και χειρότερη πρόγνωση<sup>127</sup>. Αυτοί οι υποτύποι μπορούν να συνυπάρχουν σε διαφορετικές αναλογίες σε ένα συγκεκριμένο όγκο<sup>268</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα αποτελεί ένα απρόβλεπτο και συχνά επιθετικό τύπο καρκίνου των σιελογόνων αδένων. Παρουσιάζει μία χαμηλού βαθμού (low grade) ιστολογική εικόνα και αργή ανάπτυξη, παρά ταύτα χαρακτηρίζεται από μία επίμονη πορεία με συχνές υποτροπές της νόσου ακόμα και δεκαετίες μετά την αρχική διάγνωση<sup>269</sup>. Χαρακτηρίζεται από περινευρική διήθηση και συχνές τοπικές υποτροπές<sup>53</sup>. Αν και οι λεμφαδενικές μεταστάσεις στην περιοχή του τραχήλου είναι σπάνιες, οι απομακρυσμένες μεταστάσεις συχνά λαμβάνουν χώρα στους ασθενείς αυτούς<sup>119</sup>. Οι πνεύμονες, τα οστά και το ήπαρ αποτελούν τις πιο κοινές μεταστατικές εντοπίσεις.

Η θεραπεία εκλογής του αδενοκυστικού καρκινώματος περιλαμβάνει την κατά το δυνατόν ριζικότερη χειρουργική αφαίρεση του όγκου και τη μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Αντίθετα η χημειοθεραπεία δεν φαίνεται αποτελεσματική για την

αντιμετώπιση αυτού του όγκου και συνδέεται με χαμηλά ποσοστά απόκρισης των ασθενών<sup>108</sup>.

Τα τελευταία χρόνια έχει επιτευχθεί αξιόλογη πρόοδος στην κατανόηση της παθογένεσης του αδενοκυστικού καρκινώματος. Η μετατόπιση μεταξύ των γονιδίων MYB και NFIB θεωρείται το μοριακό χαρακτηριστικό αυτού του όγκου<sup>270</sup>. Η πρωτεΐνη, που εκφράζεται από το γονίδιο MYB, είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, ο οποίος επιτελεί ένα σημαντικό ρόλο στην κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό. Η δημιουργία ενός χμαιρικού γονιδίου MYB-NFIB οδηγεί στην υπερέκφραση της πρωτεΐνης MYB, η οποία αυξάνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Το αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορεί να παράγει υψηλά επίπεδα του υποδοχέα HER-2<sup>271</sup>, όπως και της πρωτεΐνης Ki-67<sup>272</sup>, η οποία είναι αντιγόνο του κυτταρικού πυρήνα κατά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Επιπροσθέτως, η σύντηξη του γονιδίου NTRK δύναται να παρουσιάσει ογκογόνο δράση<sup>273</sup>, η οποία έχει αναγνωριστεί σε παρασκευάσματα με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>274</sup>.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση των χαρακτηριστικών του αδενοκυστικού καρκινώματος στην ανοσοϊστοχημεία και σε μοριακό επίπεδο, καθώς και η συσχέτισή τους με την κλινική πορεία των ασθενών. Ανάμεσα στα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν είναι η έκφραση του γονιδίου NTRK και η επίπτωσή του στην επιβίωση. Εξ όσον γνωρίζουμε, μικρός αριθμός μελετών έχει εξετάσει το γονίδιο NTRK σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>231,274</sup>. Αποσαφηνίζοντας τη μοριακή βάση του αδενοκυστικού καρκινώματος, θα ήταν δυνατή η ανακάλυψη νέων προγνωστικών παραγόντων, αλλά και η ανάπτυξη καινοτόμων στοχευμένων θεραπειών<sup>275</sup>.



## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σε αυτή την αναδρομική πολυκεντρική μελέτη συμμετείχαν ασθενείς που νοσηλεύτηκαν σε Ωτορινολαρυγγολογικές Κλινικές πέντε Κρατικών Νοσοκομείων, όπου αντιμετωπίζονται ασθενείς με καρκίνο της κεφαλής και του τραχήλου και αποτελούν κέντρα αναφοράς για τους ογκολογικούς ασθενείς. Η μελέτη εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν» (αριθμός απόφασης: ΩΡΛ, ΕΒΔ2896/14-12-2017). Συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου, των οποίων η διάγνωση έγινε μεταξύ του έτους 2000 και 2021. Για τους ασθενείς που επιθυμούσαν να συμμετάσχουν στη μελέτη, ορίστηκε μία συνεδρία στη Β' Πανεπιστημιακή Ωτορινολαρυγγολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν». Οι ασθενείς ενημερώθηκαν αναλυτικά για τη μελέτη, έλαβαν το Πληροφοριακό Δελτίο, υπέγραψαν το Δελτίο Συγκατάθεσης και ενσωματώθηκαν στη μελέτη με έναν κωδικό αναγνώρισης. Στην πρώτη συνεδρία έλαβε χώρα η λήψη του ιστορικού και η κλινική εξέταση. Επίσης, αξιολογήθηκαν οι απεικονιστικές εξετάσεις και καταγράφηκε η θεραπευτική προσέγγιση που επιλέχθηκε σε κάθε ασθενή. Η παρακολούθηση των ασθενών ήταν τακτική και οποιαδήποτε αλλαγή στην πορεία τους, όπως τοπική υποτροπή της νόσου και εμφάνιση τραχηλικών ή απομακρυσμένων μεταστάσεων, καταγραφόταν. Η μελέτη δεν παρενέβει καθ' οιονδήποτε τρόπο στην παρακολούθηση τους από τους θεράποντες ιατρούς. Στους ασθενείς που διαμένουν εκτός Αθήνας και παρακολουθούνται σε Νοσοκομεία της επαρχίας υπήρχε τηλεφωνική επικοινωνία με τους ίδιους και με τους θεράποντες ιατρούς τους. Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν αφορούν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: πρωτοπαθής εστία, ηλικία κατά τη διάγνωση, φύλο, κλινικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά, σταδιοποίηση του καρκίνου, θεραπευτικές επιλογές, χρόνος μέχρι την υποτροπή και επιβίωση.

Ο συνολικός αριθμός των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν 50. Οι ασθενείς σταδιοποιήθηκαν σύμφωνα με το σύστημα σταδιοποίησης καρκίνου AJCC (American Joint Committee on Cancer staging system, 8th edition<sup>276,277</sup>). Το σύνολο των ασθενών είχε υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση για εξαίρεση του όγκου και η πλειοψηφία αυτών έλαβε μετεγχειρητικά συμπληρωματική θεραπεία (ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία).

Όλα τα παρασκευάσματα εξετάστηκαν στο Β' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν». Οι ασθενείς κατατάχθηκαν σύμφωνα με δύο ιστοπαθολογικά συστήματα ταξινόμησης, που βασίζονται στο ποσοστό του συμπαγούς υποτύπου στον όγκο. Το ένα σύστημα ταξινόμησης περιεγράφηκε σε δύο μελέτες από τον Perzin και συνεργάτες<sup>90</sup> και τον Szanto και συνεργάτες<sup>89</sup> και το άλλο από τον Spiro και συνεργάτες<sup>91,125</sup>. Θα αναφερόμαστε σε αυτά τα συστήματα ταξινόμησης ως Perzin / Szanto και Spiro, αντίστοιχα.

Κατά τον παθολογοανατομικό έλεγχο, αναζητήθηκαν χρωμοσωμικές μεταλλάξεις σε γονίδια που οδηγούν στη δημιουργία ογκογονιδίων και υπερέκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, η έκφραση του MYB και του HER-2 διερευνήθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας (immunohistochemistry, IHC) και της μεθόδου του φθορίζοντος in situ υβριδισμού (fluorescence in situ hybridization, FISH), ενώ η έκφραση του NTRK και του Ki-67 εξετάστηκε με ανοσοϊστοχημεία. Τα αποτελέσματα της εργαστηριακής ανάλυσης συσχετίστηκαν με τους κλινικούς δείκτες που προέκυψαν από την κλινική πορεία που καταγράφηκε κατά την τακτική παρακολούθηση.

## **MYB IHC**

Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο αναγνωρίζει το N-τερματικό πεδίο τόσο του v-MYB όσο και του c-MYB (Abcam ab45150, clone EP769Y, διάλυση 1:250), χρησιμοποιήθηκε για την ανοσοϊστοχημεία του MYB<sup>278</sup>. Συνοπτικά, επιλέχθηκε ένας αντιπροσωπευτικός κύβος παραφίνης και διενεργήθηκαν τομές πάχους πέντε χιλιοστών. Ο ιστός υποβλήθηκε σε αφαίρεση της παραφίνης και αφυδάτωση πριν την ανοσοϊστοχημική μελέτη. Το μονοκλωνικό αντίσωμα εφαρμόστηκε για 30 λεπτά. Το σήμα ανιχνεύτηκε με τη χρήση ενός πολυμερούς σετ ανίχνευσης. Μόνο η πυρηνική χρώση αξιολογήθηκε, κατά την οποία μελετήθηκε η ένταση και η αναλογία της χρώσης. Η ένταση της χρώσης ορίστηκε ως μηδενική (καμία χρώση), ασθενής (η χρώση στους ιστούς είναι μόλις αντιληπτή), ασθενής/ενδιάμεση (η χρώση είναι εμφανής, αλλά παραμένει ασθενής), ενδιάμεση (η χρώση είναι εμφανής, αλλά το φως περνάει με ευκολία από τις περιοχές με χρώση), ενδιάμεση/ισχυρή (μικρή ποσότητα φωτός περνάει από τις περιοχές με χρώση) ή ισχυρή (το φως δεν περνάει από τις περιοχές με χρώση)<sup>279</sup>. Τέλος, καθορίστηκε η αναλογία των κυττάρων με χρώση.

## **MYB FISH**

Η τεχνική του φθορίζοντος υβριδισμού με τη χρήση ενός MYB dual-color break-apart probe (ZTV-Z 2143-200; ZytoVision, Germany) χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση μετατοπίσεων, οι οποίες εντοπίζονται στο γονίδιο MYB<sup>280</sup>. Διενεργήθηκαν τομές πέντε χιλιοστών σε αντιπροσωπευτικό κύβο παραφίνης και σταθεροποιήθηκαν στους 50-60°C κατά τη διάρκεια της νύχτας. Την πρώτη ημέρα το δείγμα επώαστηκε σε μία θερμή εστία για 10 λεπτά στους 70°C. Στη συνέχεια το δείγμα τοποθετήθηκε σε ξυλένιο και αιθανόλη και εκπλύθηκε με απιονισμένο νερό. Το δείγμα επώαστηκε σε προθερμασμένο κιτρικό διάλυμα (Heat Pretreatment Solution Citric) για 15 λεπτά στους 98°C. Έγινε έκπλυση του δείγματος με απιονισμένο νερό και έπειτα αποστράγγισή του από το νερό. Διάλυμα πεψίνης εφαρμόστηκε στο δείγμα και τοποθετήθηκε για 15 λεπτά στους 37°C. Το δείγμα εκπλύθηκε σε διάλυμα Wash Buffer για πέντε λεπτά και μετά σε απιονισμένο νερό για ένα λεπτό. Εν συνεχεία, αφυδατώθηκε σε αιθανόλη και στέγνωσε με τη χρήση αέρα. 10 μl από το διάλυμα ZytoLight FISH Probe εφαρμόστηκε στο δείγμα. Το δείγμα καλύφθηκε με ειδική μεμβράνη (coverslip) και σφραγίστηκε. Τη δεύτερη ημέρα το κάλυμμα αφαιρέθηκε και το δείγμα βυθίστηκε σε διάλυμα Wash Buffer στους 37°C για 1-3 λεπτά. Το δείγμα εκπλύθηκε χρησιμοποιώντας διάλυμα Wash Buffer στους 37°C, τοποθετήθηκε σε αιθανόλη και στέγνωσε με τη χρήση αέρα, προστατευμένο από το φως. 25 μl του διαλύματος DAPI/DuraTect-Solution τοποθετήθηκε στο δείγμα. Τα δείγματα καλύφθηκαν με μεμβράνη (coverslip) και παρέμειναν σε σκοτεινό χώρο για 15 λεπτά. Στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε σκοτεινό χώρο. Οι τομές αξιολογήθηκαν με μικροσκόπιο φθορισμού.

## **HER-2 IHC**

Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER-2 εκτιμήθηκε με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας<sup>281</sup>. Το HerceptTest™ kit (πολυκλωνικό αντίσωμα; διάλυση 1:800; Dako) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση<sup>282</sup>. Διενεργήθηκε αφαίρεση της παραφίνης και ενυδάτωση του δείγματος. Τοποθετήθηκε σε νερό για 40 λεπτά στους 95-99°C. Ένας κύβος υπεροξειδάσης τοποθετήθηκε για πέντε λεπτά. Το αντίσωμα τοποθετήθηκε για 30 λεπτά. Η κυτταροπλασματική ανοσοαντίδραση αγνοήθηκε και εκτιμήθηκε μόνο η χρώση της κυτταρικής μεμβράνης.

Η έκφραση της πρωτεΐνης HER-2 βαθμολογήθηκε ως:

- **0 (αρνητική):** χωρίς χρώση ή η χρώση της κυτταρικής μεμβράνης είναι ατελής ή μόλις αντιληπτή σε  $\leq 10\%$  των καρκινικών κυττάρων.
- **1+ (αρνητική):** ατελής χρώση της κυτταρικής μεμβράνης, η οποία είναι μόλις αντιληπτή σε  $>10\%$  των καρκινικών κυττάρων.
- **2+ (ασθενώς θετική):** περιφερική χρώση της κυτταρικής μεμβράνης, η οποία είναι ατελής και/ή ασθενής/ενδιάμεση σε  $>10\%$  των καρκινικών κυττάρων, ή η χρώση της κυτταρικής μεμβράνης είναι πλήρης και περιφερική, η οποία ισχυρή σε  $\leq 10\%$  των καρκινικών κυττάρων.
- **3+ (θετική):** η περιφερική χρώση της κυτταρικής μεμβράνης είναι πλήρης και ισχυρή σε  $>10\%$  των καρκινικών κυττάρων<sup>281</sup>.

## HER-2 FISH

Η μέθοδος FISH [ZytoLight SPEC HER-2/CEN17 dual-color probe kit (ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Germany)] χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της ενίσχυσης του γονιδίου HER-2<sup>281</sup>. Συνοπτικά, διενεργήθηκαν τομές πάχους πέντε χιλιοστών σε αντιπροσωπευτικό κύβο παραφίνης. Τα δείγματα σταθεροποιήθηκαν στους 50-60°C κατά τη διάρκεια της νύχτας και εν συνεχεία τοποθετήθηκαν σε θερμή πλάκα στους 70°C για 10 λεπτά. Τοποθετήθηκαν σε ξυλένιο δύο φορές για 10 λεπτά και σε 100%, 100%, 90% and 70% αιθανόλη, κάθε φορά για πέντε λεπτά. Εκπλύθηκαν σε απιονισμένο νερό και μετά στέγνωσαν από το νερό. Διάλυμα πεψίνης εφαρμόστηκε στα δείγματα. Αυτά τοποθετήθηκαν για 15 λεπτά στους 37°C, εκπλύθηκαν για πέντε λεπτά σε διάλυμα Wash Buffer και μετά ξεπλύθηκαν με απεσταγμένο νερό για ένα λεπτό. Υποβλήθηκαν σε διαδικασία αφυδάτωσης, μέσω τοποθέτησής τους σε αιθανόλη (70%, 90%, 100%; για ένα λεπτό τη φορά), και στεγνώματος με τη χρήση αέρα. Για τον υβριδισμό, 10 μl του HER-2/CEN17 Dual Color Probe εφαρμόστηκαν σε κάθε δείγμα. Τα δείγματα αρχικά τοποθετήθηκαν σε θερμή πλάκα στους 75°C για το 1<sup>ο</sup> λεπτό και έπειτα υποβλήθηκαν σε υβριδισμό στους 37°C κατά τη διάρκεια της νύχτας. Τη δεύτερη ημέρα εκπλύθηκαν με τη χρήση διαλύματος Wash Buffer (δύο φορές για πέντε λεπτά) στους 37°C και τοποθετήθηκαν σε 70%, 90%, 100% αιθανόλη. Για ένα λεπτό κάθε φορά διενεργήθηκε στέγνωμα με τη χρήση αέρα σε προστασία από το φως. Τέλος, 25 μl του διαλύματος DAPI/DuraTect-Solution εφαρμόστηκαν και τα δείγματα καλύφθηκαν με προστατευτική μεμβράνη (coverslip) και αποθηκεύτηκαν στο σκοτάδι. Η αξιολόγηση έγινε με μικροσκόπιο φθορισμού.

## Ki-67 IHC

Ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 αναγνωρίστηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας<sup>283</sup>. Αυτός προσδιορίστηκε με τη χρήση ενός μονοκλωνικού αντιγόνου Ki-67 [monoclonal mouse anti-human Ki-67 antigen (MIB-1; διάλυση 1:200; Dako)]. Ένας αντιπροσωπευτικός κύβος παραφίνης επιλέχθηκε και έγιναν τομές πάχους πέντε χιλιοστών. Τα δείγματα αρχικά υποβλήθηκαν σε αφαίρεση της παραφίνης και αφυδάτωση. Εν συνεχεία, έγινε χρώση για ανοσοϊστοχημεία χρησιμοποιώντας το μονοκλωνικό αντίσωμα.

Αναγνωρίζονται τρεις βαθμοί έκφρασης του Ki-67 αναλόγως του πολλαπλασιασμού των κυττάρων:

- **Βαθμός I:** χαμηλή έκφραση, λιγότερα από δύο κύτταρα που πολλαπλασιάζονται σε κάθε εκατό κύτταρα.
- **Βαθμός II:** ενδιάμεση έκφραση, μεταξύ 3 και 20 κυττάρων που πολλαπλασιάζονται σε κάθε 100 κύτταρα.
- **Βαθμός III:** υψηλή έκφραση, πάνω από 20 κύτταρα που πολλαπλασιάζονται σε κάθε 100 κύτταρα. Σε αυτόν το βαθμό ένας όγκος αναπτύσσεται ταχέως και εξαπλώνεται γρήγορα.

## NTRK IHC

Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα [pan-Trk monoclonal antibody clone EPR17341 (Abcam, Cambridge, MA, USA)] χρησιμοποιήθηκε για την ανοσοϊστοχημική χρώση του NTRK<sup>284</sup>. Αυτό το αντίσωμα αναγνωρίζει τις πρωτεΐνες Trk A, B και C. Η συγκέντρωση του αντισώματος ήταν 6 ug/ml. Η ένταση της χρώσης αξιολογήθηκε ως αρνητική, ασθενής, μέτρια ή ισχυρή. Επιπροσθέτως, αξιολογήθηκε η εντόπιση της χρώσης (κυτταρική μεμβράνη, κυτταρόπλασμα, πυρήνας ή μικτή). Ένα δείγμα λαμβάνεται ως θετικό εάν  $\geq 1\%$  των καρκινικών κυττάρων παρουσιάζουν NTRK χρώση οποιασδήποτε έντασης<sup>285</sup>.

### **Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση διενεργήθηκε με τη χρήση του SAS software (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.)<sup>286</sup>. Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεσες (Q1–Q3) και μέση  $\pm$  τυπική απόκλιση (standard deviation, SD). Η σύγκριση ποιοτικών παραμέτρων μεταξύ ομάδων έγινε με τη χρήση της δοκιμασίας  $\chi^2$  (chi-squared test). Για την ανάλυση της επιβίωσης χρησιμοποιήσαμε τις καμπύλες Kaplan-Meier. Ένα αποτέλεσμα ορίστηκε ως στατιστικά σημαντικό όταν είχε τιμή  $p < 0,05$ .

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ένα σύνολο 50 ασθενών συμμετείχαν στη μελέτη. Η διάμεση ηλικία τους ήταν τα 58,5 έτη. 27 ασθενείς (54%) ήταν άνδρες. 45 ασθενείς (90%) ήταν πρωτοπαθή περιστατικά. Η παρωτίδα ήταν η εντόπιση με τη μεγαλύτερη συχνότητα (34%). 36 ασθενείς (72%) ήταν σε πρώιμο στάδιο του καρκίνου. 27 ασθενείς (54%) ήταν T2 σύμφωνα με τη σταδιοποίηση TNM, όπως αυτή ορίζεται από την Αμερικάνικη Επιτροπή για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer, AJCC). Κατά τη διάγνωση, τρεις ασθενείς (6%) παρουσίαζαν τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις, ενώ κανείς ασθενής δεν είχε απομακρυσμένες μεταστάσεις. Αναγνωρίστηκε περινευρική διήθηση στην εξέταση παρασκευασμάτων 24 ασθενών (48%). Το σύνολο των ασθενών (100%) υποβλήθηκε σε χειρουργική αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου. 86% των ασθενών υποβλήθηκε σε ακτινοθεραπεία και 32% σε χημειοθεραπεία. Πέντε ασθενείς (10%) υποβλήθηκαν σε εκλεκτικό λεμφαδενικό καθαρισμό. Τα βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης κατατάσσονται στον πίνακα 2.

**Πίνακας 2:** Ανάλυση των χαρακτηριστικών των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.

<b>Χαρακτηριστικά</b>	<b>Αποτελέσματα</b>
Ασθενείς (N)	50
Διάμεση ηλικία (Q1 - Q3)	58,5 (51 - 72)
Φύλο: άνδρες/γυναίκες (N, %)	27 (54%) / 23 (46%)
Υποτροπή (N, %)	5 (10%)
Πρωτοπαθής εντόπιση	
<i>Παρωτίδα</i>	17 (34%)
<i>Υπογνάθιος αδένας</i>	9 (18%)
<i>Ρινική κοιλότητα-παραρρίνιοι κόλποι</i>	11 (22%)
<i>Άλλες εντοπίσεις</i>	13 (26%)
TNM [tumor (T), όγκος] (N, %)	
<i>T1</i>	9 (18%)
<i>T2</i>	27 (54%)
<i>T3</i>	11 (22%)
<i>T4a</i>	3 (6%)
TNM [node (N), λεμφαδένες] (N, %)	
<i>N0</i>	47 (94%)
<i>N1</i>	1 (2%)
<i>N2a</i>	1 (2%)
<i>N2b</i>	1 (2%)
TNM [metastasis (M), μεταστάσεις] (N, %)	0 (0%)
Στάδιο καρκίνου (UICC) (N, %)	
<i>1</i>	9 (18%)
<i>2</i>	26 (52%)
<i>3</i>	10 (20%)
<i>4</i>	5 (10%)
Στάδιο νεοπλασματικής νόσου (N, %)	
<i>Πρώιμο στάδιο</i>	35 (70%)
<i>Προχωρημένο στάδιο</i>	15 (30%)
Περινευρική διήθηση (N, %)	24 (48%)
Λεμφαδενικός καθαρισμός (N, %)	5 (10%)
<i>Τύπος λεμφαδενικού καθαρισμού (N, %)</i>	Εκλεκτικός: 5 (100%)
Ακτινοθεραπεία (N, %)	43 (86%)
Χημειοθεραπεία (N, %)	16 (32%)
Θεραπευτική αντιμετώπιση (N, %)	
<i>Μονοθεραπεία</i>	8 (16%)
<i>Συνδυασμένη θεραπεία</i>	42 (84%)
Υποτροπή (N, %)	20 (40%)
Θάνατος (N, %)	23 (46%)

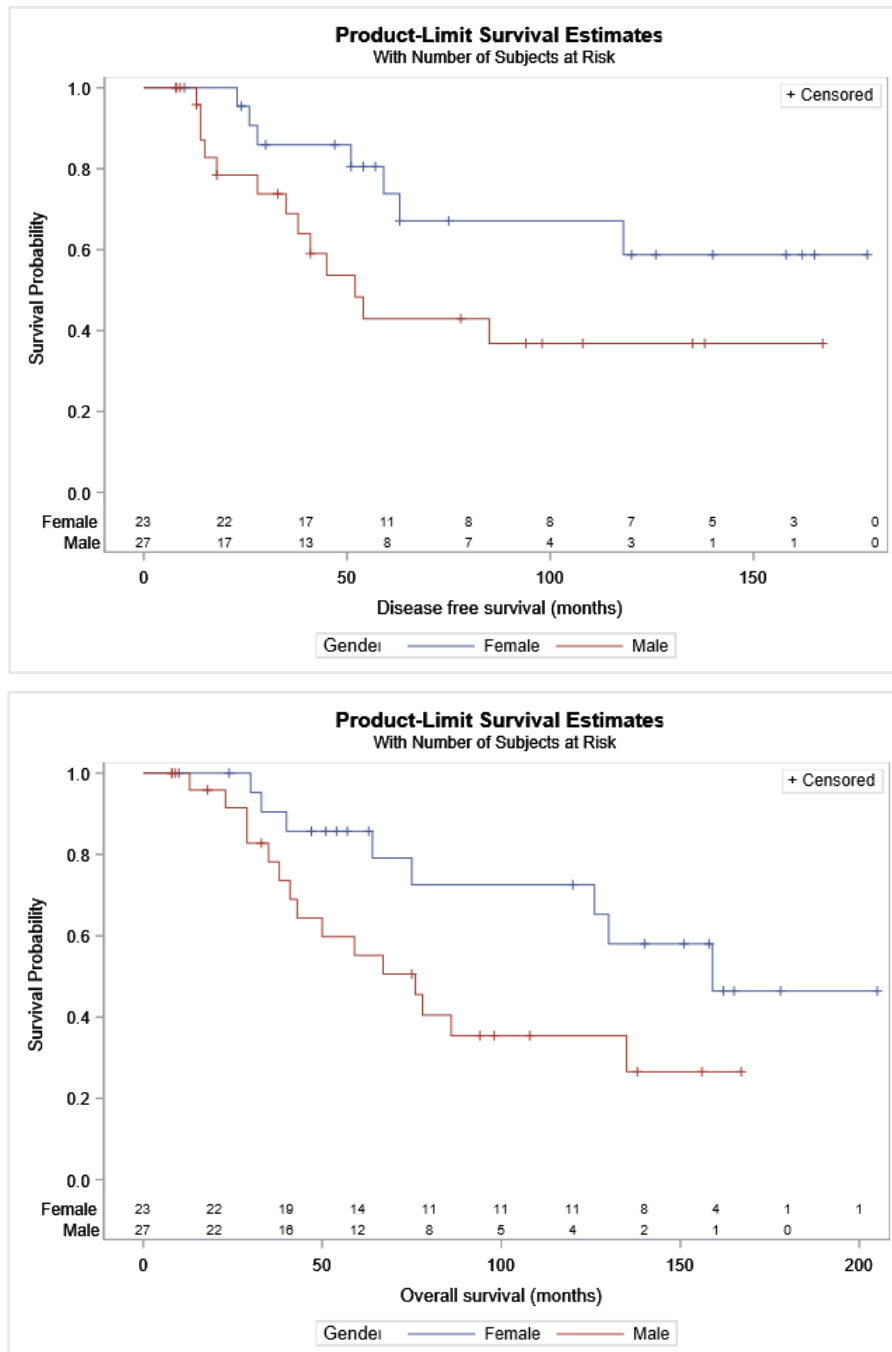


Η κατανομή των εντοπίσεων του αδενοκυστικού καρκινώματος στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου στους ασθενείς της μελέτης αναλύεται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3).

**Πίνακας 3:** Κατανομή των εντοπίσεων του αδενοκυστικού καρκινώματος στους ασθενείς της μελέτης.

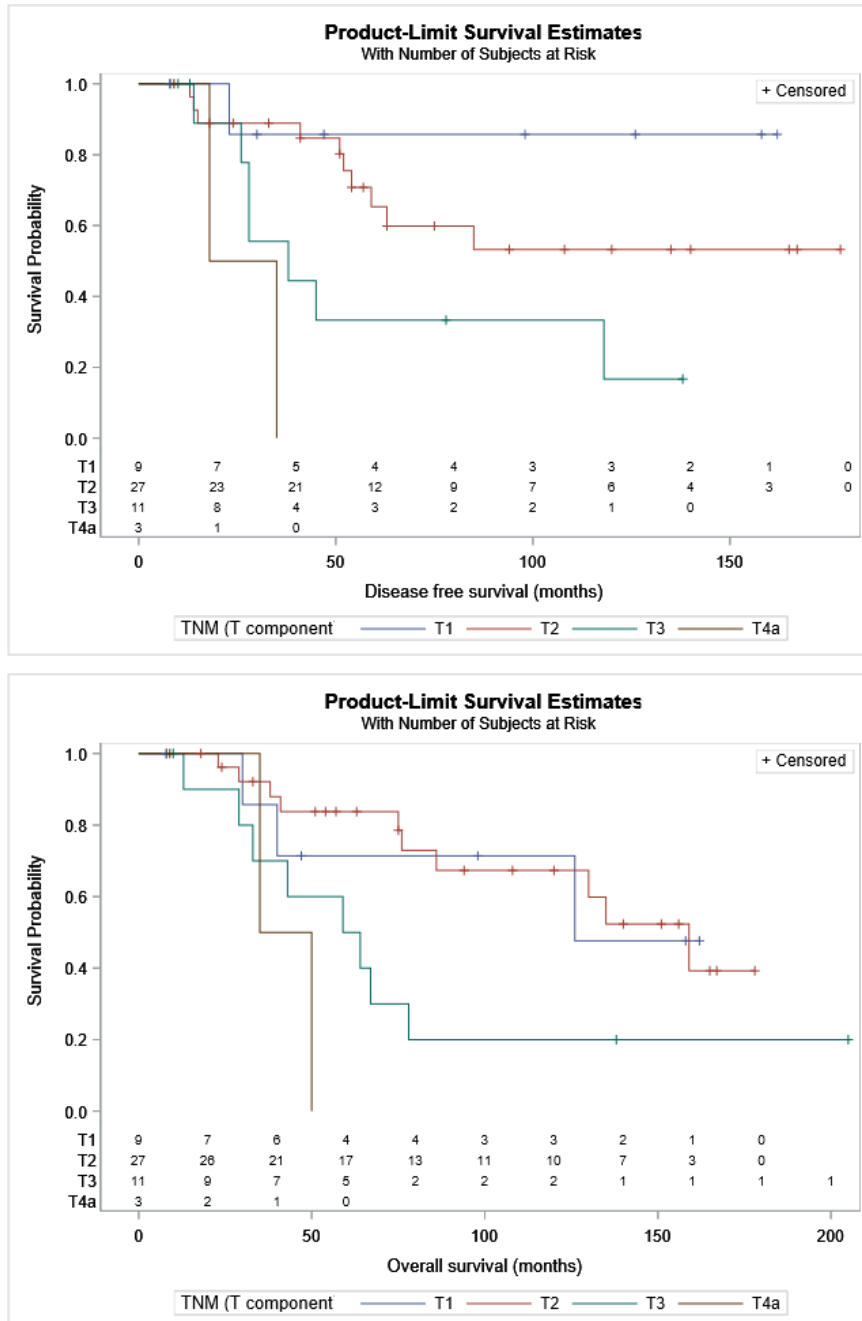
<b>Εντόπιση</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Αμυγδαλή	1	2
Άνω γνάθος/σκληρά υπερώα	1	2
Γλώσσα	1	2
Έξω ακουστικός πόρος	2	4
Γναθιαίος κόλπος	1	2
Ρινική κοιλότητα και γναθιαίος κόλπος	1	2
Κάτω γνάθος	1	2
Λάρυγγας	1	2
Μαλθακή υπερώα	1	2
Παρωτίδα	17	34
Ρίζα γλώσσας	1	2
Ρινικό διάφραγμα	1	2
Ρινική κοιλότητα	7	14
Ρινοφάρυγγας	1	2
Πλάγιο τοίχωμα ρινικής κοιλότητας	1	2
Τραχεία	1	2
Υπογνάθιος αδένας	9	18
Υποφάρυγγας	1	2
Χείλος	1	2
Σύνολο	50	100

Οι άνδρες με αδενοκυστικό καρκίνωμα παρουσίασαν μεγαλύτερη πιθανότητα για υποτροπή και θάνατο (εικόνα 15). Η μέσος χρόνος για υποτροπή ήταν για τις γυναίκες 93,8 μήνες και για τους άνδρες 54,7 μήνες ( $p = 0,0313$ ). Ομοίως, ο μέσος χρόνος για το θάνατο των γυναικών ήταν 124,9 μήνες και των ανδρών 79,3 μήνες ( $p = 0,0322$ ).



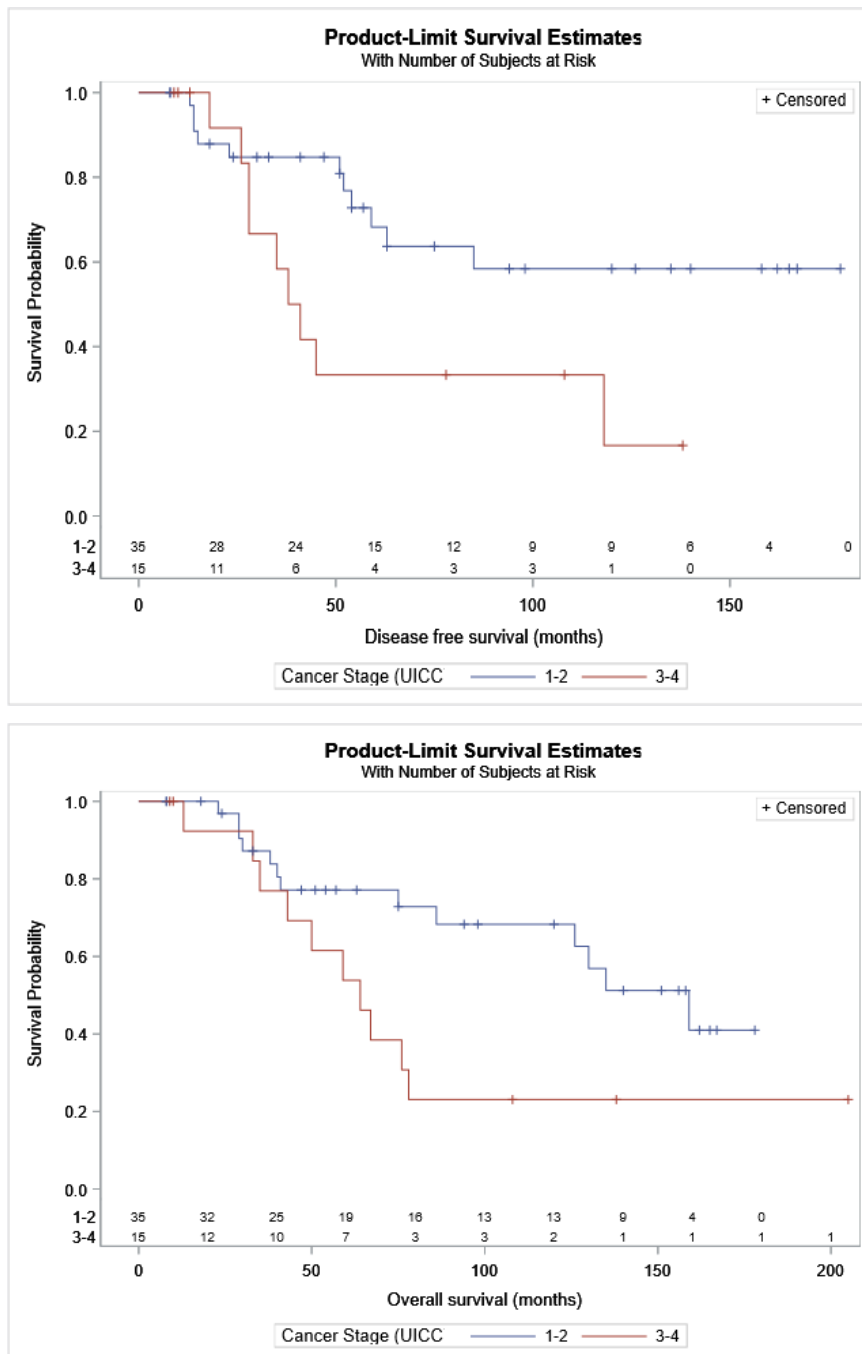
**Εικόνα 15:** Καμπύλες Kaplan-Meier για υποτροπή και επιβίωση, συγκρίνοντας τα δύο φύλα. Οι άνδρες είχαν υψηλότερο κίνδυνο για υποτροπή ( $p = 0,0313$ ), καθώς και για θάνατο ( $p = 0,0322$ ).

Η επιβίωση ελεύθερη νόσου και η συνολική επιβίωση διαφοροποιούνται σε σχέση με το T, όπως προσδιορίζεται με τη σταδιοποίηση TNM ( $p = 0,0117$  και  $p = 0,0273$ , αντίστοιχα) (εικόνα 16). Αντίθετα, δεν διαφοροποιούνται σε σχέση με το N.



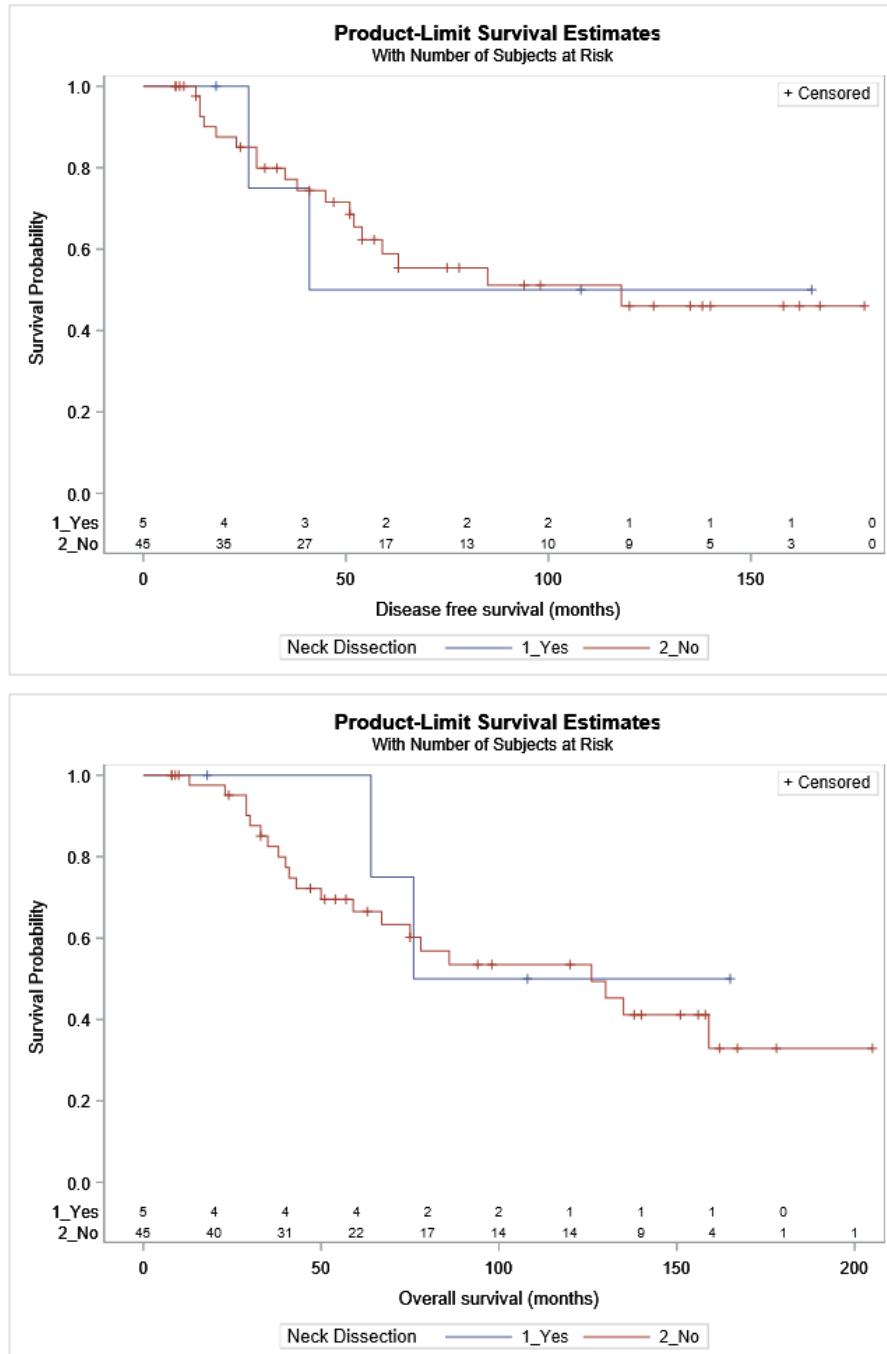
**Εικόνα 16:** Καμπύλες Kaplan-Meier για την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,0117$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,0273$ ) σε σχέση με το T της σταδιοποίησης TNM.

Αναφορικά με το στάδιο, η πρόωμου σταδίου ομάδα T1+2 είχε μεγαλύτερη επιβίωση ελεύθερη νόσου (μέση τιμή: 68,4 μήνες) σε σχέση με την προχωρημένου σταδίου ομάδα T3+4 (μέση τιμή: 60,9 μήνες) ( $p = 0,0214$ ). Επιπροσθέτως, η ομάδα T1+2 είχε μεγαλύτερη συνολική επιβίωση (μέση τιμή: 118,4 μήνες) σε σχέση με την ομάδα T3+4 (μέση τιμή: 57,8) ( $p = 0,0390$ ) (εικόνα 17).



**Εικόνα 17:** Καμπύλες Kaplan-Meier για την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,0214$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,0390$ ) σε σχέση με τη σταδιοποίηση UICC (ομαδοποίηση ως T1+2 και T3+4).

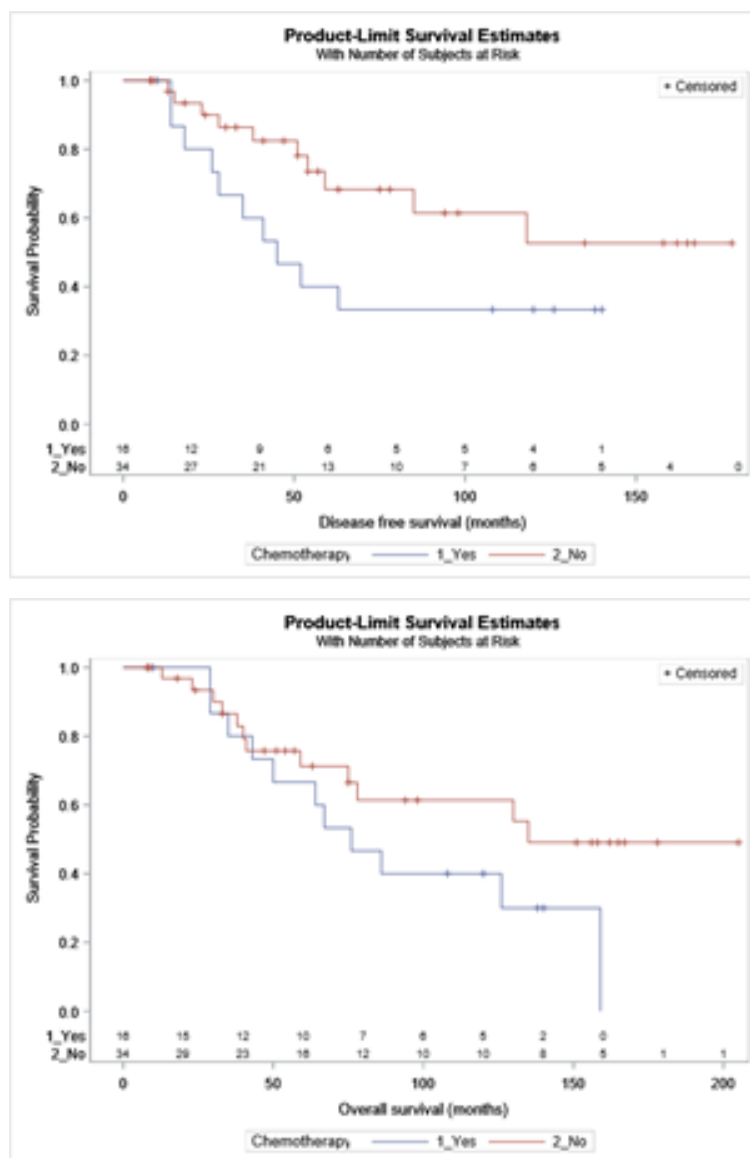
Ο λεμφαδενικός καθαρισμός του τραχήλου δεν φαίνεται να έχει επίπτωση στην επιβίωση (εικόνα 18). Τουλάχιστον αυτό διαπιστώθηκε στους πέντε ασθενείς (10%) της μελέτης που υποβλήθηκαν σε εκλεκτικό λεμφαδενικό καθαρισμό.



**Εικόνα 18:** Καμπύλες Kaplan-Meier για την επιβίωση ελεύθερη νόσου και συνολική επιβίωση σε σχέση με το λεμφαδενικό καθαρισμό τραχήλου.

Αναφορικά με την επιλογή της συμπληρωματικής θεραπείας μετεγχειρητικά, 43 ασθενείς (86%) υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία, ενώ 16 ασθενείς (32%) υποβλή-

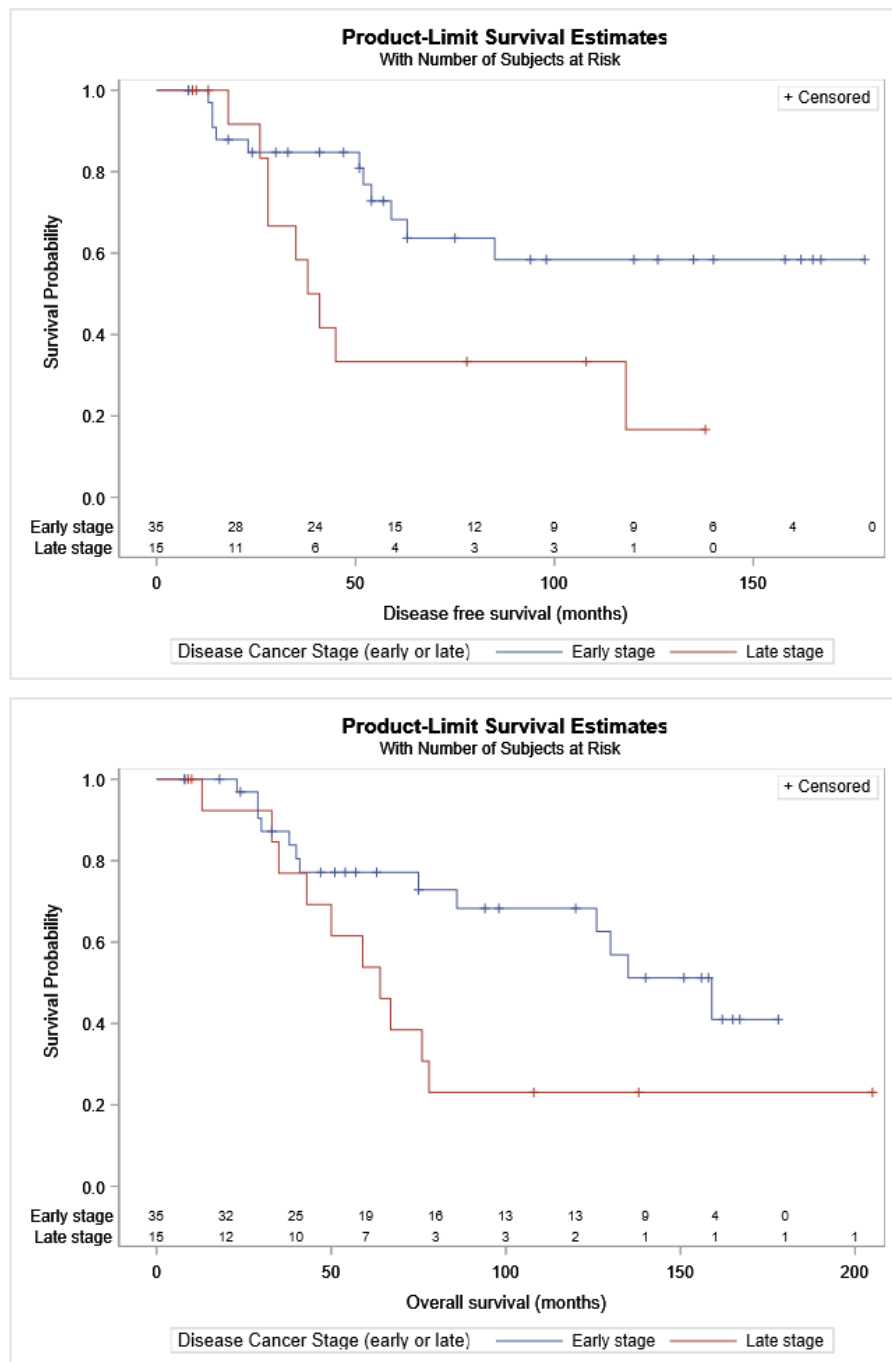
θηκαν σε χημειοθεραπεία. Οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χημειοθεραπεία είχαν χειρότερη επιβίωση ελεύθερη νόσου από αυτούς που δεν υποβλήθηκαν (43,4 μήνες αντί 90,3),  $p = 0,0371$ , αλλά τελικά δεν υπήρξε κάποια διαφορά στη συνολική επιβίωση (92,2 μήνες αντί 100,4),  $p = 0,3481$  (εικόνα 19).



**Εικόνα 19:** Καμπύλες Kaplan-Meier για την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,0371$ ) και συνολική επιβίωση ( $p = 0,3481$ ) σε σχέση με τη χημειοθεραπεία.

Οι ασθενείς που ήταν σε πρώιμο στάδιο, όπως αναμενόταν, είχαν καλύτερη επιβίωση ελεύθερη νόσου και συνολική επιβίωση από τους ασθενείς προχωρημένου σταδίου. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς πρώιμου σταδίου είχαν μία μέση επιβίωση ελεύθερη νόσου 68,4 μηνών (SE: 4,8) και μία μέση συνολική επιβίωση 118,4 μηνών (SE: 10,1), ενώ οι ασθενείς προχωρημένου σταδίου είχαν μία μέση επιβίωση ελεύθερη

νόσου 60,9 μηνών (SE: 12,5 μηνών) και μία μέση συνολική επιβίωση 57,8 μηνών (SE: 6,0),  $p = 0,0214$  και  $p = 0,0390$ , αντίστοιχα (εικόνα 20).



**Εικόνα 20:** Καμπύλες Kaplan-Meier για την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,0214$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,0390$ ) σε σχέση με το πρώιμο ή προχωρημένο στάδιο καρκίνου.

Η μέση τιμή του χρονικού διαστήματος για υποτροπή ήταν 80 μήνες και για θάνατο 104 μήνες. Η πενταετής και δεκαετής επιβίωση ελεύθερη νόσου ήταν 50% και

27,78%, αντίστοιχα. Ενώ, η πενταετής και δεκαετής συνολική επιβίωση ήταν 67,50% και 45,71%, αντίστοιχα.

## MYB

Ο έλεγχος του MYB ολοκληρώθηκε με την τεχνική του φθορίζοντος υβριδισμού (Fluorescent in situ hybridization, FISH) όπως και με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας. Ελέγχθηκε το σύνολο των ασθενών. Κατά τον ανοσοϊστοχημικό έλεγχο, 28 ασθενείς (56%) ήταν θετικοί για μετάλλαξη στο γονίδιο MYB. Τα αποτελέσματα της τεχνικής FISH ήταν πανομοιότυπα, με 28 ασθενείς να παρουσιάζουν ενίσχυση στο γονίδιο MYB. Το ποσοστό του MYB είχε μέση τιμή 20,65%±27,70% (ελάχιστη: 0%, μέγιστη: 95%, διάμεση: 5%, Q1-Q3: 0%-35%). Το MYB ήταν θετικό σε 28 ασθενείς (56%). Τα αποτελέσματα σχετικά με την ένταση της χρώσης φαίνονται στον πίνακα 4. Το κυτταρικό ανάλογο του MYB [cellular homolog (C)-MYB], εξεταζόμενο με FISH, ενισχύεται σε 28 ασθενείς (56%).

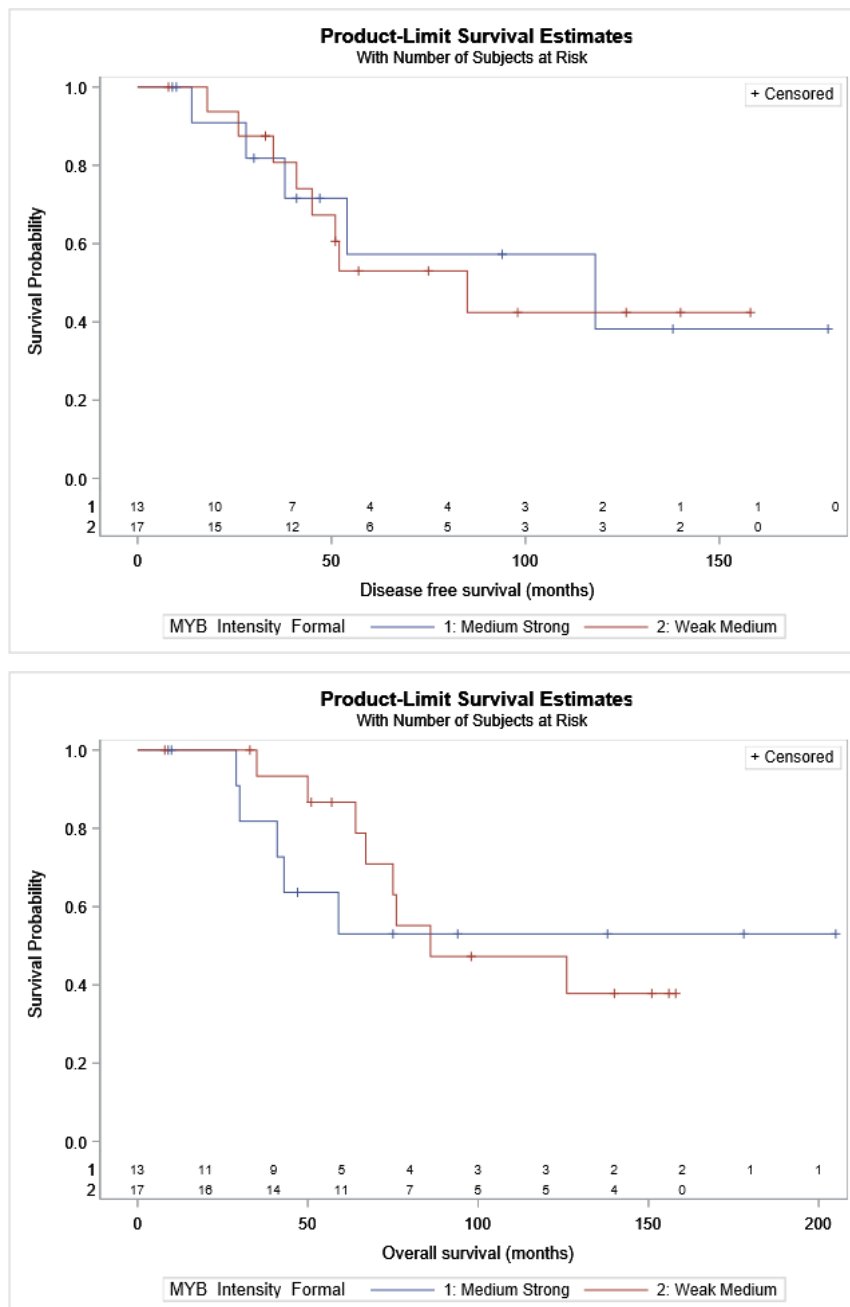
*Πίνακας 4: Ένταση της χρώσης του MYB*

MYB: ένταση χρώσης	N	%
-	18	36
Ασθενής	4	8
Ασθενής/ενδιάμεση	13	26
Ενδιάμεση	2	4
Ενδιάμεση/ισχυρή	12	24
Ισχυρή	1	2
Σύνολο	50	100

Η στατιστική ανάλυση της έκφρασης του MYB έδειξε ότι η ηλικία φαίνεται να είναι οριακά μεγαλύτερη σε MYB αρνητικούς ασθενείς ( $p = 0,090$ ). Επίσης, η περινευρική διήθηση εκφράζεται σε υψηλότερο ποσοστό όταν το C-MYB ενισχύεται (95% CI: 1,02-10,72,  $p = 0,0423$ ). Η μελέτη της κατανομής του MYB στις διάφορες εντοπίσεις δείχνει ότι το αδενοκυστικό καρκίνωμα των ελάσσονων σιελογόνων αδένων είναι σε μεγαλύτερη συχνότητα MYB θετικό ( $p = 0,0196$ ). Επιπλέον, η ένταση της χρώσης του MYB σχετιζόταν με την πρωτοπαθή εντόπιση του όγκου. Τα αδενοκυστικά καρκινώματα των μείζονων σιελογόνων αδένων παρουσιάζουν συχνότερα μία ασθενή / ενδιάμεση ένταση χρώσης, ενώ στις υπόλοιπες εντοπίσεις είναι συνήθως ενδιάμεση / ισχυρή (95% CI: 0,02-0,75,  $p = 0,0238$ ). Τα αδενοκυστικά καρκινώματα της παρωτίδας και του υπογνάθιου αδένα παρουσιάζουν συχνότερα ασθενή/ενδιάμεση χρώση, ενώ της



ρινικής κοιλότητας και των παραρρινίων κόλπων έχουν συνήθως ενδιάμεση/ισχυρή χρώση ( $p = 0,0036$ ). Επιπροσθέτως, οι ασθενείς με ασθενή/ενδιάμεση έντασης χρώση φαίνεται να έχουν καλύτερη πενταετή συνολική επιβίωση. Πιο συγκεκριμένα, το 84,62% των ασθενών με ασθενή/ενδιάμεση ένταση χρώσης επέζησε για τουλάχιστον πέντε έτη, ενώ μόνο το 50% αυτών με ενδιάμεση/ισχυρή ένταση χρώσης επέζησε για το ίδιο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση δεν ήταν στατιστικά σημαντική (95% CI: 0,78-38,7,  $p = 0,0737$ ) (εικόνα 21).



**Εικόνα 21:** Καμπύλες Kaplan-Meier για την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,6377$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,0737$ ) σε σχέση με την ένταση της χρώσης του MYB.

## HER-2

Οι εργαστηριακές εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν για τον έλεγχο της έκφρασης του γονιδίου HER-2 ήταν η ανοσοϊστοχημεία και η τεχνική του φθορίζοντος υβριδισμού (FISH)<sup>249,282,287</sup>. Με αυτές τις δύο μεθόδους αναζητήθηκε η έκφραση του HER-2 και η ενδεχόμενη συσχέτισή του με την παθογένεση του αδενοκυστικού καρκινώματος. Το σύνολο των ασθενών είχε ένα HER-2 αρνητικό καρκίνο. Κανένας ασθενής της μελέτης δεν παρουσίαζε υπερέκφραση του HER-2. Πιο συγκεκριμένα, η βαθμολόγηση κατά τον ανοσοϊστοχημικό έλεγχο ήταν 0 στους 48 ασθενείς και +1 σε 2 ασθενείς. Επιβεβαιώνοντας το ανωτέρω αποτέλεσμα, ο έλεγχος με FISH ήταν αρνητικός σε όλους τους ασθενείς. Στη μελέτη μας καταδείχτηκε ότι στην παθογένεση του αδενοκυστικού καρκινώματος δεν συμμετέχει η υπερέκφραση του HER-2.

## Ki-67

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την αναγνώριση της έκφρασης της πρωτεΐνης Ki-67 είναι η ανοσοϊστοχημεία. Ο έλεγχος για το αντιγόνο Ki-67 διενεργήθηκε στο σύνολο των ασθενών. Πέντε ασθενείς (10%) ταξινομήθηκαν ως βαθμού I, δηλαδή παρουσίασαν μία χαμηλή έκφραση του Ki-67 (πολλαπλασιασμός λιγότερων από δύο κύτταρα σε κάθε 100 κύτταρα). 34 ασθενείς (68%) χαρακτηρίστηκαν ως βαθμού II, πιο συγκεκριμένα παρουσίασαν μία ενδιάμεση έκφραση του Ki-67 (πολλαπλασιασμός μεταξύ 3 και 20 κυττάρων σε κάθε 100 κύτταρα). Ενώ, 11 ασθενείς (22%) ήταν βαθμού III, δηλαδή είχαν μία υψηλή έκφραση του Ki-67 (πολλαπλασιασμός περισσότερων των 20 κυττάρων σε κάθε 100 κύτταρα). Ο μέσος όρος του ποσοστού του Ki-67 ήταν 14% ± 14% (ελάχιστο: < 1%, μέγιστο: 74%, διάμεση τιμή: 10%, Q1-Q3: 4% - 20%).

Οι ασθενείς σταδιοποιήθηκαν σύμφωνα με τα δύο προαναφερθέντα ιστοπαθολογικά συστήματα ταξινόμησης Perzin / Szanto και Spiro (πίνακας 5).

**Πίνακας 5:** Διαφοροποίηση σύμφωνα με τα συστήματα Perzin / Szanto και Spiro.

Διαφοροποίηση	Perzin / Szanto		Spiro	
	N	%	N	%
Στάδιο I	8	16	37	74
Στάδιο II	30	60	7	14
Στάδιο III	12	24	6	12

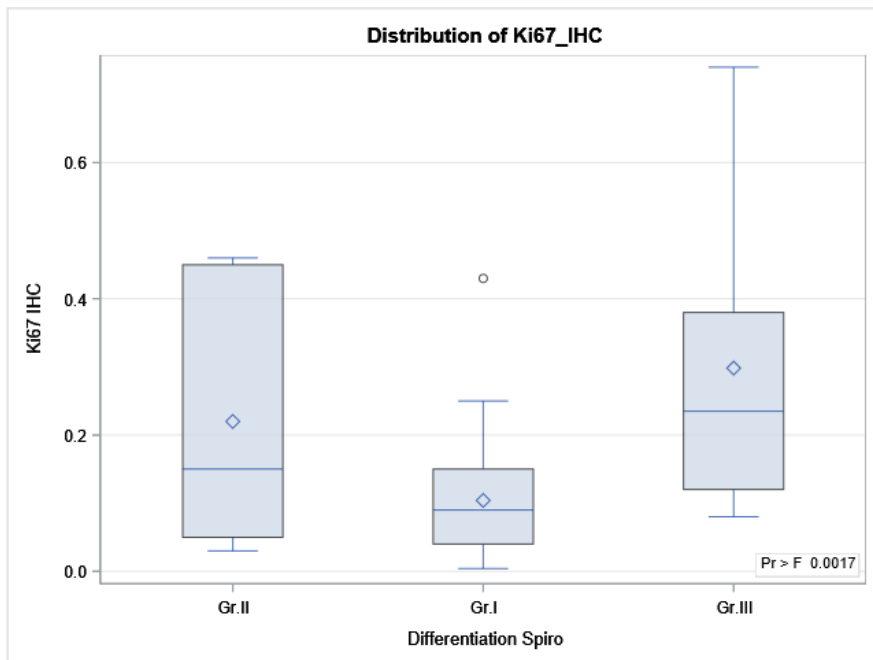
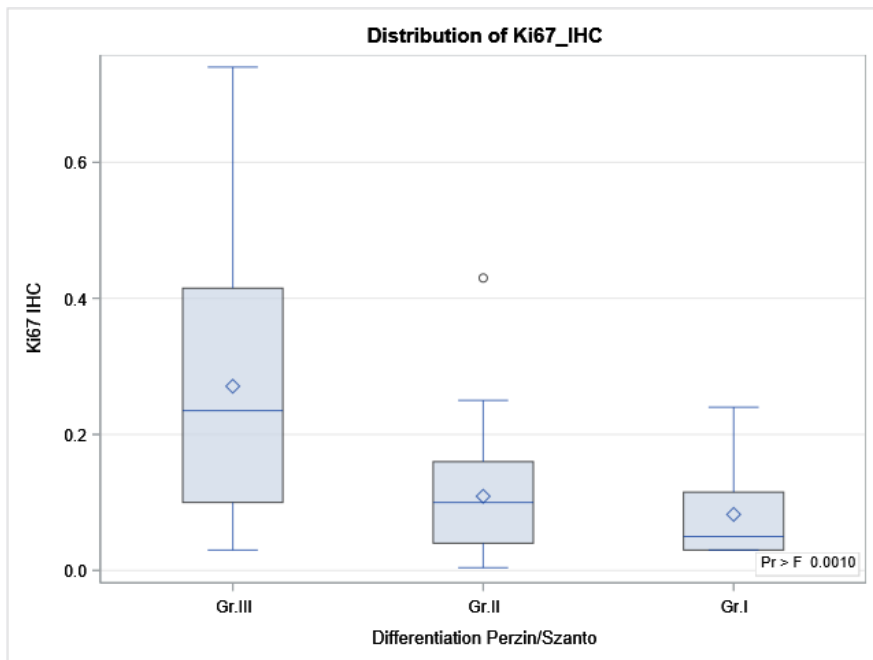
Το σύστημα ταξινόμησης που προτάθηκε από τους Perzin<sup>90</sup> και Szanto<sup>89</sup> βασίζεται στο βαθμό του συμπαγούς προτύπου. Το στάδιο I χαρακτηρίζεται από όγκους στους

οποίους υπάρχουν σωληνοειδείς και ηθμοειδείς περιοχές, αλλά χωρίς συμπαγή στοιχεία. Το στάδιο II χαρακτηρίζεται από όγκους με ηθμοειδείς περιοχές, οι οποίοι είναι χωρίς άλλα στοιχεία ή είναι μικτοί > 30% με συμπαγείς περιοχές. Το στάδιο III περιλαμβάνει όγκους με συμπαγές κυρίως πρότυπο. Στη μελέτη μας οκτώ ασθενείς (16%) ήταν σταδίου I, 30 ασθενείς (60%) ήταν σταδίου II και 12 ασθενείς (24%) ήταν σταδίου III.

Στο σύστημα ταξινόμησης προτεινόμενο από τον Spiro<sup>91</sup>, το στάδιο I αντιστοιχεί σε όγκους με κυρίως σωληνοειδείς ή ηθμοειδείς περιοχές και σποραδικά συμπαγείς περιοχές. Το στάδιο II αντιστοιχεί σε μικτούς όγκους με εκτεταμένες συμπαγείς περιοχές (>50%). Το στάδιο III αντιστοιχεί σε όγκους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται μόνο από τον συμπαγή υποτύπο. Στη μελέτη μας οι περισσότεροι ασθενείς ήταν σταδίου I (37 ασθενείς, 74%), ενώ επτά ασθενείς (14%) ήταν σταδίου II και έξι ασθενείς ήταν σταδίου III (12%).

Η ανάλυση έδειξε μία θετική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του Ki-67 και της σταδιοποίησης του συστήματος Perzin / Szanto ( $p = 0,015$ , εικόνα 22). Πιο συγκεκριμένα, η έκφραση του Ki-67 σε ασθενείς σταδίου I ήταν χαμηλή, σε ασθενείς σταδίου II ενδιάμεση, ενώ σε ασθενείς σταδίου III υψηλή. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι οι ασθενείς σταδίου I και II, σύμφωνα με το σύστημα Perzin / Szanto, θεωρούνται ότι πάσχουν από χαμηλού βαθμού αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>89,90</sup>. Η έρευνα μας έδειξε ότι πράγματι οι ασθενείς σταδίου I είχαν τη χαμηλότερη έκφραση του Ki-67, που είναι μία πρωτεΐνη που συνδέεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αποτελεί ένα κυτταρικό δείκτη πολλαπλασιασμού. Ενώ οι ασθενείς σταδίου III είχαν την υψηλότερη έκφραση του Ki-67.

Ομοίως, το σύστημα Spiro φάνηκε ότι παρουσιάζει μία συσχέτιση με την έκφραση του Ki-67. Ειδικότερα, οι όγκοι σταδίου I είχαν ένα χαμηλότερο ποσοστό Ki-67 από τα άλλα στάδια ( $p = 0,024$ , εικόνα 22).



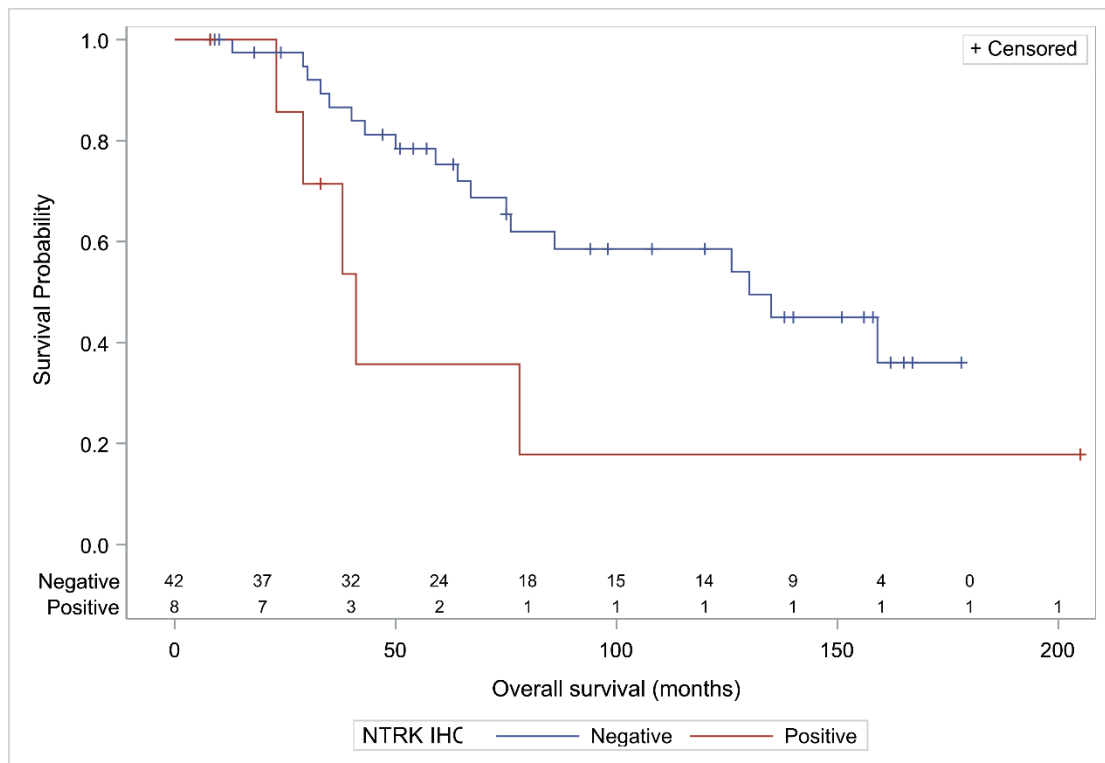
**Εικόνα 22:** Η έκφραση του Ki-67 έχει θετική συσχέτιση με το σύστημα Perzin / Szanto ( $p = 0,015$ ). Οι όγκοι σταδίου I του συστήματος Spiro έχουν χαμηλότερο ποσοστό Ki-67 ( $p = 0,024$ ).

Ένα εύρημα που προκύπτει από την εξέταση της τάσης για υποτροπή σε συνδυασμό με τη σταδιοποίηση σύμφωνα με το σύστημα Spiro είναι ότι η υποτροπή φαίνεται πιο συχνή σε υψηλότερα στάδια, πιο συγκεκριμένα στο στάδιο III. Ωστόσο, αυτό το συμπέρασμα δεν είναι στατιστικά σημαντικό ( $p = 0,0634$ ).

## NTRK

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου NTRK μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία ογκογονιδίων. Η μέθοδος της ανοσοϊστοχημείας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευσή τους. Οκτώ ασθενείς (16%) ήταν θετικοί για NTRK μεταλλάξεις, ενώ 42 ασθενείς (84%) ήταν αρνητικοί. Αναφορικά με την ένταση χρώσης, ένας ασθενής είχε ισχυρή/κυτταροπλασματική χρώση, ενώ 11 ασθενείς (22%) είχαν ασθενή / κυτταροπλασματική. Σε 38 ασθενείς (76%) δεν παρατηρήθηκε χρώση κατά την ανοσοϊστοχημεία. Τέσσερις ασθενείς, οι οποίοι παρουσίασαν αρχικά ασθενούς έντασης χρώση, ήταν τελικά NTRK-αρνητικοί. Ο μέσος όρος του ποσοστού των κυττάρων θετικών με NTRK χρώση ήταν  $3,29\% \pm 8,51\%$  (ελάχιστη τιμή 0%, μέγιστη τιμή 40%, διάμεση τιμή 0%, Q1 - Q3: 0% - 0,5%). Η πλειοψηφία των ασθενών είχε μηδενικό ποσοστό έκφρασης του NTRK (0%). Το ποσοστό του NTRK ήταν κάτω από 1% σε 40 ασθενείς (80%).

Η ανάλυση της έκφρασης του NTRK έδειξε ότι οι άνδρες, οι οποίοι συμμετείχαν στη μελέτη, ήταν συχνότερα NTRK-θετικοί (95% CI: 0,87-68,19,  $p = 0,0381$ ). Επιπροσθέτως, το NTRK έχει πιθανώς επίπτωση στην επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,08065$ ). Συμπέρασμα το οποίο ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντικό. Οι NTRK-θετικοί και αρνητικοί ασθενείς είχαν μία μέση επιβίωση ελεύθερη νόσου 24 (Q1-Q3: 13,5-59,5) και 53 (Q1-Q3: 28-108) μηνών, αντίστοιχα. Η πενταετής επιβίωση ελεύθερη νόσου ήταν συχνότερη στους NTRK-αρνητικούς ασθενείς (51,52%), σε σχέση με τους NTRK-θετικούς ασθενείς (33,33%) (95% CI: 0,08-2,93,  $p = 0,4124$ ). Η δεκαετής επιβίωση ελεύθερη νόσου στους NTRK-θετικούς και αρνητικούς ασθενείς ήταν 0% και 34,48%, αντίστοιχα. Αυτή η συσχέτιση δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p = 0,0888$ ). Η πενταετής και δεκαετής συνολική επιβίωση συνδεόταν καλύτερα με αρνητικό NTRK. Η πενταετής συνολική επιβίωση σε θετικούς και αρνητικούς NTRK ασθενείς ήταν 33,33% και 73%, αντίστοιχα (95% CI: 0,03-1,21,  $p = 0,0597$ ). Σχετικά με τη δεκαετή συνολική επιβίωση, αυτή ήταν 16,67% για NTRK θετικούς ασθενείς και 50% για NTRK αρνητικούς ασθενείς (95% CI: 0,02-1,94,  $p = 0,1356$ ). Γενικά, οι NTRK θετικοί ασθενείς είχαν χειρότερη συνολική επιβίωση από τους NTRK αρνητικούς ασθενείς, με μία μέση συνολική επιβίωση 49,4 και 110,8 μηνών, αντίστοιχα ( $p = 0,0246$ ) (εικόνα 23). Το ποσοστό των κυττάρων με NTRK χρώση φάνηκε ότι σχετίζεται αρνητικά με την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $p = 0,0016$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,0027$ ).



**Εικόνα 23:** Οι NTRK-θετικοί ασθενείς είχαν χειρότερη συνολική επιβίωση από τους NTRK-αρνητικούς ασθενείς ( $p = 0,0246$ ).

Πρέπει να σημειωθεί ότι κανένας ασθενής δεν αντιμετωπίστηκε θεραπευτικά με αναστολείς υποδοχέα τροπομοσίνης κινάσης (NTRK αναστολείς).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα παρουσιάζεται συχνότερα στην πέμπτη και έκτη δεκαετία ζωής<sup>110</sup>. Η μέση ηλικία διάγνωσης των ασθενών της μελέτης μας ήταν τα 58,5 έτη. Το 54% των ασθενών ήταν άνδρες και το 46% ήταν γυναίκες. Αυτό το αποτέλεσμα δεν συμφωνεί με τη βιβλιογραφία στην οποία το αδενοκυστικό καρκίνωμα απαντάται πιο συχνά στις γυναίκες<sup>108,110</sup>. Συγκριτικά με τις γυναίκες, οι άνδρες ασθενείς έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα τόσο για την υποτροπή όσο και για θάνατο ( $p = 0,0313$  και  $p = 0,0322$ , αντίστοιχα), το οποίο είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες, οι οποίες αναφέρουν ότι το αρσενικό φύλλο είναι ένας αρνητικός προγνωστικός παράγοντας στο αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>288,289</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα μπορεί να αναπτυχθεί σε κάθε αδενικό ιστό του ανθρώπινου οργανισμού<sup>267</sup>. Στη μελέτη μας οι μείζονες σιελογόνοι αδένες ήταν οι πιο συχνές εντοπίσεις του αδενοκυστικού καρκινώματος (52%). Προγενέστερες μελέτες αναφέρουν χαμηλότερα ποσοστά αδενοκυστικού καρκινώματος στους μείζονες σιελογόνους αδένες (29%-47%)<sup>290,291</sup>. Μία άλλη συχνή εντόπιση στους ασθενείς μας ήταν η ρινική κοιλότητα και οι παραρρίνιοι κόλποι (22%), με άλλες μελέτες να αναφέρουν χαμηλότερα ποσοστά (8%-19%)<sup>159,292</sup>. Στη μελέτη μας η επίπτωση του αδενοκυστικού καρκινώματος στη στοματική κοιλότητα ήταν χαμηλή (8%). Αυτό δεν συναντάται σε άλλες μελέτες στις οποίες η στοματική κοιλότητα, όπου υπάρχει η υψηλότερη συγκέντρωση ελάσσονων σιελογόνων αδένων<sup>147</sup>, είναι από τις πιο συχνές εντοπίσεις του αδενοκυστικού καρκινώματος<sup>293</sup>. Αυτή η αντίφαση μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα στη στοματική κοιλότητα συχνά παραπέμπονται σε γναθοχειρουργούς και στη μελέτη μας δεν έλαβαν μέρος γναθοχειρουργικά τμήματα.

Οι ασθενείς σταδιοποιήθηκαν σύμφωνα με τα παθολογοανατομικά συστήματα Perzin / Szanto και Spiro<sup>266</sup>. Στο σύστημα Perzin / Szanto το 16% των ασθενών ήταν σταδίου I, το 60% σταδίου II και το 24% σταδίου III. Στο σύστημα Spiro το 74% των ασθενών ήταν σταδίου I, το 14% σταδίου II και το 12% σταδίου III. Επομένως, σύμφωνα με το σύστημα Perzin / Szanto οι περισσότεροι ασθενείς ήταν σταδίου II, ενώ σύμφωνα με το σύστημα Spiro οι περισσότεροι ασθενείς ήταν σταδίου I. Ως εκ τούτου διαπιστώνονται σημαντικές διαφορές στη βαθμολόγηση των δύο συστημάτων, γεγονός

που δείχνει την ανάγκη ενός νέου παθολογοανατομικού συστήματος βαθμολόγησης χωρίς διαφορές στην παθολογοανατομική κατάταξη<sup>87,294</sup>.

Οι ασθενείς με πρώιμου σταδίου αδενοκυστικό καρκίνωμα, όπως αναμενόταν, είχαν σημαντικά μεγαλύτερη επιβίωση ελεύθερη νόσου και συνολική επιβίωση από ασθενείς με προχωρημένου σταδίου αδενοκυστικό καρκίνωμα ( $p = 0,0214$  και  $p = 0,0390$ , αντίστοιχα). Μολονότι το αδενοκυστικό καρκίνωμα χαρακτηρίζεται από αργή κλινική πορεία, τα ευρήματά μας δείχνουν τη σημασία της πρώιμης διάγνωσης, συμπεράσμα που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία<sup>295,296</sup>.

Τρεις ασθενείς είχαν τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις και κανείς δεν είχε απομακρυσμένες μεταστάσεις κατά τη διάγνωση. Δεν υπήρχε διαφορά στην επιβίωση ελεύθερη νόσου και στη συνολική επιβίωση στους ασθενείς με τις τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις. Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να οφείλεται στο περιορισμένο δείγμα ασθενών με μεταστατική νόσο. Μία μελέτη από τον Jang και συνεργάτες<sup>152</sup> έδειξε ότι η μεταστατική τραχηλική λεμφαδενοπάθεια δεν επηρεάζει την επιβίωση. Αντίθετα, μία μελέτη από τον Orlatek και συνεργάτες<sup>297</sup> έδειξε ότι η μέση συνολική επιβίωση και ο μέσος χρόνος για υποτροπή ήταν χαμηλότεροι στους ασθενείς με θετικούς τραχηλικούς λεμφαδένες.

Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση για τον πρωτοπαθή όγκο. Επιπλέον, το 86% και 32% των ασθενών υποβλήθηκε σε ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία, αντίστοιχα. Οι ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν χημειοθεραπεία είχαν χειρότερη επιβίωση ελεύθερη νόσου (λόγω νόσου προχωρημένου σταδίου στη διάγνωση) από τους ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν χωρίς χημειοθεραπεία ( $p = 0,0371$ ), ωστόσο, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συνολική επιβίωση ( $p = 0,3481$ ). Η χειρουργική αντιμετώπιση και η μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία αποτελούν τις κύριες θεραπευτικές επιλογές σύμφωνα με τη βιβλιογραφία<sup>93,295</sup>. Πράγματι και στη μελέτη μας το σύνολο των ασθενών (100%) αντιμετωπίστηκε χειρουργικά και ένα σημαντικό ποσοστό τους (86%) υποβλήθηκε μετεγχειρητικά σε ακτινοθεραπεία. Στη διεθνή βιβλιογραφία η θεραπευτική χρησιμότητα της χημειοθεραπείας για τους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα παραμένει ασαφής, όπως φαίνεται και στα αποτελέσματα της μελέτη μας<sup>53</sup>.

Πέντε ασθενείς (10%) υποβλήθηκαν σε εκλεκτικό λεμφαδενικό καθαρισμό του τραχήλου. Ο παθολογοανατομικός έλεγχος των παρασκευασμάτων του λεμφαδενικού καθαρισμού έδειξε ότι δύο ασθενείς ήταν pN0, ενώ οι υπόλοιποι τρεις ασθενείς ήταν pN1, pN2a και pN2b. Στη μελέτη μας διαπιστώθηκε ότι ο τραχηλικός λεμφαδενικός



καθαρισμός δεν επηρεάζει σημαντικά την επιβίωση ελεύθερη νόσου ή τη συνολική επιβίωση. Συμπέρασμα το οποίο θα μπορούσε να οφείλεται στο μικρό αριθμό ασθενών που υποβλήθηκαν σε αυτή τη χειρουργική επέμβαση. Ο Amit και συνεργάτες<sup>157</sup> δεν ανέφεραν σημαντική διαφορά στην επιβίωση μεταξύ N0 ασθενών που υποβλήθηκαν σε εκλεκτικό λεμφαδενικό καθαρισμό και σε αυτούς που δεν υποβλήθηκαν. Αντίθετα, ο Xiao και συνεργάτες<sup>298</sup> συστήνουν εκλεκτικό λεμφαδενικό καθαρισμό για προχωρημένου σταδίου N0 ασθενείς, καθώς αυτός βελτίωσε τη συνολική επιβίωση στους ασθενείς που μελέτησαν.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα έχει μία αργή αλλά επίμονη κλινική πορεία<sup>110,152</sup>. Ο μέσος χρόνος για υποτροπή και θάνατο στους ασθενείς που μελετήθηκαν ήταν 80 και 104 μήνες, αντίστοιχα. Τα ποσοστά πενταετούς και δεκαετούς επιβίωσης ελεύθερης νόσου ήταν 50% και 27,78%, αντίστοιχα, ενώ τα ποσοστά πενταετούς και δεκαετούς συνολικής επιβίωσης ήταν 67,50% και 45,71%, αντίστοιχα. Η μακροχρόνια, πρακτικά ισόβια, παρακολούθηση των ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα είναι επιβεβλημένη για την έγκαιρη αναγνώριση υποτροπής της νόσου<sup>299</sup>.

Το αντιγόνο Ki-67 είναι ένας δείκτης πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων<sup>254</sup>. Στη μελέτη μας η έκφραση του Ki-67 συνδέεται με τη βαθμολόγηση όπως περιγράφεται στα συστήματα Perzin / Szanto και Spiro. Ειδικότερα, το ποσοστό του Ki-67 συνδέεται θετικά με το βαθμό και στα δύο συστήματα ( $p = 0,015$  και  $p = 0,024$ , αντίστοιχα). Ασθενείς σταδίου I και II κατά Perzin / Szanto και Spiro είχαν χαμηλότερη έκφραση του Ki-67, ενώ ασθενείς σταδίου III είχαν υψηλότερη. Οι ασθενείς σταδίου III πάσχουν από όγκους στους οποίους ο συμπαγής υποτύπος επικρατεί και θεωρούνται υψηλής κακοήθειας<sup>90,300,301</sup>. Αντίθετα, στους ασθενείς σταδίου I και II επικρατούν ο ηθμοειδής και ο σωληνοειδής υποτύπος και πρόκειται για όγκους χαμηλού βαθμού κακοήθειας<sup>89,90,125</sup>. Ο Nordgard και συνεργάτες ανέφεραν ότι η έκφραση του Ki-67 είναι ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για το αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>265</sup>.

Η μελέτη της έκφρασης του HER-2 έδειξε ότι όλοι οι ασθενείς μας ήταν HER-2 αρνητικοί. Υπάρχουν αντιφατικές αναφορές σχετικά με την HER-2 έκφραση σε ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα. Το ποσοστό διαφοροποιείται σημαντικά στις διάφορες μελέτες από καμία υπερέκφραση έως 5%, 16%, > 50% και 100%<sup>248</sup>. Μία μετα-ανάλυση του Egebjerg και συνεργατών έδειξε ότι η επίπτωση της HER-2 θετικότητας ήταν 0,15%<sup>251</sup>.

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα χαρακτηρίζεται από μία μετατόπιση που συμμετέχουν το ογκογονίδιο MYB και ο μεταγραφικός παράγοντας NFIB<sup>208</sup>. Στη

μελέτη μας το 56% των ασθενών ήταν MYB-θετικοί. Η έκφραση του MYB δεν συνδέεται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό με την επιβίωση ελεύθερη νόσου ή τη συνολική επιβίωση. Αυτό συμφωνεί με μία αναφορά του Liu και συνεργατών, που δεν ανέφεραν διαφορά στην επιβίωση μεταξύ MYB-θετικών και αρνητικών ασθενών<sup>217</sup>. Αντίθετα, ο Broz και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι MYB-αρνητικοί ασθενείς είναι πιθανότερο να έχουν καλύτερη πρόγνωση<sup>302</sup>. Στη μελέτη μας η ενίσχυση του C-MYB παρατηρήθηκε στο 56% των ασθενών. Η ανοσοϊστοχημεία μπορεί να βάψει αδενοκυστικά καρκινώματα με και χωρίς τη μετατόπιση MYB-NFIB, ενώ η μέθοδος FISH μπορεί μόνο να ανιχνεύσει τα αδενοκυστικά καρκινώματα με τη μετατόπιση MYB-NFIB<sup>303,304</sup>. Στη μελέτη μας, η ανοσοϊστοχημεία έδειξε αντίστοιχη ευαισθησία με τη FISH.

Αξιολογήσαμε την έκφραση του MYB στις διάφορες εντοπίσεις του όγκου στους ασθενείς μας. Τα αδενοκυστικά καρκινώματα των ελάσσονων σιελογόνων αδένων έδειξαν μία υψηλότερη συχνότητα MYB-θετικών ασθενών από τις άλλες εντοπίσεις ( $p = 0,0196$ ), το οποίο συμφωνεί με μία προηγούμενη αναφορά από τον Rettig και συνεργάτες<sup>305</sup>. Η περινευρική διήθηση σχετίζεται θετικά με την ενίσχυση του MYB (95% CI: 1,02–10,72,  $p = 0,0423$ ), ωστόσο υπάρχουν αντιφατικές αναφορές σε μελέτες. Ο West και οι συνεργάτες του ανέφεραν μία τάση για περινευρική διήθηση σε ασθενείς με μετατόπιση MYB-NFIB<sup>303</sup>, ενώ μία άλλη μελέτη σε 158 ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα έδειξε ότι η περινευρική διήθηση δεν συνδέεται με την κατάσταση MYB-NFIB<sup>305</sup>. Ο Broz και οι συνεργάτες του έφτασαν σε ένα παρόμοιο συμπέρασμα<sup>302</sup>.

Μόνο οκτώ (16%) από τους συνολικά 50 ασθενείς ήταν NTRK-θετικοί. Ο Ivanov και οι συνεργάτες του ανέφεραν υψηλή έκφραση του NTRK3 σε 17 από 18 παρασκευάσματα με αδενοκυστικό καρκίνωμα<sup>231</sup>. Άλλες μελέτες ανέφεραν υψηλή συχνότητα (> 90%) της NTRK σύντηξης σε σπάνιους τύπους καρκίνου, όπως στο νεογνικό ινοσάρκωμα και χαμηλή συχνότητα (<1%) σε άλλους τύπους καρκίνου<sup>306</sup>. Στη μελέτη μας οι άνδρες έδειξαν μία υψηλότερη συχνότητα NTRK θετικότητας σε σχέση με τις γυναίκες (95% CI: 0,87–68,19,  $p = 0,0381$ ).

Η έκφραση του NTRK φαίνεται να συνδέεται με την επιβίωση. Κανένας από τους ασθενείς μας δεν λάμβανε NTRK αναστολείς. Οι NTRK-θετικοί ασθενείς είχαν χειρότερη συνολική επιβίωση από τους NTRK-αρνητικούς ασθενείς [μέση συνολική επιβίωση: 49,4 μήνες (SE: 9,9) vs. 110,8 μήνες (SE: 9,2);  $p = 0,0246$ ]. Το ποσοστό των NTRK-θετικών κυττάρων συνδέεται αρνητικά τόσο με την επιβίωση ελεύθερη νόσου

( $rs = -0,44$ ,  $p = 0,0016$ ) όσο και με τη συνολική επιβίωση ( $rs = -0,42$ ,  $p = 0,0027$ ). Αυτό το εύρημα θα μπορούσε να έχει κλινική εφαρμογή καθώς το NTRK μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός προγνωστικός δείκτης για το αδενοκυστικό καρκίνωμα. Μία μελέτη σε 28 ασθενείς με NTRK-θετικούς συμπαγείς όγκους ανέφερε ότι οι NTRK μεταλλάξεις μπορεί να αποτελέσουν αρνητικούς προγνωστικούς παράγοντες<sup>306</sup>.

Στην περίπτωση των NTRK-θετικών ασθενών θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν θεραπευτικά οι NTRK αναστολείς. Πολυάριθμες μελέτες έχουν αναδείξει τη σημαντική αντικαρκινική δράση των NTRK αναστολέων, με αποδεκτή τοξικότητα<sup>307-309</sup>, με τους ασθενείς να δείχνουν μία αξιοσημείωτη και ανθεκτική θεραπευτική απάντηση<sup>307</sup>.

Ένας σημαντικός περιορισμός της μελέτης μας ήταν ο μικρός αριθμός NTRK-θετικών ασθενών (8 ασθενείς, 16%). Μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό NTRK-θετικών ασθενών χρειάζονται για να επιβεβαιώσουν το ρόλο του NTRK ως αρνητικό προγνωστικό παράγοντα για το αδενοκυστικό καρκίνωμα. Ένας άλλος περιορισμός είναι ότι κανένας από τους NTRK-θετικούς ασθενείς δεν αντιμετωπίστηκε θεραπευτικά με NTRK αναστολείς. Είναι απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα σχετικά με τη θεραπευτική επίδραση των NTRK αναστολέων στη θεραπεία ασθενών με NTRK-θετικό αδενοκυστικό καρκίνωμα.

Περιορισμό της μελέτης μας αποτέλεσε επίσης ο μικρός αριθμός ασθενών (4 ασθενείς, 8%) με αδενοκυστικό καρκίνωμα στη στοματική κοιλότητα. Η στοματική κοιλότητα έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ελάσσονων σιελογόνων αδένων και αποτελεί μία από τις συχνότερες εντοπίσεις αυτού του νεοπλασματος. Σε μελλοντικές μελέτες, η συμμετοχή μεγαλύτερου αριθμού ασθενών με αδενοκυστικό καρκίνωμα στη στοματική κοιλότητα είναι σημαντική, ώστε να διερευνηθεί το κατά πόσον αναπαράγονται τα αποτελέσματα της μελέτης μας σε αυτή την κατηγορία ασθενών.

Ο αριθμός των ασθενών με τραχηλικές λεμφαδενικές μεταστάσεις ήταν ιδιαίτερα μικρός (3 ασθενείς, 6%), όπως και ο αριθμός των ασθενών που υποβλήθηκαν σε τραχηλικό λεμφαδενικό καθαρισμό (5 ασθενείς, 10%). Το περιορισμένο αριθμητικά δείγμα δεν μας επιτρέπει να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα αναφορικά με την επίπτωση των τραχηλικών λεμφαδενικών μεταστάσεων και του τραχηλικού λεμφαδενικού καθαρισμού στην επιβίωση των ασθενών.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το αδενοκυστικό καρκίνωμα αποτελεί ένα κακοήθες νεόπλασμα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Γνωρίσματά του είναι η αργή αλλά εμμένουσα πορεία με συχνές τοπικές υποτροπές και απομακρυσμένες μεταστάσεις ακόμα και πολλά χρόνια μετά την αρχική διάγνωση. Η θεραπευτική αντιμετώπιση αυτού του νεοπλασματος στηρίζεται στην κατά το δυνατόν ριζικότερη χειρουργική εξαίρεση και στη μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Η χρησιμότητα της χημειοθεραπείας σύμφωνα με την πλειοψηφία των μελετών παραμένει αμφίβολη. Ως εκ τούτου ασθενείς που παρουσιάζουν εκτεταμένη τοπικά υποτροπιάζουσα ή μεταστατική νόσο, δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν με επιτυχία από τις υπάρχουσες θεραπευτικές επιλογές. Τα τελευταία χρόνια γίνεται μεγάλη προσπάθεια για να κατανοηθούν οι παθογόνοι μηχανισμοί σε μοριακό επίπεδο του αδενοκυστικού καρκινώματος. Η κατανόηση αυτών των μηχανισμών θα μπορούσε να αναδείξει κάποιους αρνητικούς προγνωστικούς παράγοντες, η ύπαρξη των οποίων σε έναν ασθενή θα δικαιολογούσε μία πιο επιθετική αρχική θεραπευτική αντιμετώπιση. Επιπροσθέτως, η αποσαφήνιση των παθογενετικών μηχανισμών του αδενοκυστικού καρκινώματος θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων στοχευμένων θεραπειών, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στις περιπτώσεις των ασθενών όπου η αρχική θεραπευτική αντιμετώπιση δεν είχε αποτέλεσμα και εμφανίζουν υποτροπιάζουσα και μεταστατική νόσο.

Η μελέτη μας διενεργήθηκε με γνώμονα τους παραπάνω στόχους. Προσπαθήσαμε να αναδείξουμε κάποια από τα χαρακτηριστικά του αδενοκυστικού καρκινώματος. Ένα σημαντικό εύρημα ήταν ότι άνω των μισών ασθενών ήταν MYB-θετικοί. Ωστόσο, η θετικότητα στο MYB δεν είχε επίπτωση στην επιβίωση. Επομένως, ενώ το MYB δεν μπορεί να αποτελέσει αρνητικό προγνωστικό παράγοντα για αυτό το νεόπλασμα, οι αναστολείς του MYB αποτελούν ελπιδοφόρους θεραπευτικούς παράγοντες. Πάνω από τους μισούς ασθενείς θα μπορούσαν να ωφεληθούν από αυτή τη θεραπευτική επιλογή.

Η έκφραση του NTRK φαίνεται να συνδέεται με την επιβίωση. Κανένας από τους ασθενείς μας δεν λάμβανε NTRK αναστολείς. Οι NTRK-θετικοί ασθενείς είχαν χειρότερη συνολική επιβίωση από τους NTRK-αρνητικούς ασθενείς [μέση συνολική επιβίωση: 49,4 μήνες (SE: 9,9) vs. 110,8 μήνες (SE: 9,2);  $p = 0,0246$ ]. Το ποσοστό των NTRK-θετικών κυττάρων συνδέεται αρνητικά τόσο με την επιβίωση ελεύθερη νόσου ( $rs = -0,44$ ,  $p = 0,0016$ ) όσο και με τη συνολική επιβίωση ( $rs = -0,42$ ,  $p = 0,0027$ ).

Ένα ακόμα σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτη μας ήταν η παρατήρηση ότι ένα υψηλό ποσοστό NTRK-θετικών κυττάρων σχετίζεται με χειρότερη επιβίωση ελεύθερη νόσου αλλά και χειρότερη συνολική επιβίωση. Επίσης, οι NTRK-θετικοί ασθενείς είχαν χειρότερη συνολική επιβίωση από τους NTRK-αρνητικούς ασθενείς. Ωστόσο, ένα σχετικά μικρό ποσοστό των ασθενών μας (16%) ήταν NTRK-θετικό. Παρόλη τη χαμηλή συχνότητα του NTRK στο αδενοκυστικό καρκίνωμα, η αναζήτηση της έκφρασής του θα μπορούσε να βοηθήσει στη διαχείριση των ασθενών αυτών, αφού φαίνεται ότι η θετικότητα στο NTRK αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα. Επομένως, NTRK-θετικοί ασθενείς, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από χειρότερη πρόγνωση, θα μπορούσαν να ωφεληθούν από μία πιο επιθετική αρχική θεραπευτική αντιμετώπιση αλλά και από μία πιο στενή μακροχρόνια παρακολούθηση.

Ένα ακόμα σημαντικό συμπέρασμα της μελέτης μας είναι ότι οι NTRK-θετικοί ασθενείς θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν θεραπευτικά με φάρμακα τα οποία αναστέλλουν την έκφραση του NTRK, τουλάχιστον στους ασθενείς με υποτροπιάζουσα και μεταστατική νόσο. Οι NTRK αναστολείς αποτελούν μία νέα κατηγορία στοχευμένης θεραπείας. Πολυάριθμες μελέτες έχουν αναδείξει τη σημαντική αντικαρκινική δράση των NTRK αναστολέων, με αποδεκτή τοξικότητα. Οι ασθενείς δείχνουν μία αξιοσημείωτη και ανθεκτική θεραπευτική απάντηση. Επομένως, ο έλεγχος του NTRK θα μπορούσε να δώσει μία θεραπευτική επιλογή για τους ασθενείς με αδενοκυστικό καρκίνωμα σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος. Οι NTRK αναστολείς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία των NTRK-θετικών ασθενών στις περιπτώσεις που η αρχική θεραπευτική αντιμετώπιση έχει αποτύχει.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Tucker AS. Salivary gland development. *Semin Cell Dev Biol.* 2007;18(2):237-244. doi:<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2007.01.006>
2. Miletich I. Introduction to salivary glands: structure, function and embryonic development. *Front Oral Biol.* 2010;14:1-20. doi:10.1159/000313703
3. Rothová MM, Thompson H, Lickert H, Tucker AS. Lineage tracing of the endoderm during oral development. *Developmental Dynamics.* 2012;241.
4. Kusakabe M, Sakakura T, Sano M, Nishizuka Y. A pituitary-salivary mixed gland induced by tissue recombination of embryonic pituitary epithelium and embryonic submandibular gland mesenchyme in mice. *Dev Biol.* 1985;110(2):382-391. doi:[https://doi.org/10.1016/0012-1606\(85\)90097-1](https://doi.org/10.1016/0012-1606(85)90097-1)
5. Sakakura T, Nishizuka Y, Dawe CJ. Mesenchyme-Dependent Morphogenesis and Epithelium-Specific Cytodifferentiation in Mouse Mammary Gland. *Science (1979).* 1976;194(4272):1439-1441. doi:10.1126/science.827022
6. Yamamoto S, Fukumoto E, Yoshizaki K, et al. Platelet-derived Growth Factor Receptor Regulates Salivary Gland Morphogenesis via Fibroblast Growth Factor Expression \*. *Journal of Biological Chemistry.* 2008;283(34):23139-23149. doi:10.1074/jbc.M710308200
7. Som PM, Miletich I. The Embryology of the Salivary Glands: An Update. *Neurographics.* 2015;5. doi:10.3174/ng.4150122
8. Chi-feng Hsu J, Yamada KM. Salivary Gland Branching Morphogenesis-Recent Progress and Future Opportunities. doi:10.4248/IJOS10042
9. Harunaga J, Hsu JC, Yamada KM. Dynamics of salivary gland morphogenesis. *J Dent Res.* 2011;90(9):1070-1077. doi:10.1177/0022034511405330
10. Dardick I, Dardick AM, MacKay AJ, Pastolero GC, Gullane PJ, Burford-Mason AP. Pathobiology of salivary glands: IV. Histogenetic concepts and cycling cells in human parotid and submandibular glands cultured in floating collagen gels. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology.* 1993;76(3):307-318. doi:[https://doi.org/10.1016/0030-4220\(93\)90259-7](https://doi.org/10.1016/0030-4220(93)90259-7)
11. Dardick I, Burford-Mason AP, Garlick DS, Carney WP. The pathobiology of salivary gland. *Virchows Archiv A.* 1992;421(2):105-113. doi:10.1007/BF01607042
12. Harrison DFN. Tumors of the head and neck. Clinical and pathological considerations. John G. Batsakis, MD, Michigan. 260 × 180 mm. Pp. 388 + x. Illustrated. 1974. Baltimore: Williams & Wilkins Company. \$19.75. *British Journal of Surgery.* 1974;61(12):989. doi:10.1002/bjs.1800611227
13. Andreasen S. Molecular features of adenoid cystic carcinoma with an emphasis on microRNA expression. *APMIS.* 2018;126:7-57. doi:10.1111/apm.12828

14. Patel VN, Hoffman MP. Salivary gland development: A template for regeneration. *Semin Cell Dev Biol.* 2014;25-26:52-60. doi:10.1016/j.semcdb.2013.12.001
15. de Paula F, Teshima THN, Hsieh R, Souza MM, Nico MMS, Lourenco SV. Overview of Human Salivary Glands: Highlights of Morphology and Developing Processes. *Anatomical Record.* 2017;300(7):1180-1188. doi:10.1002/ar.23569
16. Rocchi C, Barazzuol L, Coppes RP. The evolving definition of salivary gland stem cells. *NPJ Regen Med.* 2021;6(1):4. doi:10.1038/s41536-020-00115-x
17. Frank H. Netter. *Atlas of Human Anatomy.* 7th ed. Elsevier; 2008.
18. Du Toit D, Nortjé C. Salivary glands: applied anatomy and clinical correlates. *SADJ.* 2004;59:65-66, 69.
19. L. Junqueira. *Βασική Ιστολογία.* 5η Ελληνική Έκδοση. (Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, ed.); 2004.
20. Ferreira JN, Hoffman MP. Interactions between developing nerves and salivary glands. *Organogenesis.* 2013;9(3):199-205. doi:10.4161/org.25224
21. de Paula F, Teshima THN, Hsieh R, Souza MM, Nico MMS, Lourenco SV. Overview of Human Salivary Glands: Highlights of Morphology and Developing Processes. *Anat Rec.* 2017;300(7):1180-1188. doi:https://doi.org/10.1002/ar.23569
22. Martinez-Madrigal F, Micheau C. Histology of the Major Salivary Glands. *Am J Surg Pathol.* 1989;13(10).  
[https://journals.lww.com/ajsp/fulltext/1989/10000/histology\\_of\\_the\\_major\\_salivary\\_glands.8.aspx](https://journals.lww.com/ajsp/fulltext/1989/10000/histology_of_the_major_salivary_glands.8.aspx)
23. Αθανασιάδης - Σισμάνης Α. *Ωτορινολαρυγγολογία- Χειρουργική Κεφαλής Και Τραχήλου.* (Παρισιάνου Α.Ε., ed.); 2011.
24. Μπαλατσούρας Δ, Καμπέρος Α. *Ανατομική Κεφαλής Και Τραχήλου Με Στοιχεία Εμβρυολογίας.* (Παρισιάνου, ed.); 2000.
25. Burdess S. *Small Integrin-Binding N-Linked Glycoproteins (SIBLINGs) Are Upregulated in Human Salivary Gland Cancer.* 2015.
26. Kochhar A, Larian B, Azizzadeh B. Facial Nerve and Parotid Gland Anatomy. *Otolaryngol Clin North Am.* 2016;49(2):273-284.  
doi:https://doi.org/10.1016/j.otc.2015.10.002
27. Beahm DD, Peleaz L, Nuss DW, et al. Surgical approaches to the submandibular gland: A review of literature. *International Journal of Surgery.* 2009;7(6):503-509.  
doi:https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2009.09.006
28. Ho K, Lin H, Ann D, Chu P, Yen Y. An overview of the rare parotid gland cancer. *Head Neck Oncol.* 2011;3:40. doi:10.1186/1758-3284-3-40
29. La'porte S, Juttla J, Lingam R. Imaging the Floor of the Mouth and the Sublingual Space. *Radiographics.* 2011;31:1215-1230. doi:10.1148/rg.315105062
30. Edgar WM. Saliva and dental health. Clinical implications of saliva: report of a consensus meeting. *Br Dent J.* 1990;169(4):96-98. doi:10.1038/sj.bdj.4807284

31. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2001;85(2):162-169. doi:10.1067/mpr.2001.113778
32. Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, Ellison SA. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1982;11(1):1-17. doi:https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1982.tb00138.x
33. Levine MJ. Development of Artificial Salivas. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1993;4(3):279-286. doi:10.1177/10454411930040030401
34. Slomiany BL, Murty VLN, Piotrowski J, Slomiany A. Salivary mucins in oral mucosal defense. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1996;27(5):761-771. doi:https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02050-0
35. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res*. 2000;14:40-47. doi:10.1177/08959374000140010601
36. Dowd FJ. SALIVA AND DENTAL CARIES. *Dent Clin North Am*. 1999;43(4):579-597. doi:https://doi.org/10.1016/S0011-8532(22)00815-1
37. McNabb PC, Tomasi TB. Host Defense Mechanisms at Mucosal Surfaces. *Annu Rev Microbiol*. 1981;35(1):477-496. doi:10.1146/annurev.mi.35.100181.002401
38. Heintze U, Birkhed D, Björn H. Secretion rate and buffer effect of resting and stimulated whole saliva as a function of age and sex. *Swed Dent J*. 1983;7(6):227-238. http://europepmc.org/abstract/MED/6583873
39. Benn AML, Thomson WM. Saliva: an overview. *N Z Dent J*. 2014;110 3:92-96.
40. Proctor GB, Carpenter GH. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton Neurosci*. 2007;133(1):3-18. doi:10.1016/j.autneu.2006.10.006
41. Barbe AG. Medication-Induced Xerostomia and Hyposalivation in the Elderly: Culprits, Complications, and Management. *Drugs Aging*. 2018;35(10):877-885. doi:10.1007/s40266-018-0588-5
42. Turner MD. Hyposalivation and Xerostomia: Etiology, Complications, and Medical Management. *Dent Clin North Am*. 2016;60(2):435-443. doi:https://doi.org/10.1016/j.cden.2015.11.003
43. Alkhateeb AA, Mancl LA, Ramos KJ, et al. Periodontitis Risk Factors in Adults with Cystic Fibrosis: A pilot study. *American Dental Hygienists Association*. 2023;97(2):7. http://jdh.adha.org/content/97/2/7.abstract
44. López-Pintor RM, Casañas E, González-Serrano J, et al. Xerostomia, Hyposalivation, and Salivary Flow in Diabetes Patients. Delgado-Ruiz RA, ed. *J Diabetes Res*. 2016;2016:4372852. doi:10.1155/2016/4372852
45. Hunt T, Nasmyth K, Novak B. The cell cycle. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366:3494-3497. doi:10.1098/rstb.2011.0274
46. Uzbekov R, Prigent C. A Journey through Time on the Discovery of Cell Cycle Regulation. *Cells*. 2022;11(4). doi:10.3390/cells11040704



47. Hartwell LH, Kastan MB. Cell Cycle Control and Cancer. *Science* (1979). 1994;266(5192):1821-1828. doi:10.1126/science.7997877
48. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70. doi:10.1016/S0092-8674(00)81683-9
49. Sirakoulis GCh, Karafyllidis I, Sandaltzopoulos R, Tsalides Ph, Thanailakis A. An algorithm for the study of DNA sequence evolution based on the genetic code. *Biosystems*. 2004;77(1):11-23. doi:https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2004.02.006
50. Dodd RL, Slevin NJ. Salivary gland adenoid cystic carcinoma: A review of chemotherapy and molecular therapies. *Oral Oncol*. 2006;42(8):759-769. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2006.01.001
51. Dodd RL, Slevin NJ. Salivary gland adenoid cystic carcinoma: A review of chemotherapy and molecular therapies. *Oral Oncol*. 2006;42(8):759-769. doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2006.01.001
52. Vander Poorten VLM, Balm AJM, Hilgers FJM, et al. Prognostic factors for long term results of the treatment of patients with malignant submandibular gland tumors. *Cancer*. 1999;85(10):2255-2264. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19990515)85:10<2255::AID-CNCR22>3.0.CO;2-D
53. Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Bradley PJ, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck – An update. *Oral Oncol*. 2015;51(7):652-661. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.04.005
54. Poorten V Vander, Hunt J, Bradley PJ, et al. Recent trends in the management of minor salivary gland carcinoma. *Head Neck*. 2014;36(3):444-455. doi:https://doi.org/10.1002/hed.23249
55. Livolsi VA, Perzin KH. Malignant mixed tumors arising in salivary glands. I. Carcinomas arising in benign mixed tumors: A clinicopathologic study. *Cancer*. 1977;39(5):2209-2230. doi:https://doi.org/10.1002/1097-0142(197705)39:5<2209::AID-CNCR2820390540>3.0.CO;2-8
56. Kokemueller H, Eckardt A, Brachvogel P, Hausamen JE. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck—a 20 years experience. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33(1):25-31. doi:https://doi.org/10.1054/ijom.2003.0448
57. Bjørndal K, Krogdahl A, Therkildsen MH, et al. Salivary gland carcinoma in Denmark 1990–2005: A national study of incidence, site and histology. Results of the Danish Head and Neck Cancer Group (DAHANCA). *Oral Oncol*. 2011;47(7):677-682. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.04.020
58. Vander Poorten V, Bradley PJ, Takes RP, Rinaldo A, Woolgar JA, Ferlito A. Diagnosis and management of parotid carcinoma with a special focus on recent advances in molecular biology. *Head Neck*. 2012;34(3):429-440. doi:https://doi.org/10.1002/hed.21706
59. Vander Poorten V, Meulemans J, Delaere P, Nuyts S, Clement P. Molecular Markers and Chemotherapy for Advanced Salivary Cancer. *Curr Otorhinolaryngol Rep*. 2014;2. doi:10.1007/s40136-014-0040-2

60. Laurie SA, Ho AL, Fury MG, Sherman E, Pfister DG. Systemic therapy in the management of metastatic or locally recurrent adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: a systematic review. *Lancet Oncol.* 2011;12(8):815-824. doi:[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70245-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70245-X)
61. Terhaard CHJ, Lubsen H, Van der Tweel I, et al. Salivary gland carcinoma: independent prognostic factors for locoregional control, distant metastases, and overall survival: results of the Dutch head and neck oncology cooperative group. *Head Neck.* 2004;26(8):681-693. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.10400>
62. Bonaparte JP, Hart RD, Trites JRB, Taylor MS. Incidence of adenoid cystic carcinoma in nova scotia: 30-year population-based epidemiologic study. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;37 5:642-648.
63. Wal JE van der, Snow GB, Waal I van der. Histological reclassification of 101 intraoral salivary gland tumours (new WHO classification). *J Clin Pathol.* 1992;45(9):834. doi:10.1136/jcp.45.9.834
64. Vander Poorten VLM, Hart AAM, van der Laan BFAM, et al. Prognostic index for patients with parotid carcinoma. *Cancer.* 2003;97(6):1453-1463. doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.11254>
65. Batsakis JG. Pathology Consultation Carcinomas of the Submandibular and Sublingual Glands. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology.* 1986;95(2):211-212. doi:10.1177/000348948609500223
66. van Weert S, Bloemena E, van der Waal I, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: A single-center analysis of 105 consecutive cases over a 30-year period. *Oral Oncol.* 2013;49(8):824-829. doi:<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.05.004>
67. Nascimento AG, Amaral ALP, Prado LAF, Kligerman J, Silveira TRP. Adenoid cystic carcinoma of salivary glands. A study of 61 cases with clinicopathologic correlation. *Cancer.* 1986;57(2):312-319. doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19860115\)57:2<312::AID-CNCR2820570220>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19860115)57:2<312::AID-CNCR2820570220>3.0.CO;2-A)
68. Spiro RH, Huvos AG, Strong EW. Adenoid cystic carcinoma of salivary origin: A clinicopathologic study of 242 cases. *The American Journal of Surgery.* 1974;128(4):512-520. doi:[https://doi.org/10.1016/0002-9610\(74\)90265-7](https://doi.org/10.1016/0002-9610(74)90265-7)
69. Zvrko E, Golubović M. Laryngeal adenoid cystic carcinoma. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2009;29 5:279-282.
70. Conley J, Dingman DL. Adenoid Cystic Carcinoma in the Head and Neck (Cylindroma). *Arch Otolaryngol.* 1974;100(2):81-90. doi:10.1001/archotol.1974.00780040087001
71. Vander Poorten VLM, Balm AJM, Hilgers FJM, et al. The development of a prognostic score for patients with parotid carcinoma. *Cancer.* 1999;85(9):2057-2067. doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19990501\)85:9<2057::AID-CNCR24>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19990501)85:9<2057::AID-CNCR24>3.0.CO;2-F)
72. Biswas K Das, Saha J, Sen I, et al. Unusual Presentations of Adenoid Cystic Carcinoma in Extra-Salivary Gland Subsites in Head and Neck Region: A Case Series. *Indian*

- Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2014;66(1):286-290.  
doi:10.1007/s12070-012-0490-0
73. da Cruz Perez DE, de Abreu Alves F, Nobuko Nishimoto I, de Almeida OP, Kowalski LP. Prognostic factors in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol*. 2006;42(2):139-146. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2005.06.024
  74. Cantù G. Adenoid cystic carcinoma. An indolent but aggressive tumour. part a: From aetiopathogenesis to diagnosis. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*. 2021;41(3):206-214. doi:10.14639/0392-100X-N1379
  75. Rzepakowska A, Osuch-Wójcikiewicz E, Sobol M, Cruz R, Sielska-Badurek E, Niemczyk K. The differential diagnosis of parotid gland tumors with high-resolution ultrasound in otolaryngological practice. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2017;274(8):3231-3240. doi:10.1007/s00405-017-4636-2
  76. Matsuzaki H, Yanagi Y, Hara M, et al. Minor salivary gland tumors in the oral cavity: Diagnostic value of dynamic contrast-enhanced MRI. *Eur J Radiol*. 2012;81(10):2684-2691. doi:https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2011.11.005
  77. Hanna E, Vural E, Prokopakis E, Carrau R, Snyderman C, Weissman J. The Sensitivity and Specificity of High-Resolution Imaging in Evaluating Perineural Spread of Adenoid Cystic Carcinoma to the Skull Base. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;133(6):541-545. doi:10.1001/archotol.133.6.541
  78. Jeong HS, Chung MK, Son YI, et al. Role of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT in Management of High-Grade Salivary Gland Malignancies. *Journal of Nuclear Medicine*. 2007;48(8):1237. doi:10.2967/jnumed.107.041350
  79. Roh JL, Ryu CH, Choi SH, et al. Clinical utility of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET for patients with salivary gland malignancies. *J Nucl Med*. 2007;48(2):240-246.  
http://europepmc.org/abstract/MED/17268021
  80. Nagel H, Hotze HJ, Laskawi R, Chilla R, Droese M. Cytologic diagnosis of adenoid cystic carcinoma of salivary glands. *Diagn Cytopathol*. 1999;20(6):358-366.  
doi:https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0339(199906)20:6<358::AID-DC6>3.0.CO;2-X
  81. Zbären P, Triantafyllou A, Devaney KO, et al. Preoperative diagnostic of parotid gland neoplasms: fine-needle aspiration cytology or core needle biopsy? *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2018;275(11):2609-2613. doi:10.1007/s00405-018-5131-0
  82. Douville NJ, Bradford CR. Comparison of ultrasound-guided core biopsy versus fine-needle aspiration biopsy in the evaluation of salivary gland lesions. *Head Neck*. 2013;35(11):1657-1661. doi:https://doi.org/10.1002/hed.23193
  83. Novoa E, Gürtler N, Arnoux A, Kraft M. Diagnostic value of core needle biopsy and fine-needle aspiration in salivary gland lesions. *Head Neck*. 2016;38(S1):E346-E352. doi:https://doi.org/10.1002/hed.23999
  84. Chen JC, Gnepp DR, Bedrossian CWM. Adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: An immunohistochemical analysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1988;65(3):316-326. doi:https://doi.org/10.1016/0030-4220(88)90116-8

85. Cheng J, Saku T, Okabe H, Furthmayr H. Basement membranes in adenoid cystic carcinoma an immunohistochemical study. *Cancer*. 1992;69.
86. Frierson HF, El-Naggar AK, Welsh JB, et al. Large Scale Molecular Analysis Identifies Genes with Altered Expression in Salivary Adenoid Cystic Carcinoma. *Am J Pathol*. 2002;161(4):1315-1323. doi:[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64408-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64408-2)
87. van Weert S, van der Waal I, Witte BI, René Leemans C, Bloemena E. Histopathological grading of adenoid cystic carcinoma of the head and neck: Analysis of currently used grading systems and proposal for a simplified grading scheme. *Oral Oncol*. 2015;51(1):71-76. doi:<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.10.007>
88. Vander Poorten VLM, Balm AJM, Hilgers FJM, et al. The development of a prognostic score for patients with parotid carcinoma. *Cancer*. 1999;85(9):2057-2067. doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19990501\)85:9<2057::AID-CNCR24>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19990501)85:9<2057::AID-CNCR24>3.0.CO;2-F)
89. Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME, White RA. Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Cancer*. 1984;54(6):1062-1069. doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19840915\)54:6<1062::AID-CNCR2820540622>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19840915)54:6<1062::AID-CNCR2820540622>3.0.CO;2-E)
90. Perzin KH, Gullane P, Clairmont AC. Adenoid cystic carcinomas arising in salivary glands. A correlation of histologic features and clinical course. *Cancer*. 1978;42(1):265-282. doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197807\)42:1<265::AID-CNCR2820420141>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197807)42:1<265::AID-CNCR2820420141>3.0.CO;2-Z)
91. Spiro RH, Huvos AG, Strong EW. Adenoid cystic carcinoma of salivary origin: A clinicopathologic study of 242 cases. *The American Journal of Surgery*. 1974;128(4):512-520. doi:[https://doi.org/10.1016/0002-9610\(74\)90265-7](https://doi.org/10.1016/0002-9610(74)90265-7)
92. Huang M, Ma D, Sun K, Yu G, Guo C, Gao F. Factors influencing survival rate in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1997;26(6):435-439. doi:[https://doi.org/10.1016/S0901-5027\(97\)80008-2](https://doi.org/10.1016/S0901-5027(97)80008-2)
93. Shen C, Xu T, Huang C, Hu C, He S. Treatment outcomes and prognostic features in adenoid cystic carcinoma originated from the head and neck. *Oral Oncol*. 2012;48(5):445-449. doi:<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.12.002>
94. Mendenhall WM, Morris CG, Amdur RJ, Werning JW, Hinerman RW, Villaret DB. Radiotherapy alone or combined with surgery for adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck*. 2004;26(2):154-162. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.10380>
95. Casler JD, Conley JJ. Surgical Management of Adenoid Cystic Carcinoma in the Parotid Gland. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 1992;106(4):332-338. doi:<https://doi.org/10.1177/019459989210600403>
96. Renehan AG, Gleave EN, Slevin NJ, McGurk M. Clinico-pathological and treatment-related factors influencing survival in parotid cancer. *Br J Cancer*. 1999;80(8):1296-1300. doi:10.1038/sj.bjc.6990501

97. Vander Poorten VLM, Balm AJM, Hilgers FJM. Management of cancer of the parotid gland. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;10(2).  
[https://journals.lww.com/otolaryngology/Fulltext/2002/04000/Management\\_of\\_cancer\\_of\\_the\\_parotid\\_gland.13.aspx](https://journals.lww.com/otolaryngology/Fulltext/2002/04000/Management_of_cancer_of_the_parotid_gland.13.aspx)
98. Spiro RH, Armstrong J, Harrison L, Geller NL, Lin SY, Strong EW. Carcinoma of Major Salivary Glands: Recent Trends. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989;115(3):316-321. doi:10.1001/archotol.1989.01860270058015
99. Min R, Siyi L, Wenjun Y, et al. Salivary gland adenoid cystic carcinoma with cervical lymph node metastasis: a preliminary study of 62 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41(8):952-957. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijom.2012.04.023>
100. Lee SY, Kim BH, Choi EC. Nineteen-year oncologic outcomes and the benefit of elective neck dissection in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Head Neck.* 2014;36(12):1796-1801. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.23537>
101. H. Spiro R. Distant metastasis in adenoid cystic carcinoma of salivary origin. *The American Journal of Surgery.* 1997;174(5):495-498. doi:10.1016/S0002-9610(97)00153-0
102. Ferlito A, Barnes L, Myers EN. Neck Dissection for Laryngeal Adenoid Cystic Carcinoma: Is it Indicated? *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology.* 1990;99(4):277-280. doi:10.1177/000348949009900405
103. Katz TS, Mendenhall WM, Morris CG, Amdur RJ, Hinerman RW, Villaret DB. Malignant tumors of the nasal cavity and paranasal sinuses. *Head Neck.* 2002;24(9):821-829. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.10143>
104. Huber PE, Debus J, Latz D, et al. Radiotherapy for advanced adenoid cystic carcinoma: neutrons, photons or mixed beam? *Radiotherapy and Oncology.* 2001;59(2):161-167. doi:[https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(00\)00273-5](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(00)00273-5)
105. Laramore GE, Krall JM, Griffin TW, et al. Neutron versus photon irradiation for unresectable salivary gland tumors: Final report of an RTOG-MRC randomized clinical trial. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics.* 1993;27(2):235-240. doi:[https://doi.org/10.1016/0360-3016\(93\)90233-L](https://doi.org/10.1016/0360-3016(93)90233-L)
106. Krüll A, Schwarz R, Brackrock S, et al. Neutron Therapy in Malignant Salivary Gland Tumors: Results at European Centers. In: Engenhardt-Cabillic R, Wambersie A, eds. *Fast Neutrons and High-LET Particles in Cancer Therapy.* Springer Berlin Heidelberg; 1998:88-99.
107. Douglas JG, Koh W jin, Austin-Seymour M, Laramore GE. Treatment of Salivary Gland Neoplasms With Fast Neutron Radiotherapy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;129(9):944-948. doi:10.1001/archotol.129.9.944
108. Chae YK, Chung SY, Davis AA, et al. Adenoid cystic carcinoma: current therapy and potential therapeutic advances based on genomic profiling. *Oncotarget.* 2015;6(35):37117-37134. doi:10.18632/oncotarget.5076

109. Laurie SA, Licitra L. Systemic Therapy in the Palliative Management of Advanced Salivary Gland Cancers. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(17):2673-2678. doi:10.1200/JCO.2005.05.3025
110. Dillon PM, Chakraborty S, Moskaluk CA, Joshi PJ, Thomas CY. Adenoid cystic carcinoma: A review of recent advances, molecular targets, and clinical trials. *Head Neck*. 2016;38(4):620-627. doi:10.1002/hed.23925
111. Dodd RL, Slevin NJ. Salivary gland adenoid cystic carcinoma: A review of chemotherapy and molecular therapies. *Oral Oncol*. 2006;42(8):759-769. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2006.01.001
112. Andry G, Hamoir M, Locati LD, Licitra L, Langendijk JA. Management of salivary gland tumors. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2012;12(9):1161-1168. doi:10.1586/era.12.92
113. Ciccolallo L, Licitra L, Cantú G, Gatta G. Survival from salivary glands adenoid cystic carcinoma in European populations. *Oral Oncol*. 2009;45(8):669-674. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2008.10.010
114. Huang M, Ma D, Sun K, Yu G, Guo C, Gao F. Factors influencing survival rate in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1997;26(6):435-439. doi:https://doi.org/10.1016/S0901-5027(97)80008-2
115. DeAngelis AF, Tsui A, Wiesenfeld D, Chandu A. Outcomes of patients with adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011;40(7):710-714. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijom.2011.02.010
116. JONES AS, HAMILTON JW, ROWLEY H, HUSBAND D, HELLIWELL TR. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 1997;22(5):434-443. doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2273.1997.00041.x
117. Mu X, Li Y, He L, et al. Prognostic nomogram for adenoid cystic carcinoma in different anatomic sites. *Head Neck*. 2021;43(1):48-59. doi:10.1002/hed.26443
118. He S, Li P, Zhong Q, et al. Clinicopathologic and prognostic factors in adenoid cystic carcinoma of head and neck minor salivary glands: A clinical analysis of 130 cases. *Am J Otolaryngol*. 2017;38(2):157-162. doi:10.1016/j.amjoto.2016.11.014
119. Lorini L, Ardighieri L, Bozzola A, et al. Prognosis and management of recurrent and/or metastatic head and neck adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol*. 2021;115:105213. doi:10.1016/j.oraloncology.2021.105213
120. Atallah S, Casiraghi O, Fakhry N, et al. A prospective multicentre REFCOR study of 470 cases of head and neck Adenoid cystic carcinoma: epidemiology and prognostic factors. *Eur J Cancer*. 2020;130:241-249. doi:10.1016/j.ejca.2020.01.023
121. Michel G, Joubert M, Delemazure AS, Espitalier F, Durand N, Malard O. Adenoid cystic carcinoma of the paranasal sinuses: Retrospective series and review of the literature. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2013;130(5):257-262. doi:https://doi.org/10.1016/j.anorl.2012.09.010
122. Mays AC, Hanna EY, Ferrarotto R, et al. Prognostic factors and survival in adenoid cystic carcinoma of the sinonasal cavity. *Head Neck*. 2018;40(12):2596-2605. doi:https://doi.org/10.1002/hed.25335

123. da Cruz Perez DE, de Abreu Alves F, Nobuko Nishimoto I, de Almeida OP, Kowalski LP. Prognostic factors in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol.* 2006;42(2):139-146. doi:<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2005.06.024>
124. Eneroth CM, Hjertman L, Moberger G. Malignant Tumours of the Submandibular Gland. *Acta Otolaryngol.* 1967;64(1-6):514-536. doi:10.3109/00016486709139137
125. Spiro RH, Huvos AG. Stage means more than grade in adenoid cystic carcinoma. *The American Journal of Surgery.* 1992;164(6):623-628. doi:10.1016/S0002-9610(05)80721-4
126. Marcinow A, Ozer E, Teknos T, et al. Clinicopathologic predictors of recurrence and overall survival in adenoid cystic carcinoma of the head and neck: A single institutional experience at a tertiary care center. *Head Neck.* 2014;36(12):1705-1711. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.23523>
127. Barrett AW, Speight PM. Perineural invasion in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: A valid prognostic indicator? *Oral Oncol.* 2009;45(11):936-940. doi:<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2009.07.001>
128. Kok VC, Wang A, Amit M, et al. Perineural Invasion in Adenoid Cystic Carcinoma of the Salivary Glands: Where We Are and Where We Need to Go. *Frontiers in Oncology / www.frontiersin.org.* 2020;1:1493. doi:10.3389/fonc.2020.01493
129. H. Spiro R. Distant metastasis in adenoid cystic carcinoma of salivary origin. *The American Journal of Surgery.* 1997;174(5):495-498. doi:10.1016/S0002-9610(97)00153-0
130. van der Wal JE, Becking AG, Snow GB, van der Waal I. Distant metastases of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands and the value of diagnostic examinations during follow-up. *Head Neck.* 2002;24(8):779-783. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.10126>
131. Umeda M, Nishimatsu N, Masago H, et al. Tumor-doubling time and onset of pulmonary metastasis from adenoid cystic carcinoma of the salivary gland. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 1999;88(4):473-478. doi:[https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(99\)70065-X](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(99)70065-X)
132. Bhayani MK, Yener M, El-Naggar A, et al. Prognosis and risk factors for early-stage adenoid cystic carcinoma of the major salivary glands. *Cancer.* 2012;118(11):2872-2878. doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.26549>
133. Gil Z, Carlson DL, Gupta A, et al. Patterns and Incidence of Neural Invasion in Patients With Cancers of the Paranasal Sinuses. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;135(2):173-179. doi:10.1001/archoto.2008.525
134. Patel SG, Singh B, Polluri A, et al. Craniofacial surgery for malignant skull base tumors. *Cancer.* 2003;98(6):1179-1187. doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.11630>
135. Mendenhall WM, Morris CG, Amdur RJ, Werning JW, Hinerman RW, Villaret DB. Radiotherapy alone or combined with surgery for adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck.* 2004;26(2):154-162. doi:<https://doi.org/10.1002/hed.10380>

136. Lupinetti AD, Roberts DB, Williams MD, et al. Sinonasal adenoid cystic carcinoma. *Cancer*. 2007;110(12):2726-2731. doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.23096>
137. Pommier P, Liebsch NJ, Deschler DG, et al. Proton Beam Radiation Therapy for Skull Base Adenoid Cystic Carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;132(11):1242-1249. doi:10.1001/archotol.132.11.1242
138. Laurie SA, Ho AL, Fury MG, Sherman E, Pfister DG. Systemic therapy in the management of metastatic or locally recurrent adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2011;12(8):815-824. doi:10.1016/S1470-2045(10)70245-X
139. Amit M, Binenbaum Y, Sharma K, et al. Adenoid cystic carcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses: A meta-analysis. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2013;74(3):118-125. doi:10.1055/s-0033-1347358
140. Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer. *Cancer*. 2009;115(15):3379-3391. doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.24396>
141. Bakst RL, Glastonbury CM, Parvathaneni U, Katabi N, Hu KS, Yom SS. Perineural Invasion and Perineural Tumor Spread in Head and Neck Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2019;103(5):1109-1124. doi:10.1016/j.ijrobp.2018.12.009
142. Peltonen S, Alanne M, Peltonen J. Barriers of the peripheral nerve. *Tissue Barriers*. 2013;1(3):e24956. doi:10.4161/tisb.24956
143. Piña-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C. The Normal and Neoplastic Perineurium: A Review. *Adv Anat Pathol*. 2008;15(3). [https://journals.lww.com/anatomicpathology/Fulltext/2008/05000/The\\_Normal\\_and\\_Neoplastic\\_Perineurium\\_\\_A\\_Review.3.aspx](https://journals.lww.com/anatomicpathology/Fulltext/2008/05000/The_Normal_and_Neoplastic_Perineurium__A_Review.3.aspx)
144. Pummi KP, Aho HJ, Laato MK, Peltonen JTK, Peltonen SA. Tight Junction Proteins and Perineurial Cells in Neurofibromas. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2006;54(1):53-61. doi:10.1369/jhc.5A6671.2005
145. Runkle EA, Mu D. Tight junction proteins: From barrier to tumorigenesis. *Cancer Lett*. 2013;337(1):41-48. doi:<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.05.038>
146. Martin TA, Jiang WG. Loss of tight junction barrier function and its role in cancer metastasis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2009;1788(4):872-891. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.11.005>
147. Chang CF, Hsieh MY, Chen MK, Chou MC. Adenoid cystic carcinoma of head and neck: A retrospective clinical analysis of a single institution. *Auris Nasus Larynx*. 2018;45(4):831-837. doi:10.1016/j.anl.2017.10.009
148. Stelow EB, Bishop JA. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Nasal Cavity, Paranasal Sinuses and Skull Base. *Head Neck Pathol*. 2017;11(1):3-15. doi:10.1007/s12105-017-0791-4
149. Lukšić I, Suton P, Macan D, Dinjar K. Intraoral adenoid cystic carcinoma: is the presence of perineural invasion associated with the size of the primary tumour, local



- extension, surgical margins, distant metastases, and outcome? *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;52(3):214-218. doi:10.1016/j.bjoms.2013.11.009
150. Singh FM, Mak SY, Bonington SC. Patterns of spread of head and neck adenoid cystic carcinoma. *Clin Radiol*. 2015;70(6):644-653. doi:10.1016/j.crad.2015.01.013
  151. Dillon PM, Chakraborty S, Moskaluk CA, Joshi PJ, Thomas CY. Adenoid cystic carcinoma: A review of recent advances, molecular targets, and clinical trials. *Head Neck*. 2016;38(4):620-627. doi:https://doi.org/10.1002/hed.23925
  152. JANG S, PATEL PN, KIMPLE RJ, MCCULLOCH TM. Clinical Outcomes and Prognostic Factors of Adenoid Cystic Carcinoma of the Head and Neck. *Anticancer Res*. 2017;37(6):3045. http://ar.iijournals.org/content/37/6/3045.abstract
  153. Ju J, Li Y, Chai J, et al. The role of perineural invasion on head and neck adenoid cystic carcinoma prognosis: a systematic review and meta-analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016;122(6):691-701. doi:10.1016/j.oooo.2016.08.008
  154. Bakst Richard J. RL; W. Mechanisms of Perineural Invasion. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2016;77(02):96-106. doi:10.1055/s-0036-1571835
  155. Amit M, Na'ara S, Gil Z. Mechanisms of cancer dissemination along nerves. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(6):399-408. doi:10.1038/nrc.2016.38
  156. Suton P, Luksic I. Prognostic value of elective neck dissection in adenoid cystic carcinoma of head and neck: a meta-analysis: A call for randomized trials and international consensus. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2021;50(11):1403-1407. doi:10.1016/j.ijom.2021.01.010
  157. Amit M, Na'ara S, Sharma K, et al. Elective Neck Dissection in Patients With Head and Neck Adenoid Cystic Carcinoma: An International Collaborative Study. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(4):1353-1359. doi:10.1245/s10434-014-4106-7
  158. Terhaard CHJ, Lubsen H, Van der Tweel I, et al. Salivary gland carcinoma: independent prognostic factors for locoregional control, distant metastases, and overall survival: results of the Dutch head and neck oncology cooperative group. *Head Neck*. 2004;26(8):681-693. doi:https://doi.org/10.1002/hed.10400
  159. Balamucki CJ, Amdur RJ, Werning JW, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Am J Otolaryngol*. 2012;33(5):510-518. doi:https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2011.11.006
  160. Min R, Siyi L, Wenjun Y, et al. Salivary gland adenoid cystic carcinoma with cervical lymph node metastasis: a preliminary study of 62 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012;41(8):952-957. doi:10.1016/j.ijom.2012.04.023
  161. Wei WI, Ferlito A, Rinaldo A, et al. Management of the N0 neck—reference or preference. *Oral Oncol*. 2006;42(2):115-122. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2005.04.006
  162. Pitman KT. Rationale for elective neck dissection. *Am J Otolaryngol*. 2000;21(1):31-37. doi:https://doi.org/10.1016/S0196-0709(00)80121-0

163. Cavalieri S, Mariani L, Vander Poorten V, et al. Prognostic nomogram in patients with metastatic adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Eur J Cancer*. 2020;136:35-42. doi:10.1016/j.ejca.2020.05.013
164. Terhaard CHJ, Lubsen H, Van der Tweel I, et al. Salivary gland carcinoma: independent prognostic factors for locoregional control, distant metastases, and overall survival: results of the Dutch head and neck oncology cooperative group. *Head Neck*. 2004;26(8):681-693. doi:https://doi.org/10.1002/hed.10400
165. Gao M, Hao Y, Huang MX, et al. Clinicopathological study of distant metastases of salivary adenoid cystic carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013;42(8):923-928. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.04.006
166. van Weert S, Bloemena E, van der Waal I, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: A single-center analysis of 105 consecutive cases over a 30-year period. *Oral Oncol*. 2013;49(8):824-829. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.05.004
167. Sung MW, Kim KH, Kim JW, et al. Clinicopathologic Predictors and Impact of Distant Metastasis From Adenoid Cystic Carcinoma of the Head and Neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129(11):1193-1197. doi:10.1001/archotol.129.11.1193
168. Girelli L, Locati L, Galeone C, et al. Lung metastasectomy in adenoid cystic cancer: Is it worth it? *Oral Oncol*. 2017;65:114-118. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2016.10.018
169. Laurie SA, Licitra L. Systemic Therapy in the Palliative Management of Advanced Salivary Gland Cancers. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(17):2673-2678. doi:10.1200/JCO.2005.05.3025
170. Tchekmedyian V, Sherman EJ, Dunn L, et al. Phase II Study of Lenvatinib in Patients With Progressive, Recurrent or Metastatic Adenoid Cystic Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(18):1529-1537. doi:10.1200/JCO.18.01859
171. Thomson DJ, Silva P, Denton K, et al. Phase II trial of sorafenib in advanced salivary adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck*. 2015;37(2):182-187. doi:https://doi.org/10.1002/hed.23577
172. Tchekmedyian V, Sherman EJ, Dunn L, et al. Phase II Study of Lenvatinib in Patients With Progressive, Recurrent or Metastatic Adenoid Cystic Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(18):1529-1537. doi:10.1200/JCO.18.01859
173. Ho AL, Dunn L, Sherman EJ, et al. A phase II study of axitinib (AG-013736) in patients with incurable adenoid cystic carcinoma. *Annals of Oncology*. 2016;27(10):1902-1908. doi:https://doi.org/10.1093/annonc/mdw287
174. Sung MW, Kim KH, Kim JW, et al. Clinicopathologic Predictors and Impact of Distant Metastasis From Adenoid Cystic Carcinoma of the Head and Neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129(11):1193-1197. doi:10.1001/archotol.129.11.1193
175. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. In: Yong WH, ed. *Biobanking: Methods and Protocols*. Springer New York; 2019:289-298. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5\_25

176. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1941;47(2):200-202. doi:10.3181/00379727-47-13084P
177. Lin F, Chen Z. Standardization of Diagnostic Immunohistochemistry: Literature Review and Geisinger Experience. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(12):1564-1577. doi:10.5858/arpa.2014-0074-RA
178. Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1991;39(6):741-748. doi:10.1177/39.6.1709656
179. Yong WH, Dry SM, Shabihkhani M. A Practical Approach to Clinical and Research Biobanking. In: Day CE, ed. *Histopathology: Methods and Protocols*. Springer New York; 2014:137-162. doi:10.1007/978-1-4939-1050-2\_8
180. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;138(2):241-256. doi:10.5858/arpa.2013-0953-SA
181. Appin CL, Brat DJ. Biomarker-driven diagnosis of diffuse gliomas. *Mol Aspects Med*. 2015;45:87-96. doi:https://doi.org/10.1016/j.mam.2015.05.002
182. Cregger M, Berger AJ, Rimm DL. Immunohistochemistry and Quantitative Analysis of Protein Expression. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130(7):1026-1030. doi:10.5858/2006-130-1026-IAQAOP
183. Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1991;39(6):741-748. doi:10.1177/39.6.1709656
184. Shi SR, Shi Y, Taylor CR. Antigen Retrieval Immunohistochemistry: Review and Future Prospects in Research and Diagnosis over Two Decades. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2011;59(1):13-32. doi:10.1369/jhc.2010.957191
185. Lin F, Chen Z. Standardization of Diagnostic Immunohistochemistry: Literature Review and Geisinger Experience. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(12):1564-1577. doi:10.5858/arpa.2014-0074-RA
186. Cherif D, Berger R. Fluorescence in situ hybridization and cytogenetics of hemopoietic malignancies: new developments. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1993;35(1):45—47. <http://europepmc.org/abstract/MED/8511041>
187. Adinolfi MC, Crolla JA. Nonisotopic In Situ Hybridization. *Adv Hum Genet*. 1994;22:187-255.
188. Ratan ZA, Zaman S Bin, Mehta V, Haidere MF, Runa NJ, Akter N. Application of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Detection of Genetic Aberration in Medical Science. *Cureus*. 2017;9(6):e1325. doi:10.7759/cureus.1325

189. Decordier I, Kirsch-Volders M. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Micronucleus Test. In: Dhawan A, Bajpayee M, eds. *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*. Humana Press; 2013:237-244. doi:10.1007/978-1-62703-529-3\_12
190. Shakoori AR. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) and Its Applications. In: Bhat TA, Wani AA, eds. *Chromosome Structure and Aberrations*. Springer India; 2017:343-367. doi:10.1007/978-81-322-3673-3\_16
191. Zheng J. Oncogenic chromosomal translocations and human cancer (Review). *Oncol Rep*. 2013;30(5):2011-2019. doi:10.3892/or.2013.2677
192. Nordkvist A, Mark J, Gustafsson H, Bang G, Stenman Gör. Non-random chromosome rearrangements in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Genes Chromosomes Cancer*. 1994;10(2):115-121. doi:https://doi.org/10.1002/gcc.2870100206
193. Persson M, Andrén Y, Mark J, Horlings HM, Persson F, Stenman G. Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast and head and neck. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(44):18740-18744. doi:10.1073/pnas.0909114106
194. Mitani Y, Liu B, Rao PH, et al. Novel MYBL1 Gene Rearrangements with Recurrent MYBL1–NFIB Fusions in Salivary Adenoid Cystic Carcinomas Lacking t(6;9) Translocations. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(3):725-733. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-2867-T
195. Fujii K, Murase T, Beppu S, et al. MYB, MYBL1, MYBL2 and NFIB gene alterations and MYC overexpression in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Histopathology*. 2017;71(5):823-834. doi:https://doi.org/10.1111/his.13281
196. de Almeida-Pinto YD, Costa SF dos S, de Andrade BAB, et al. t(6;9)(MYB-NFIB) in head and neck adenoid cystic carcinoma: A systematic review with meta-analysis. *Oral Dis*. 2019;25(5):1277-1282. doi:https://doi.org/10.1111/odi.12984
197. Gao R, Cao C, Zhang M, et al. *A Unifying Gene Signature for Adenoid Cystic Cancer Identifies Parallel MYB-Dependent and MYB-Independent Therapeutic Targets*. Vol 5.; 2014. www.impactjournals.com/oncotarget/
198. Rettig EM, Talbot Jr CC, Sausen M, et al. Whole-Genome Sequencing of Salivary Gland Adenoid Cystic Carcinoma. *Cancer Prevention Research*. 2016;9(4):265-274. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-15-0316
199. Hall WJ, Bean CW, Pollard M. Transmission of fowl leukosis through chick embryos and young chicks. *Am J Vet Res*. 1941;2(272-279):7.
200. Duesberg PH, Bister K, Moscovici C. Genetic structure of avian myeloblastosis virus, released from transformed myeloblasts as a defective virus particle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1980;77(9):5120-5124. doi:10.1073/pnas.77.9.5120

201. Souza LM, Komaromy MC, Baluda MA. Identification of a proviral genome associated with avian myeloblastic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1980;77(5):3004-3008. doi:10.1073/pnas.77.5.3004
202. Ramsay RG, Gonda TJ. MYB function in normal and cancer cells. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(7):523-534.
203. Mucenski ML, McLain K, Kier AB, et al. A functional c-myb gene is required for normal murine fetal hepatic hematopoiesis. *Cell*. 1991;65(4):677-689. doi:https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90099-K
204. Matsumoto S, Kurimoto T, Taketo MM, Fujii S, Kikuchi A. The WNT/MYB pathway suppresses KIT expression to control the timing of salivary proacinar differentiation and duct formation. *Development*. 2016;143(13):2311-2324. doi:10.1242/dev.134486
205. Quelen C, Lippert E, Struski S, et al. Identification of a transforming MYB-GATA1 fusion gene in acute basophilic leukemia: a new entity in male infants. *Blood*. 2011;117(21):5719-5722. doi:https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-333013
206. Bandopadhyay P, Ramkissoon LA, Jain P, et al. MYB-QKI rearrangements in angiocentric glioma drive tumorigenicity through a tripartite mechanism. *Nat Genet*. 2016;48(3):273-282. doi:10.1038/ng.3500
207. Wagner VP, Bingle CD, Bingle L. MYB-NFIB fusion transcript in adenoid cystic carcinoma: Current state of knowledge and future directions. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2022;176:103745. doi:https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103745
208. Drier Y, Cotton MJ, Williamson KE, et al. An oncogenic MYB feedback loop drives alternate cell fates in adenoid cystic carcinoma. *Nat Genet*. 2016;48(3):265-272. doi:10.1038/ng.3502
209. Xu LH, Zhao F, Yang WW, et al. MYB promotes the growth and metastasis of salivary adenoid cystic carcinoma. *Int J Oncol*. 2019;54(5):1579-1590. doi:10.3892/ijo.2019.4754
210. Andersson MK, Mangiapane G, Nevado PT, et al. ATR is a MYB regulated gene and potential therapeutic target in adenoid cystic carcinoma. *Oncogenesis*. 2020;9(1). doi:10.1038/s41389-020-0194-3
211. Hanna GJ, Bae JE, Lorch JH, et al. Long-term outcomes and clinicogenomic correlates in recurrent, metastatic adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol*. 2020;106:104690. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2020.104690
212. Mitani Y, Liu B, Rao PH, et al. Novel MYBL1 Gene Rearrangements with Recurrent MYBL1–NFIB Fusions in Salivary Adenoid Cystic Carcinomas Lacking t(6;9) Translocations. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(3):725-733. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-2867-T
213. Ferrarotto R, Mitani Y, McGrail DJ, et al. Proteogenomic Analysis of Salivary Adenoid Cystic Carcinomas Defines Molecular Subtypes and Identifies Therapeutic Targets. *Clinical Cancer Research*. 2023;27(3):852-864. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-1192

214. Han J, Zhang C, Gu T, et al. Analysis of clinicopathological characteristics, MYB rearrangement and prognostic factors in salivary adenoid cystic carcinoma. *Oncol Lett.* 2019;17(3):2915-2922. doi:10.3892/ol.2019.9935
215. Togashi Y, Dobashi A, Sakata S, et al. MYB and MYBL1 in adenoid cystic carcinoma: diversity in the mode of genomic rearrangement and transcripts. *Modern Pathology.* 2018;31(6):934-946. doi:10.1038/s41379-018-0008-8
216. McIntyre JB, Ko JJ, Siever J, et al. MYB-NFIB gene fusions identified in archival adenoid cystic carcinoma tissue employing NanoString analysis: An exploratory study. *Diagn Pathol.* 2019;14(1). doi:10.1186/s13000-019-0855-8
217. Liu X, Chen D, Lao X, Liang Y. The value of MYB as a prognostic marker for adenoid cystic carcinoma: Meta-analysis. *Head Neck.* 2019;41(5):1517-1524. doi:10.1002/hed.25597
218. Mandelbaum J, Shestopalov IA, Henderson RE, et al. Zebrafish blastomere screen identifies retinoic acid suppression of MYB in adenoid cystic carcinoma. *Journal of Experimental Medicine.* 2018;215(10):2673-2685. doi:10.1084/jem.20180939
219. Hanna GJ, O'Neill A, Cutler JM, et al. A phase II trial of all-trans retinoic acid (ATRA) in advanced adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol.* 2021;119:105366. doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2021.105366
220. Yusenko M V, Trentmann A, Andersson MK, et al. Monensin, a novel potent MYB inhibitor, suppresses proliferation of acute myeloid leukemia and adenoid cystic carcinoma cells. *Cancer Lett.* 2020;479:61-70. doi:https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.01.039
221. Cross RS, Malaterre J, Davenport AJ, et al. Therapeutic DNA vaccination against colorectal cancer by targeting the MYB oncoprotein. *Clin Transl Immunology.* 2015;4(1). doi:10.1038/cti.2014.29
222. Manea CA, Badiu DC, Ploscaru IC, et al. A review of NTRK fusions in cancer. *Annals of Medicine and Surgery.* 2022;79. doi:10.1016/j.amsu.2022.103893
223. Solomon JP, Benayed R, Hechtman JF, Ladanyi M. Identifying patients with <em>NTRK</em> fusion cancer. *Annals of Oncology.* 2019;30:viii16-viii22. doi:10.1093/annonc/mdz384
224. Okamura R, Boichard A, Kato S, Sicklick JK, Bazhenova L, Kurzrock R. Analysis of NTRK Alterations in Pan-Cancer Adult and Pediatric Malignancies: Implications for NTRK-Targeted Therapeutics. *JCO Precis Oncol.* 2018;(2):1-20. doi:10.1200/PO.18.00183
225. Weier HUG, Rhein AP, Shadravan F, Collins C, Polikoff D. Rapid physical mapping of the human trk protooncogene (NTRK1) to human chromosome 1q21–q22 by P1 clone selection, fluorescence in situ hybridization (FISH), and computer-assisted microscopy. *Genomics.* 1995;26(2):390-393. doi:https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80226-C
226. Nakagawara A, Liu XG, Ikegaki N, et al. Cloning and chromosomal localization of the human TRK-B tyrosine kinase receptor gene (NTRK2). *Genomics.* 1995;25(2):538-546. doi:https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80055-Q

227. Valent A, Danglot G, Bernheim A. Mapping of the Tyrosine Kinase Receptors trKA(NTRK1), trkB (NTRK2) and trkC(NTRK3) to Human Chromosomes 1q22, 9q22 and 15q25 by Fluorescence in situ Hybridization. *European Journal of Human Genetics*. 1997;5(2):102-104. doi:10.1007/BF03405886
228. Li H, Yan S, Liu Y, et al. Analysis of NTRK mutation and clinicopathologic factors in lung cancer patients in northeast China. *Int J Biol Markers*. 2020;35(3):36-40. doi:10.1177/1724600820949883
229. Lassen U. How I treat <em>NTRK</em> gene fusion-positive cancers. *ESMO Open*. 2019;4. doi:10.1136/esmoopen-2019-000612
230. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic <em>NTRK</em> fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1&#x2013;2 trials. *Lancet Oncol*. 2020;21(2):271-282. doi:10.1016/S1470-2045(19)30691-6
231. Ivanov S V, Panaccione A, Brown B, et al. TrkC signaling is activated in adenoid cystic carcinoma and requires NT-3 to stimulate invasive behavior. *Oncogene*. 2013;32(32):3698-3710. doi:10.1038/onc.2012.377
232. Le X, Baik C, Bauman J, et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. *Oncologist*. Published online May 10, 2022:oyac080. doi:10.1093/oncolo/oyac080
233. Assunção SA, Nascimento VL, de Aguiar Brito BH, et al. NTRK MUTATION IN ADENOID CYSTIC CARCINOMA: A RARE TYPE OF TRIPLE NEGATIVE. *Mastology*. Published online 2021. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:246517417>
234. Wu G, Diaz AK, Paugh BS, et al. The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma. *Nat Genet*. 2014;46(5):444-450. doi:10.1038/ng.2938
235. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1469-1472. doi:10.1038/nm.3352
236. Shah N, Lankerovich M, Lee H, Yoon JG, Schroeder B, Foltz G. Exploration of the gene fusion landscape of glioblastoma using transcriptome sequencing and copy number data. *BMC Genomics*. 2013;14(1):818. doi:10.1186/1471-2164-14-818
237. Ross JS, Wang K, Gay L, et al. New Routes to Targeted Therapy of Intrahepatic Cholangiocarcinomas Revealed by Next-Generation Sequencing. *Oncologist*. 2014;19(3):235-242. doi:10.1634/theoncologist.2013-0352
238. Delaney P. HER-2 : The Making of Herceptin, a Revolutionary Treatment for Breast Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(15):1329-1330. doi:10.1093/jnci/91.15.1329
239. Shrestha P, Huang JW, Tsujr T, et al. Rare expression of the c-erbB-2 oncoprotein in salivary gland tumors: an immunohistochemical study. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1992;21(10):477-480. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1992.tb00978.x>

240. Fonseca I, Rosa JC, Félix A, Therkildsen MH, Mandel U, Soares J. Simple mucin-type carbohydrate antigens (T, Tn and sialosyl-Tn) in mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. *Histopathology*. 1994;25. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:24779141>
241. Nasu K, Hayata T, Takai N, et al. Endometriosis: Immunohistochemical study of c-erbB-2 protein expression in endometriosis. *Human Reproduction*. 1995;10(4):935-937. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a136065
242. Kernohan NM, Blessing K, King G, Corbett IP, Miller ID. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in salivary gland tumours: An immunohistochemical study. *J Pathol*. 1991;163(1):77-80. doi:<https://doi.org/10.1002/path.1711630113>
243. Cho KJ, Lee SS, Lee YS. Proliferating cell nuclear antigen and c-erbB-2 oncoprotein expression in adenoid cystic carcinomas of the salivary glands. *Head Neck*. 1999;21(5):414-419. doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0347\(199908\)21:5<414::AID-HED6>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0347(199908)21:5<414::AID-HED6>3.0.CO;2-M)
244. Giannoni C, El-Naggar AK, Ordonez NG, et al. c-erbB-2/neu Oncogene and Ki-67 Analysis in the assessment of palatal salivary gland neoplasms. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 1995;112(3):391-398. doi:<https://doi.org/10.1016/S0194-59989570272-5>
245. Kärjä V, Syrjänen S, Kataja V, Syrjänen K. c-erbB-2 Oncogene Expression in Salivary Gland Tumours. *ORL*. 2010;56(4):206-212. doi:10.1159/000276657
246. Shintani S, Funayama T, Yoshihama Y, et al. Expression of c-erbB family gene products in adenoid cystic carcinoma of salivary glands: an immunohistochemical study. *Anticancer Res*. 1995;15(6B):2623-2626. <http://europepmc.org/abstract/MED/8669836>
247. Gibbons MD, Manne U, Carroll WR, Peters GE, Weiss HL, Grizzle WE. Molecular Differences in Mucoepidermoid Carcinoma and Adenoid Cystic Carcinoma of the Major Salivary Glands. *Laryngoscope*. 2001;111(8):1373-1378. doi:<https://doi.org/10.1097/00005537-200108000-00011>
248. Salehinejad J, Joushan B, Jafarian AH, Omid AA. *Original Article Immunohistochemical Study of HER2/Neu Overexpression in Adenoid Cystic Carcinoma of Salivary Glands*. Vol 86.; 2011.
249. Dori S, Vered M, David R, Buchner A. HER2/neu expression in adenoid cystic carcinoma of salivary gland origin: an immunohistochemical study. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2002;31(8):463-467. doi:<https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2002.00017.x>
250. Saeed Z, Zafar N, Ara N, et al. IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-2 (HER-2) IN COMMON SALIVARY GLAND CARCINOMAS. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*. 2023;35(2). doi:10.55519/jamc-02-11647
251. Egebjerg K, Dupont Harwood C, Claire Woller N, et al. HER2 Positivity in Histological Subtypes of Salivary Gland Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Article*. 2021;11:1. doi:10.3389/fonc.2021.693394



252. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018;127(2):175-186. doi:10.1007/s00412-018-0659-8
253. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*. 1983;31(1):13-20. doi:https://doi.org/10.1002/ijc.2910310104
254. Yang C, Zhang J, Ding M, et al. Ki67 targeted strategies for cancer therapy. *Clinical and Translational Oncology*. 2018;20(5):570-575. doi:10.1007/s12094-017-1774-3
255. Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol*. 2006;206(3):624-635. doi:https://doi.org/10.1002/jcp.20494
256. Philips P, Kooby DA, Maithel S, et al. Grading Using Ki-67 Index and Mitotic Rate Increases the Prognostic Accuracy of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Pancreas*. 2018;47(3).  
https://journals.lww.com/pancreasjournal/fulltext/2018/03000/grading\_using\_ki\_67\_index\_and\_mitotic\_rate.11.aspx
257. Hu XX, Yang ZX, Liang HY, et al. Whole-tumor MRI histogram analyses of hepatocellular carcinoma: Correlations with Ki-67 labeling index. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2017;46(2):383-392. doi:https://doi.org/10.1002/jmri.25555
258. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;153(3):477-491. doi:10.1007/s10549-015-3559-0
259. Luo Y, Ren F, Liu Y, et al. *Review Article Clinicopathological and Prognostic Significance of High Ki-67 Labeling Index in Hepatocellular Carcinoma Patients: A Meta-Analysis*. Vol 8.; 2015. www.ijcem.com/
260. Pezzilli R, Partelli S, Cannizzaro R, et al. Ki-67 prognostic and therapeutic decision driven marker for pancreatic neuroendocrine neoplasms (PNEs): A systematic review. *Adv Med Sci*. 2016;61(1):147-153.  
doi:https://doi.org/10.1016/j.advms.2015.10.001
261. Abdulhussain MM. The Immunohistochemical Expression Ki-67 In Adenoid Cystic Carcinoma of The Salivary Glands. *J Dent Treat Oral Care*. 2018;3(1):1-5. Accessed May 5, 2021. www.scienceinquest.com
262. Norberg-Spaak L, Dardick I, Ledin T. Adenoid cystic carcinoma: Use of cell proliferation, BCL-2 expression, histologic grade, and clinical stage as predictors of clinical outcome. *Head Neck*. 2000;22(5):489-497. doi:https://doi.org/10.1002/1097-0347(200008)22:5<489::AID-HED8>3.0.CO;2-X
263. Bussari S, Jeergal P, Sarode M, et al. Evaluation of Proliferative Marker Ki-67 in Adenoid Cystic Carcinoma: A Retrospective Study. *Journal of Contemporary Dental Practice*. 2019;20:211-215. doi:10.5005/jp-journals-10024-2499
264. Park S, Nam SJ, Keam B, et al. VEGF and Ki-67 Overexpression in Predicting Poor Overall Survival in Adenoid Cystic Carcinoma. *Cancer Res Treat*. 2015;48(2):518-526. doi:10.4143/crt.2015.093

265. Nordgård S, Franzén G, Boysen M, Halvorsen TB. Ki-67 As a Prognostic Marker in Adenoid Cystic Carcinoma Assessed With the Monoclonal Antibody MIB1 in Paraffin Sections. *Laryngoscope*. 1997;107(4):531-536. doi:https://doi.org/10.1097/00005537-199704000-00019
266. Moskaluk CA. Adenoid cystic carcinoma: clinical and molecular features. *Head Neck Pathol*. 2013;7(1):17-22. doi:10.1007/s12105-013-0426-3
267. Huang Z, Pan J, Chen J, et al. Multicentre clinicopathological study of adenoid cystic carcinoma: A report of 296 cases. *Cancer Med*. 2021;10(3):1120-1127. doi:10.1002/cam4.3707
268. Du F, Zhou CX, Gao Y. Myoepithelial differentiation in cribriform, tubular and solid pattern of adenoid cystic carcinoma: A potential involvement in histological grading and prognosis. *Ann Diagn Pathol*. 2016;22:12-17. doi:10.1016/J.ANNDIAGPATH.2016.03.001
269. Sahara S, Herzog AE, Nör JE. *Systemic Therapies for Salivary Gland Adenoid Cystic Carcinoma*. Vol 11.; 2021. www.ajcr.us/
270. Liu J, Shao C, Tan ML, Mu D, Ferris RL, Ha PK. Molecular biology of adenoid cystic carcinoma. Myers JN, ed. *Head Neck*. 2012;34(11):1665-1677. doi:10.1002/hed.21849
271. Alotaibi AM. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 ( HER2/neu ) in Salivary Gland Carcinomas: A Review of Literature. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2015;9(2):ZE04-ZE08. doi:10.7860/JCDR/2015/11289.5572
272. Atallah S, Marc M, Schernberg A, et al. Beyond Surgical Treatment in Adenoid Cystic Carcinoma of the Head and Neck: A Literature Review. *Cancer Manag Res*. 2022;14:1879-1890. doi:10.2147/CMAR.S355663
273. Zito Marino F, Pagliuca F, Ronchi A, et al. NTRK Fusions, from the Diagnostic Algorithm to Innovative Treatment in the Era of Precision Medicine. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10):3718. doi:10.3390/ijms21103718
274. Csanyi-Bastien M, Lanic MD, Beaussire L, et al. Pan-TRK Immunohistochemistry Is Highly Correlated With NTRK3 Gene Rearrangements in Salivary Gland Tumors. *American Journal of Surgical Pathology*. 2021;45(11):1487-1498. doi:10.1097/PAS.0000000000001718
275. Panagopoulos I, Heim S. Interstitial Deletions Generating Fusion Genes. *Cancer Genomics Proteomics*. 2021;18(3):167-196. doi:10.21873/cgp.20251
276. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93-99. doi:https://doi.org/10.3322/caac.21388
277. Zanoni DK, Patel SG, Shah JP. Changes in the 8th Edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) Staging of Head and Neck Cancer: Rationale and Implications. *Curr Oncol Rep*. 2019;21(6):52. doi:10.1007/s11912-019-0799-x

278. Sun T, Akalin A, Dresser K, Fischer AH, Zuo T. The Utility of MYB Immunohistochemistry (IHC) in Fine Needle Aspiration (FNA) Diagnosis of Adenoid Cystic Carcinoma (AdCC). *Head Neck Pathol.* 2021;15(2):389-394. doi:10.1007/s12105-020-01202-7
279. Chlipala EA, Bendzinski CM, Dorner C, et al. An Image Analysis Solution For Quantification and Determination of Immunohistochemistry Staining Reproducibility. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology.* 2020;28(6):428-436. doi:10.1097/PAI.0000000000000776
280. Poling JS, Yonescu R, Subhawong AP, et al. MYB Labeling by Immunohistochemistry Is More Sensitive and Specific for Breast Adenoid Cystic Carcinoma than MYB Labeling by FISH. *American Journal of Surgical Pathology.* 2017;41(7):973-979. doi:10.1097/PAS.0000000000000878
281. Wesola M, Jeleń M. A comparison of IHC and FISH cytogenetic methods in the evaluation of HER2 status in breast cancer. *Advances in Clinical and Experimental Medicine.* 2015;24(5):899-904. doi:10.17219/acem/27923
282. Kovács A, Stenman G. HER2-testing in 538 consecutive breast cancer cases using FISH and immunohistochemistry. *Pathol Res Pract.* 2010;206(1):39-42. doi:https://doi.org/10.1016/j.prp.2009.08.003
283. Bussari S, Jeergal P, Sarode M, Namazi NAK, Kulkarni P, Deshmukh A. Evaluation of Proliferative Marker Ki-67 in Adenoid Cystic Carcinoma: A Retrospective Study. *Journal of Contemporary Dental Practice.* 2019;20:211-215. doi:10.5005/jp-journals-10024-2499
284. Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-Trk Immunohistochemistry Is an Efficient and Reliable Screen for the Detection of NTRK Fusions. *American Journal of Surgical Pathology.* 2017;41(11):1547-1551. doi:10.1097/PAS.0000000000000911
285. Brčić I, Theresa •, Godschachner M, et al. Broadening the spectrum of NTRK rearranged mesenchymal tumors and usefulness of pan-TRK immunohistochemistry for identification of NTRK fusions. *Modern Pathology.* 2021;34:396-407. doi:10.1038/s41379-020-00657-x
286. Dimaggio C. SAS for Epidemiologists. In: ; 2013:91-98. doi:10.1007/978-1-4614-4854-9\_7
287. Patil Okaly G, Panwar D, Lingappa K, et al. FISH and HER2/neu equivocal immunohistochemistry in breast carcinoma. *Indian J Cancer.* 2019;56(2):119. doi:10.4103/ijc.IJC\_333\_18
288. Mannelli G, Cecconi L, Fasolati M, Santoro R, Franchi A, Gallo O. Parotid adenoid cystic carcinoma: Retrospective single institute analysis. *Am J Otolaryngol.* 2017;38(4):394-400. doi:10.1016/j.amjoto.2017.03.008
289. Dubal PM, Unsal AA, Chung SY, et al. Population-based trends in outcomes in adenoid cystic carcinoma of the oral cavity. *Am J Otolaryngol.* 2016;37(5):398-406. doi:10.1016/j.amjoto.2016.06.001

290. Ouyang DQ, Liang LZ, Zheng GS, et al. Risk factors and prognosis for salivary gland adenoid cystic carcinoma in southern china A 25-year retrospective study. Published online 2017. doi:10.1097/MD.0000000000005964
291. Ganly I, Amit M, Kou L, et al. Nomograms for predicting survival and recurrence in patients with adenoid cystic carcinoma. An international collaborative study. *Eur J Cancer*. 2015;51(18):2768-2776. doi:10.1016/j.ejca.2015.09.004
292. Amit M, Binenbaum Y, Sharma K, et al. Analysis of failure in patients with adenoid cystic carcinoma of the head and neck. An international collaborative study. *Head Neck*. 2014;36(7):998-1004. doi:10.1002/hed.23405
293. Shankar Yaga U, Gollamudi N, Kumar Mengji A, et al. Adenoid cystic carcinoma of the palate: case report and review of literature. *Pan African Medical Journal-ISSN*. 2016;24:1937-8688. doi:10.11604/pamj.2016.24.106.8596
294. Morita N, Murase T, Ueda K, et al. Pathological evaluation of tumor grade for salivary adenoid cystic carcinoma: A proposal of an objective grading system. *Cancer Sci*. 2021;112(3):1184-1195. doi:10.1111/cas.14790
295. Martínez-Rodríguez N, Leco-Berrocal I, Rubio-Alonso L, Arias-Irimia O, Martínez-González JM. Epidemiology and treatment of adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands: A meta-analytic study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(7). doi:10.4317/medoral.17200
296. Balakrishnan MC, Bhatia A, Lyngdoh BS, Harris C, Lynser D, Kalita P. High-grade transformation of adenoid cystic carcinoma of parotid gland with isolated intratemporal facial nerve involvement: a case report and literature review. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2022;34(1):39. doi:10.1186/s43046-022-00144-1
297. Oplatek A, Ozer E, Agrawal A, Bapna S, Schuller DE. Patterns of recurrence and survival of head and neck adenoid cystic carcinoma after definitive resection. *Laryngoscope*. 2010;120(1):65-70. doi:10.1002/lary.20684
298. Xiao R, Sethi R, Feng AL, Fontanarosa JB, Deschler DG. The role of elective neck dissection in patients with adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope*. 2019;129(9):2094-2104. doi:10.1002/lary.27814
299. Ishida E, Ogawa T, Rokugo M, et al. Management of adenoid cystic carcinoma of the head and neck: a single-institute study with over 25-year follow-up. *Head Face Med*. 2020;16(1):14. doi:10.1186/s13005-020-00226-2
300. Spiro RH, Huvos AG, Strong EW. Adenoid cystic carcinoma of salivary origin. *The American Journal of Surgery*. 1974;128(4):512-520. doi:10.1016/0002-9610(74)90265-7
301. Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME, White RA. *Histologic Grading of Adenoid Cystic Carcinoma of the Salivary Glands*. Vol 54.; 1984.
302. Broz M, Steiner P, Salzman R, Hauer L, Starek I. The incidence of MYB gene breaks in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands and its prognostic significance. 2016;160(3):417-422. doi:10.5507/bp.2016.027

303. West RB, Kong C, Clarke N, et al. MYB Expression and Translocation in Adenoid Cystic Carcinomas and Other Salivary Gland Tumors With Clinicopathologic Correlation. *American Journal of Surgical Pathology*. 2011;35(1):92-99. doi:10.1097/PAS.0b013e3182002777
304. Mitani Y, Li J, Rao PH, et al. Comprehensive Analysis of the *MYB-NFIB* Gene Fusion in Salivary Adenoid Cystic Carcinoma: Incidence, Variability, and Clinicopathologic Significance. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(19):4722-4731. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-0463
305. Rettig EM, Tan M, Ling S, et al. MYB rearrangement and clinicopathologic characteristics in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Laryngoscope*. 2015;125(9):E292-E299. doi:10.1002/lary.25356
306. Hibar DP, Demetri GD, Peters S, et al. Real-world survival outcomes in patients with locally advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumors receiving standard-of-care therapies other than targeted TRK inhibitors. Published online 2022. doi:10.1371/journal.pone.0270571
307. Gatalica Z, Xiu J, Swensen • Jeffrey, Vranic • Semir. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Modern Pathology*. 2019;32:147-153. doi:10.1038/s41379-018-0118-3
308. Jiang T, Wang G, Liu Y, et al. Development of small-molecule tropomyosin receptor kinase (TRK) inhibitors for NTRK fusion cancers. *Acta Pharm Sin B*. 2021;11(2):355-372. doi:10.1016/j.apsb.2020.05.004
309. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion–Positive Cancers in Adults and Children . *New England Journal of Medicine*. 2018;378(8):731-739. doi:10.1056/nejmoa1714448