



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ-ΠΡΩΚΤΟΥ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Συσχέτιση της έκφρασης της πρωτεΐνης CDX2 με κλινικούς και ιστοπαθολογικούς χαρακτήρες του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου.

Δάβρης Δημήτριος
Ειδικευόμενος Χειρουργικής

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Ζαχαρόυλης Δημήτριος Επιβλέπων Καθηγητής
2. Πουλτσίδα Αντιγόνη Μέλος Τριμελούς Επιτροπής
3. Συμεωνίδης Δημήτριος Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Λάρισα, 11/10/2023



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ-ΠΡΩΚΤΟΥ**



The correlation between the expression of the protein CDX2 and the clinical and histopathological characteristics of adenocarcinoma of the large intestine.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	5
Abstract	6
Εισαγωγή	7
1.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1.1 Επιδημιολογία του καρκίνου παχέος εντέρου	9
1.2 Κατάταξη και σταδιοποίηση της νόσου	9
1.3 Τύποι ορθοκολικού καρκίνου	10
1.4 Μοριακά μονοπάτια ογκογένεσης στον ορθοκολικό καρκίνο	10
1.4.1 Η εξαλλαγή του αδενώματος σε κακοήθεια	10
1.4.1.1 Χρωμοσωμική αστάθεια (CIN)	12
1.4.1.1.1 KRAS	12
1.4.1.1.2 TP53	13
1.4.1.2 Μικροδορυφορική αστάθεια (MSI)	13
1.4.1.3 Υπερμεθυλίωση νησίδων CpG (CIMP)	14
1.5 Θεραπευτική αντιμετώπιση	15
1.5.1 Χειρουργική αντιμετώπιση	15
1.5.2 Χημειοθεραπεία	16
1.5.3 Ακτινοθεραπεία	20
1.5.4 Διαφορές στην αντιμετώπιση βάση μοριακού προφίλ και θέσεως	21
1.6 Μοριακοί υπότυποι στον καρκίνο του παχέος εντέρου	22
1.7 Βιοδείκτες και μεταλλάξεις στον καρκίνο του παχέος εντέρου	27
1.7.1 Μεταλλάξεις των KRAS/NRAS	27
1.7.2 Μεταλλάξεις BRAF	27
1.7.3 Γονίδια DNA MMR/MSI	27
1.7.4 CIMP status	28
1.7.4.1 SEPT9	28
1.7.4.2 CDKN2A-MGMT	28
1.7.5 Μεταλλάξεις EGFR	29
1.7.6 Μεταλλάξεις του PIK3CA	29

1.7.7 MicroRNAs	29
1.7.8 Βιοδείκτες βιολογικών υλικών	31
1.7.8.1 Circulating tumor cells-CTC	31
1.7.8.2 Cell free DNA-cfDNA	31
1.8 CDX2	31
1.8.1 Δομή και λειτουργία στο φυσιολογικό κύτταρο	31
1.8.1.1 CDX2 και κυτταρικός φραγμός	32
1.8.1.2 CDX2 και κυτταρική φλεγμονή	32
1.8.2 Ο ρόλος του CDX2 στον καρκίνο	34
1.8.2.1 CDX2 στον καρκίνο οισοφάγου	34
1.8.2.2 CDX2 στον γαστρικό καρκίνο	34
1.8.2.3 CDX2 στον καρκίνο χοληφόρων και παγκρέατος	35
1.8.2.4 CDX2 στον καρκίνο ουρογεννητικού συστήματος	35
1.8.3 Ο ρόλος του CDX2 στον καρκίνο του παχέος εντέρου	36
1.8.3.1 Ο ρόλος του CDX2 στο μονοπάτι EMT	37
1.8.3.1.1 CDX2 και Snail/ β-catenin	37
1.8.3.2 CDX2 και MSI/CIMP status	38
1.8.3.3 CDX2 ως βιοδείκτης πρόγνωσης στον καρκίνο του παχέος εντέρου	38
2.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
2.1 Σκοπός	41
2.2 Υλικό και μεθοδολογία	41
2.2.1 Δείγματα ιστού	41
2.2.2 Ανοσοϊστοχημεία	45
2.2.3 Στατιστική ανάλυση	49
2.3 Αποτελέσματα	51
2.4 Συζήτηση	68
2.5 Βιβλιογραφία	70

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΣΚΟΠΟΣ Η πρωτεΐνη CDX2 εκφράζεται στον πυρήνα των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων και συμμετέχει στην κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση, οι αλλαγές στην έκφραση της κυρίως η μείωση αυτής επηρεάζει μονοπάτια καρκινογένεσης και οδηγεί στην εμφάνιση κυρίως ορθοκολικού καρκίνου. Σε αυτή την μελέτη εξετάζεται η συσχέτιση της έκφρασης της CDX2 με παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, ο βαθμός διαφοροποίησης, το στάδιο του όγκου, η λεμφαδενική επέκταση της νόσου και η εντόπιση του.

ΜΕΘΟΔΟΣ Έγινε συλλογή 123 δειγμάτων ορθοκολικού καρκίνου, μετά την προετοιμασία κύβων παραφίνης η έκφραση της CDX2 ελέγχθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας σε συνδυασμό με λογισμικό ψηφιακής ανάλυσης εικόνας (DIA) για την ποσοτικοποίηση αυτής.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ Η μειωμένη έκφραση της CDX2 σχετίζεται με όγκους που εντοπίζονται στο δεξιό κόλον ($p\text{-value}=0.043$). Οι όγκοι παχέος εντέρου και ορθού με χαμηλότερο βαθμό διαφοροποίησης εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με μειωμένα επίπεδα CDX2 ($p\text{-value}<0.001$).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ Η απορρύθμιση της έκφρασης της CDX2 σχετίζεται με συγκεκριμένα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά όπως η εντόπιση και ο βαθμός διαφοροποίησης. Η CDX2 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πιθανός μελλοντικός βιοδείκτης για την αναγνώριση της βιολογικής συμπεριφοράς του καρκίνου του παχέος εντέρου και να συμβάλλει στην καλύτερη αντιμετώπιση της νόσου. Περισσότερες μελέτες χρειάζονται με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων καθώς και η συσχέτιση της CDX2 και με άλλους παράγοντες για την ανάδειξη του ρόλου της στην καρκινογένεση και στην αντιμετώπιση του ορθοκολικού καρκίνου.

ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ ορθοκολικός καρκίνος, CDX2, ανοσοϊστοχημεία

ABSTRACT

PURPOSE Caudal-type homeobox transcription factor 2 (CDX2) is expressed in the nucleus of the intestinal epithelial cells and participates in cell proliferation and differentiation, changes in the expression of CDX2, especially the decreased expression, affects carcinogenesis pathways and leads to colorectal cancer. This study examines the expression of CDX2 in correlation with factors such as age, gender, grade of differentiation, tumor stage, lymph node involvement, and the site of the tumor in the colon.

METHOD After collecting tissue samples from 123 cases of colorectal cancer, paraffin tissue blocks were prepared, and the expression of CDX2 was assayed by immunochemistry in combination with digital image analysis (DIA) to quantify its expression.

RESULTS The decreased expression of CDX2 is related to tumors that are located in the right colon (p-value=0.043). Colorectal tumors with a low grade of differentiation are strongly related to lower levels of CDX2 (p-value<0.001).

CONCLUSION The downregulation of CDX2's expression is connected to specific clinical and histopathological characteristics such as the location and tumor grade of differentiation. The protein CDX2 may be used as a future biomarker for recognizing tumor behavior of colorectal cancer and contributing to the more sufficient treatment of the disease. More studies are needed with larger samples, as well as the correlation of CDX2 expression with other factors to clarify its role in carcinogenesis and colorectal cancer treatment.

KEYWORDS colorectal cancer, CDX2, immunochemistry

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ορθοκολικός καρκίνος είναι μία από τις πιο συχνές κακοήθειες στον δυτικό κόσμο και η δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου σχετιζόμενη με τον καρκίνο. Η ανάπτυξη του καρκίνου αποτελεί μια σταδιακή εξαλλαγή του φυσιολογικού κυττάρου σε καρκινικό κυρίως μέσω της επίδρασης μεταλλάξεων σε ογκοκατασταλτικά και ογκογενετικά γονίδια με αποτέλεσμα την τροποποίηση της λειτουργίας τους. Τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν την δυνατότητα μέσω ενεργοποίησης ή αδρανοποίησης σηματοδοτικών μονοπατιών να αποφεύγουν την κυτταρική απόπτωση, να εμφανίζουν έντονη κυτταρική ανάπτυξη καθώς και να αποκτούν μεταστατική και διηθητική συμπεριφορά. Διάφοροι βιοδείκτες ειδικοί για το εντερικό επιθήλιο χρησιμοποιούνται για την ανάδειξη της βιολογικής συμπεριφοράς του ορθοκολικού καρκίνου με στόχο την καλύτερη αντιμετώπιση του.

Η πρωτεΐνη CDX2, η οποία εκφράζεται στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου, αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα που συμμετέχει στην εμβρυολογική ανάπτυξη και διαφοροποίηση των εντερικών κυττάρων. Η απορρύθμιση της έκφρασης της δρα σε σηματοδοτικά μονοπάτια που επηρεάζουν την ανάπτυξη, διαφοροποίηση και μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων. Η πρωτεΐνη CDX2 είναι χαρακτηριστική για τους όγκους του παχέως εντέρου και του ορθού, όμως εκφράζεται και σε άλλες μορφές καρκίνου με εντόπιση στον πνεύμονα, τα χοληφόρα, τις ωοθήκες και το πάγκρεας. Σύμφωνα με μελέτες φαίνεται να έχει ογκοκατασταλτική δράση, ενώ η μειωμένη έκφραση της φαίνεται να συμμετέχει στην καρκινογένεση. Ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι η μείωση της έκφρασης της σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο νόσου, χαμηλότερο βαθμό διαφοροποίησης και εξαρτάται από την θέση του όγκου, ενώ άλλες δεν ανέδειξαν κάποια συσχέτιση.

Η έκφραση της CDX2 φαίνεται να σχετίζεται με ορισμένα κλινικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά του ορθοκολικού καρκίνου και σε αυτή την μελέτη μετρήθηκαν τα επίπεδα έκφρασης της σε δείγματα ορθοκολικού καρκίνου και η συσχέτιση αυτών με χαρακτηριστικά όπως η ηλικία, το φύλο, η εντόπιση του όγκου, το στάδιο της νόσου, η λεμφαδενική επέκταση της νόσου και ο βαθμός διαφοροποίησης του όγκου.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Επιδημιολογία του καρκίνου παχέος εντέρου

Ο καρκίνος αποτελεί την δεύτερη αιτία θανάτου παγκοσμίως. Ο ορθοκολικός καρκίνος είναι ο τρίτος πιο συχνός καρκίνος σε παγκόσμιο επίπεδο και αποτελεί σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνησιμότητας. Περισσότερα από 1.9 εκατομμύρια νέα περιστατικά και 930 χιλιάδες θανάτους από ορθοκολικό καρκίνο καταγράφηκαν το 2020 παγκοσμίως. Υψηλότερη επίπτωση της νόσου παρατηρήθηκε στην Ευρώπη και στην Αυστραλία, ενώ αντίστοιχα ποσοστά θνητότητας παρατηρήθηκαν στην ανατολική Ευρώπη. Στην Ελλάδα ο καρκίνος παχέος εντέρου και ορθού αποτελεί τον 4^ο πιο συχνό καρκίνο στους άνδρες ενώ τον 2^ο στις γυναίκες.(1,2)

1.2 Κατάταξη και Σταδιοποίηση της νόσου

Η σταδιοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού γίνεται σύμφωνα με το σύστημα TNM κατά την American Joint Committee on Cancer(AJCC), όπου το <<T>> σημαίνει τοπική επέκταση του όγκου, το <<N>> λεμφαδενική διήθηση και το <<M>> απομακρυσμένες μεταστάσεις. Το σύστημα TNM αναθεωρείται συνεχώς και η πλέον ανανεωμένη έκδοση είναι η 8^η. Συγκριτικά με την προηγούμενη έκδοση παρατηρούνται διαφορές στο στάδιο κατά <<M>>, όπου το M1(απομακρυσμένες μεταστάσεις) υποκατηγοριοποιείται σε M1a(μεταστάσεις σε ένα όργανο χωρίς περιτοναϊκές εμφυτεύσεις), σε M1b(μεταστάσεις σε περισσότερα όργανα χωρίς περιτοναϊκές εμφυτεύσεις) και τέλος M1c(περιτοναϊκές εμφυτεύσεις με ή χωρίς μεταστάσεις σε άλλα όργανα)[3]. Οι διαφορές παρουσιάζονται στον [Πίνακα 1]. Η αναθεώρηση της κατάταξης TNM με την εισαγωγή νέων παραμέτρων όπως είναι το στάδιο M1c, ο δείκτης της μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI) και οι μεταλλάξεις των γονιδίων BRAF,KRAS,NRAS αυξάνει την πολυπλοκότητα της με στόχο την βελτίωση της πρόγνωσης και την ορθότερη σταδιοποίηση των ασθενών που πάσχουν από ορθοκολικό καρκίνο.(4)

Colorectal cancer tumor-node-metastasis staging American Joint Committee on Cancer 7th and 8th editions

Stage	7 th edition			Stage	8 th edition		
	T	N	M		T	N	M
0	Tis	N0	M0	0	Tis	N0	M0
I	T1-2	N0	M0	I	T1-2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0	IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0	IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0	IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-2	N1/N1c	M0	IIIA	T1-2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0		T1	N2a	M0
IIIB	T3-4a	N1/N1c	M0	IIIB	T3-4a	N1/N1c	M0
	T2-3	N2a	M0		T2-3	N2a	M0
	T1-2	N2b	M0		T1-2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0	IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-4a	N2b	M0		T3-4a	N2b	M0
	T4b	N1-2	M0		T4b	N1-2	M0
IVA	Any T	Any N	M1a	IVA	Any T	Any N	M1a
IVB	Any T	Any N	M1b	IVB	Any T	Any N	M1b
				IVC	Any T	Any N	M1c

1.3 Τύποι ορθοκολικού καρκίνου

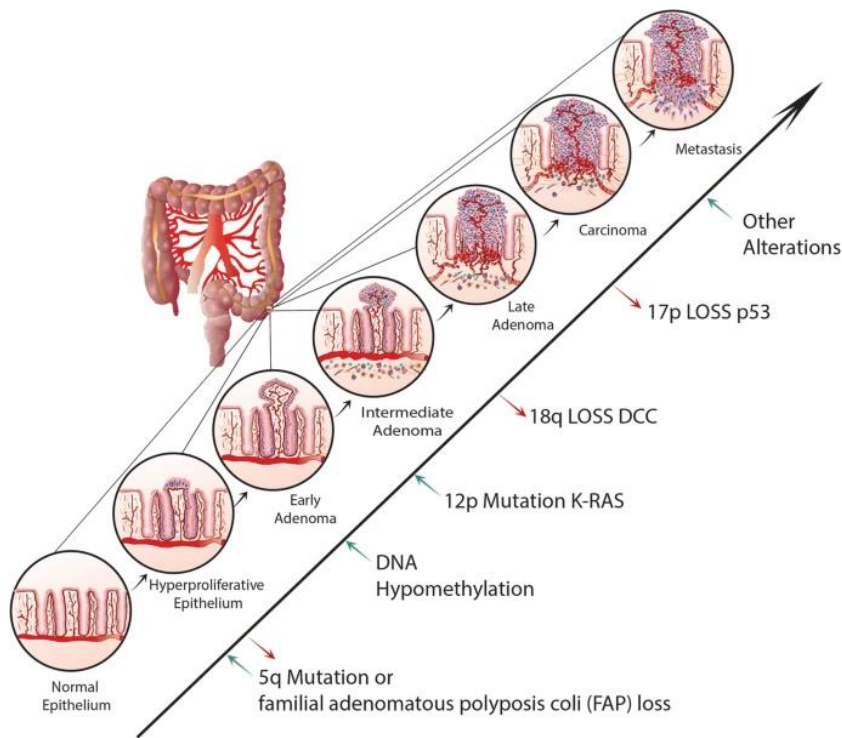
Η πιο συχνή μορφή καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού είναι το αδενοκαρκίνωμα σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90%. Άλλες μορφές περιλαμβάνουν καρκίνο από νευροενδοκρινή ή πλακώδη ή αδеноπλακώδη κύτταρα και ο αδιαφοροποίητος τύπος. Αναγνωρίζονται μορφές όπως το βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα και το αδενοκαρκίνωμα από signet ring cells.(5) Ο καρκίνος του παχέος εντέρου διαχωρίζεται σε σποραδικό και κληρονομικό. Εκτιμάται ότι η κληρονομική μορφή πλησιάζει το 15-30%. Τα πιο κοινά σύνδρομα κληρονομικής μορφής καρκίνου είναι το σύνδρομο οικογενούς πολυποδίασης (FAP) και ο κληρονομικός μη πολυποειδής ορθοκολικός καρκίνος (HNPCC).(6)

1.4 Μοριακά μονοπάτια ογκογένεσης στον ορθοκολικό καρκίνο

1.4.1 Η εξαλλαγή του αδενώματος σε κακοήθεια.

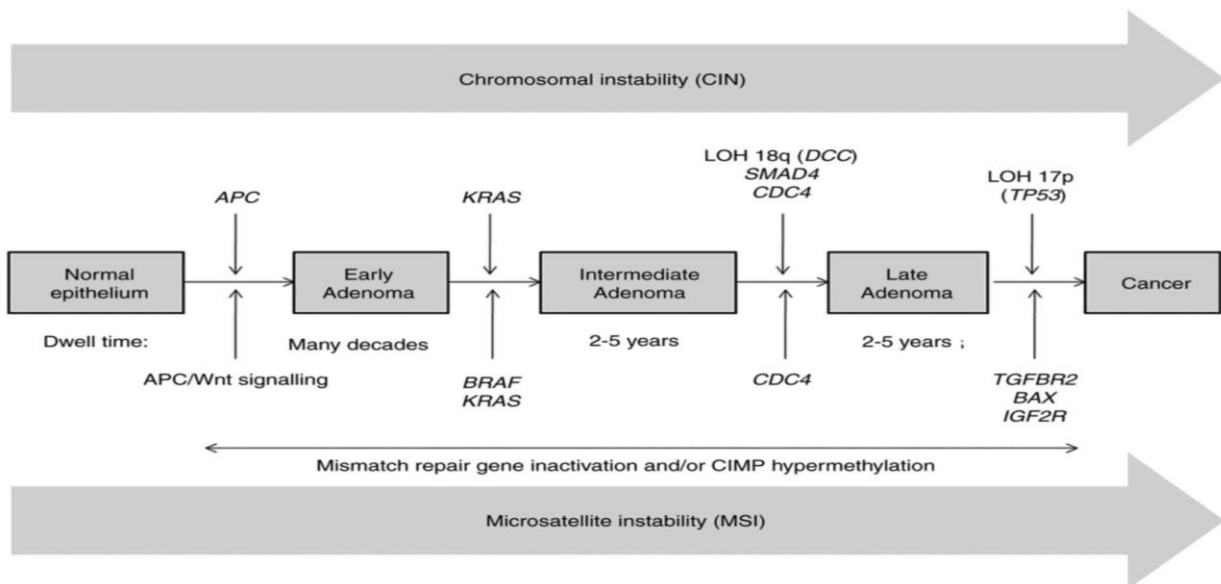
Το αδενοκαρκίνωμα εξωρμάται από τα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου και του ορθού και στα πρώτα του στάδια έχει την μορφή του καλοήθους αδενώματος-πολύποδα.

Η ολοκλήρωση της εξαλλαγής του σε καρκίνο απαιτεί την ύπαρξη μιας αλληλουχίας πολλαπλών μεταλλάξεων σε πολλαπλά γονίδια.[Εικόνα 1,2] (7)



EIKONA 1 Συσσωρευση μεταλλάξεων στην κακοήθη εξαλλαγή του επιθηλίου του παχέος εντέρου.

Από: Menter, D.G., Davis, J.S., Broom, B.M. et al. Back to the Colorectal Cancer Consensus Molecular Subtype Future. *Curr Gastroenterol Rep* 21, 5 (2019). (7)



EIKONA 2 Τα συνηθέστερα μονοπάτια καρκινογένεσης στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Από: Nguyen, H. T., Duong, H. "The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review)". *Oncology Letters* 16, no. 1 (2018): 9-18. NA 2 (8)

Η πλειοψηφία των σποραδικών μορφών ορθοκολικού καρκίνου (~85%) παρουσιάζουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες με αλλαγές στην δομή και τον αριθμό των χρωμοσωμάτων, όπως είναι η απώλεια ή η προσθήκη χρωμοσωμικών τμημάτων, η χρωμοσωμική ανακατανομή και η απώλεια ετεροζυγωτίας. Οι αλλαγές αυτές τροποποιούν την έκφραση ογκογονιδίων ή γονιδίων που σχετίζονται με την κυτταρική αναπαραγωγή και διαφοροποίηση με αποτέλεσμα να ενεργοποιούνται μονοπάτια, τα οποία συμβάλλουν στην έναρξη ή διατήρηση της αλληλουχίας της ογκογένεσης. Οι υπόλοιπες σποραδικές περιπτώσεις (~15%) εμφανίζουν φαινότυπους υψηλής συχνότητας μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI). Στην οικογενή πολυποδίαση (FAP) και στον οικογενή μη πολυποειδή ορθοκολικό καρκίνο (HNPCC) οι ασθενείς κληρονομούν ένα μεταλλαγμένο αντίγραφο του APC γονιδίου και ελλατωματικό σύστημα γενετικής επιδιόρθωσης (MMR) αντίστοιχα.(8)

Περιγράφονται τρία βασικά μονοπάτια της παθογένεσης του καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού, η χρωμοσωμική αστάθεια (CIN), η μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) και το CIMP.(8)

1.4.1.1 Χρωμοσωμική αστάθεια (CIN)

Η CIN είναι η πιο συχνή γενετική αστάθεια στην παθογένεση του καρκίνου και παρατηρείται περίπου στο 85% των αλληλουχιών αδενώματος-καρκίνου. Έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία παθολογικών καρυότυπων, όπως ανευπλοειδία, ανακατανομή χρωμοσωμάτων, ενεργοποίηση ογκογονιδίων και απώλεια της ετεροζυγωτίας ογκοκατασταλτικών γονιδίων(8). Στο μονοπάτι αυτό περιγράφονται επιγενετικές αλλαγές σε γονίδια όπως το APC, KRAS, BRAF, TP53. Το APC συμμετέχει στην αλληλουχία του μονοπατιού APC/beta-catenin/Tcf και όταν απενεργοποιείται οδηγεί σε αύξηση σηματοδότησης του μονοπατιού WNT/β-κατενίνης. Αυτό οφείλεται στην ανεπαρκή αποδόμηση της β-κατενίνης, που συνεπάγεται συσσώρευση και μετατόπισή της σε σημεία διέγερσης των γονιδίων – στόχων Tcf . Με αυτό τον τρόπο διαφοροποιείται η κινητικότητα των κυττάρων αλλά και ο πολλαπλασιασμός τους.(9)

1.4.1.1.1 KRAS

Το γονίδιο KRAS συμμετέχει σε σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν την κυτταρική ωρίμανση και διαφοροποίηση. Οι μεταλλάξεις παρεμποδίζουν την GTPαση που είναι ο ρυθμιστής μεταξύ της ενεργού και αδρανοποιημένης κατάστασης των πρωτεϊνών KRAS, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μονοπατιών ογκογένεσης και μείωσης της κυτταρικής απόπτωσης και αύξηση της επιβίωσης(8).

Εμφανίζεται στο 30-40% των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου. Μελέτες δείχνουν ότι σχετίζεται με κακή πρόγνωση του ορθοκολικού καρκίνου και αυξημένα ποσοστά απομακρυσμένων μεταστάσεων. Έχει αναδειχθεί ως ένας σημαντικός προγνωστικός δείκτης αντίστασης σε θεραπευτικούς παράγοντες κατά του EGFR, όπως το panitumumab και το cetuximab.(10)

1.4.1.1.2 TP53

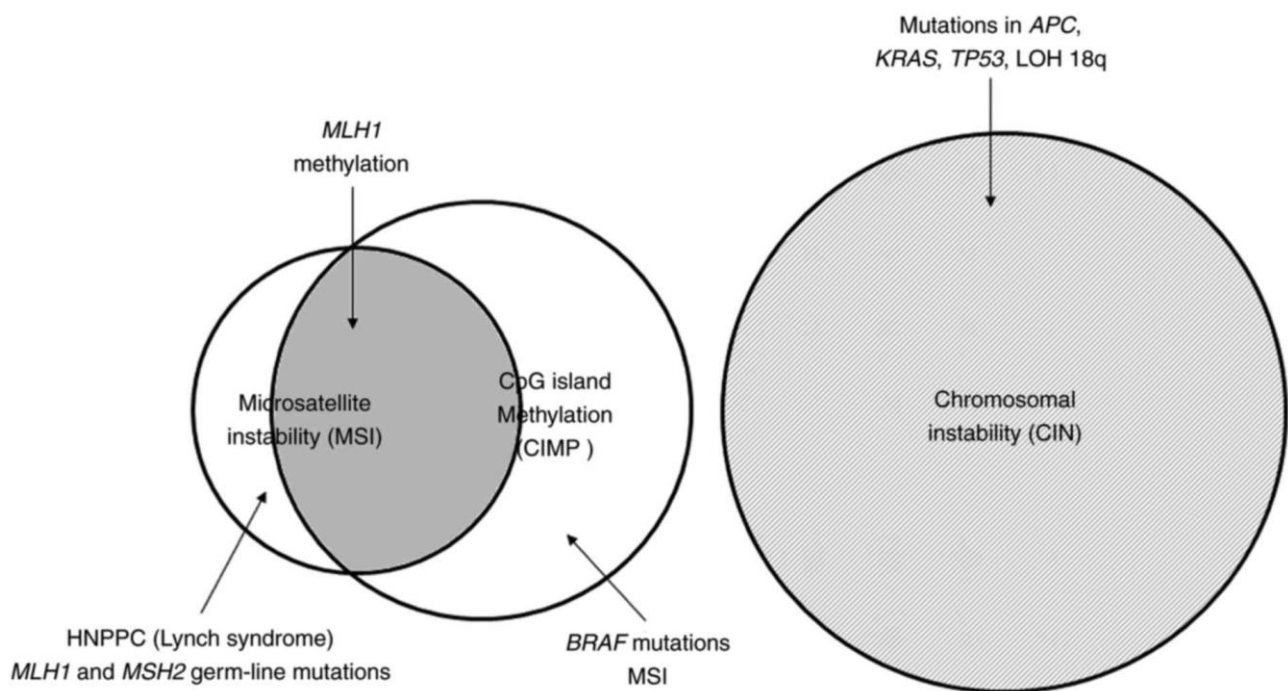
Το p53 είναι ογκοκατασταλτικό γονίδιο και η απώλεια της λειτουργίας του εμφανίζεται στο 50-75% των περιπτώσεων καρκίνου παχέος εντέρου, παίζοντας σημαντικό ρόλο στη μετάβαση από το αδένωμα στον καρκίνο.(8)Αλλαγές στο γονίδιο p53 εμφανίζονται συχνότερα σε νέους ασθενείς συνήθως κάτω των 40ετών.(11) Οι μεταλλάξεις του p53 είναι από τις πιο συχνές που παρατηρούνται στον καρκίνο του παχέος εντέρου που ακολουθεί το μονοπάτι CIN. Εμφανίζονται σε όλους τους υπότυπους CMS, συχνότερα στους CMS2(62%)- CMS4(54%) και διακρίνεται πιο συχνά σε όγκους του αριστερού κόλου.(12)

1.4.1.2 Μικροδορυφορική αστάθεια (MSI)

Η MSI εμφανίζεται περίπου στο 15% των σποραδικών μορφών κολορθικού καρκίνου και σε μεγαλύτερο ποσοστό του 95% στον HNPCC. Χαρακτηρίζεται από τροποποιημένο μήκος γονιδίων λόγω διαγραφής ή εισαγωγής μικρών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών DNA. Η συσσώρευση τέτοιων αλλαγών οδηγεί στην ενεργοποίηση γονιδίων και την εξέλιξη της ογκογένεσης.(8) Ο μηχανισμός για την ενεργοποίηση του μονοπατιού της MSI είναι το ελαττωματικό σύστημα επιγενετικής επιδιόρθωσης (MMR). Η απενεργοποίηση του οφείλεται σε μεταλλάξεις γονιδίων του συστήματος MMR(MSH2, MLH1, MSH6, PMS2, MLH3, MSH3,PMS1, and Exo1) ή λόγω υπερμεθυλοποίησης του MLH1 έχοντας ως αποτέλεσμα την σίγαση αυτού. Ο καρκίνος παχέος εντέρου που σχετίζεται με το μονοπάτι MSI είναι συνήθως βλεννώδης, εξωρμάται στο δεξιό κόλον και είναι συχνά κακής διαφοροποίησης.(13,14) Όταν πάνω από το 30% των δεικτών για MSI είναι θετικοί τότε η αστάθεια είναι υψηλή ενώ κάτω από 30% είναι χαμηλή και ο καρκίνος περιγράφεται ως MSI-h και MSI-l αντίστοιχα.(8)

1.4.1.3 Υπερμεθυλίωση νησίδων CpG (CIMP)

Ένας ακόμα μηχανισμός ογκογένεσης είναι η απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων ή γονιδίων που εμπλέκονται στον κυτταρικό κύκλο μέσω υπερμεθυλίωσης του DNA σε νησίδες CpG. Εμφανίζεται περίπου στο 15-20% των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου. Σχετίζεται με το γυναικείο φύλο, την προχωρημένη ηλικία, εντοπίζεται συχνότερα στο δεξιό κόλον, οι όγκοι εμφανίζουν κακή διαφοροποίηση και βλεννώδη ιστολογικά χαρακτηριστικά. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια επηρεάζονται συχνότερα και η σίγαση τους δεν οφείλεται σε αλλαγές στην αλληλουχία του DNA τους αλλά μέσω αδρανοποίησης της λειτουργίας τους, λόγω σίγασης των υποκινητών τους. Γονίδια που αδρανοποιούνται μέσω αυτού του μηχανισμού είναι για παράδειγμα τα APC, MCC, MLH1, MGMT. (8,13,14)



ΕΙΚΟΝΑ 3 Η αλληλεπίδραση μεταξύ διαφορετικών μονοπατιών καρκινογένεσης.

Από: Nguyen, H. T., Duong, H. "The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review)". *Oncology Letters* 16, no. 1 (2018): 9-18. (8)

1.5 Θεραπευτική αντιμετώπιση

Η εξέταση εκλογής για την αναγνώριση του καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού είναι η ολική κολονοσκόπηση. Κατά την πραγματοποίηση της ανευρίσκονται πολύποδες με καλοήθη ή κακοήθη χαρακτηριστικά, από τους οποίους λαμβάνονται βιοψίες για την ιστολογική τους εξέταση και εφόσον πληρούν κριτήρια για εξαίρεση τους επί υγιών ορίων, αφαιρούνται πλήρως. Στην περίπτωση που η βιοψία αναδείξει καλοήθεια τότε η θεραπευτική αντιμετώπιση ολοκληρώνεται με την κολονοσκόπηση-πολυπεκτομή. Σε αντίθετη περίπτωση που αναδειχθεί κακοήθεια, η νόσος πρέπει να σταδιοποιηθεί απεικονιστικά με την χρήση αξονικής τομογραφίας (CT) για έλεγχο της ύπαρξης απομακρυσμένων μεταστάσεων. Όταν η εντόπιση της κακοήθειας είναι στο κόλον και εφόσον δεν υπάρχουν στοιχεία μη εξαιρεσιμότητας τότε η αντιμετώπιση σε πρώτη φάση είναι χειρουργική και ακολουθεί η χημειοθεραπεία ανάλογα με το στάδιο της νόσου. Όσον αφορά το ορθό απαραίτητα είναι η μαγνητική τομογραφία (MRI) και το ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα (EUS) για να καθοριστεί η τοπική και η λεμφαδενική επέκταση της νόσου, έτσι ώστε να αποφασιστεί αν η χειρουργική επέμβαση ή η νέο-επικουρική χημειο-ακτινοθεραπεία θα είναι το πρώτο βήμα στην αντιμετώπιση του καρκίνου στο ορθό.

1.5.1 Χειρουργική αντιμετώπιση

Υπάρχουν δύο βασικές αρχές-τεχνικές στην χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού, η complete mesocolic excision(CME) και η total mesorectal excision(TME) αντίστοιχα. Η CME έχει ως στόχο την οξεία παρασκευή και αποκόλληση της σπλαγχνικής περιτονίας από το πέταλο της τοιχωματικής περιτονίας έτσι ώστε να απομονώνεται πλήρως το μεσόκολο διατηρώντας άθικτα το πρόσθιο και οπίσθιο πέταλο του μεσοκόλου, έτσι ώστε να είναι εφικτή η πλήρης αποκάλυψη και κεντρική απολίνωση στην έκφυση τους των τροφοφόρων αγγείων του εκάστοτε τμήματος του παχέος εντέρου που εμπεριέχει τον όγκο. Διατηρεί τον εμβρυολογικό φάκελο που εμπεριέχει το μεσόκολο με στόχο να ληφθούν στο παρασκεύασμα της κολεκτομής ο μέγιστος αριθμός λεμφαδένων, τόσο για την ορθότερη παθολογοανατομική σταδιοποίηση της νόσου όσο, σύμφωνα με μελέτες, την βελτίωση της συνολικής επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου. Επιπλέον τα περιφερικά όρια εκτομής από τον όγκο πρέπει να είναι τουλάχιστον 10εκατοστά, καθώς επίσης ως ελάχιστο επαρκές ογκολογικά όριο των ληφθέντων λεμφαδένων στο παρασκεύασμα της κολεκτομής είναι οι 12 λεμφαδένες. Συμπερασματικά η πρότυπη κολεκτομή για καρκίνο στο κόλον καθορίζεται από την λεμφαγγειακή αποχέτευση του όγκου συνυπολογίζοντας το ελάχιστο

περιφερικό όριο των δεκ., όμως στην πλειοψηφία των περιπτώσεων αυτό το όριο ξεπερνάται και η εκτομή καθορίζεται από την απολίνωση του τροφοφόρου αγγείου και την αναστόμωση επί υγιών και καλά αιματούμενων τμημάτων εντέρου.(15)

Η ολική εκτομή του μεσορθού (TME) είναι η επέμβαση εκτομής για τους όγκους του μέσου και κατωτέρου ορθού. Τεχνικά έχει ως στόχο την διατήρηση ακέραιης της μεσορθικής περιτονίας και Παρασκευή του μεσορθού στο εμβρυολογικό πλάνο μεταξύ προϊεράς και μεσορθικής περιτονίας ή 'holy plane'. Το περιφερικό όριο εκτομής είναι τα 2cm.(16) Στον καρκίνο του ορθού υπολογίζεται και το περιμετρικό όριο εκτομής (CRM), ο οποίος είναι ένας ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης τοπικής υποτροπής και συνολικής επιβίωσης(OS) ανεξάρτητος από την λεμφαδενική επέκταση της νόσου. Η τεχνική αυτή έχει οδηγήσει σε σημαντική μείωση του ποσοστού της τοπικής υποτροπής στον καρκίνο του ορθού, εκτός από όγκους σταδίου I, όπου το CRM δεν αποτελεί προγνωστικό δείκτη επιβίωσης . Το μέγιστο όφελος από την επικουρική χημειοθεραπεία παρουσιάζεται σε ασθενείς με CRM μέχρι 30mm σταδίου II-IV. (16,17)

Η χειρουργική αντιμετώπιση του ορθοκολικού καρκίνου έχει ως στόχο την αύξηση της επιβίωσης των ασθενών που πάσχουν από την νόσο, όμως δεν είναι θεραπευτική επιλογή όταν ο όγκος κρίνεται ανεγχείρητος ή υπάρχει αντένδειξη στο χειρουργείο λόγω συνοδών νοσημάτων ή όταν δεν το επιτρέπει η κατάσταση του ασθενούς.(15)

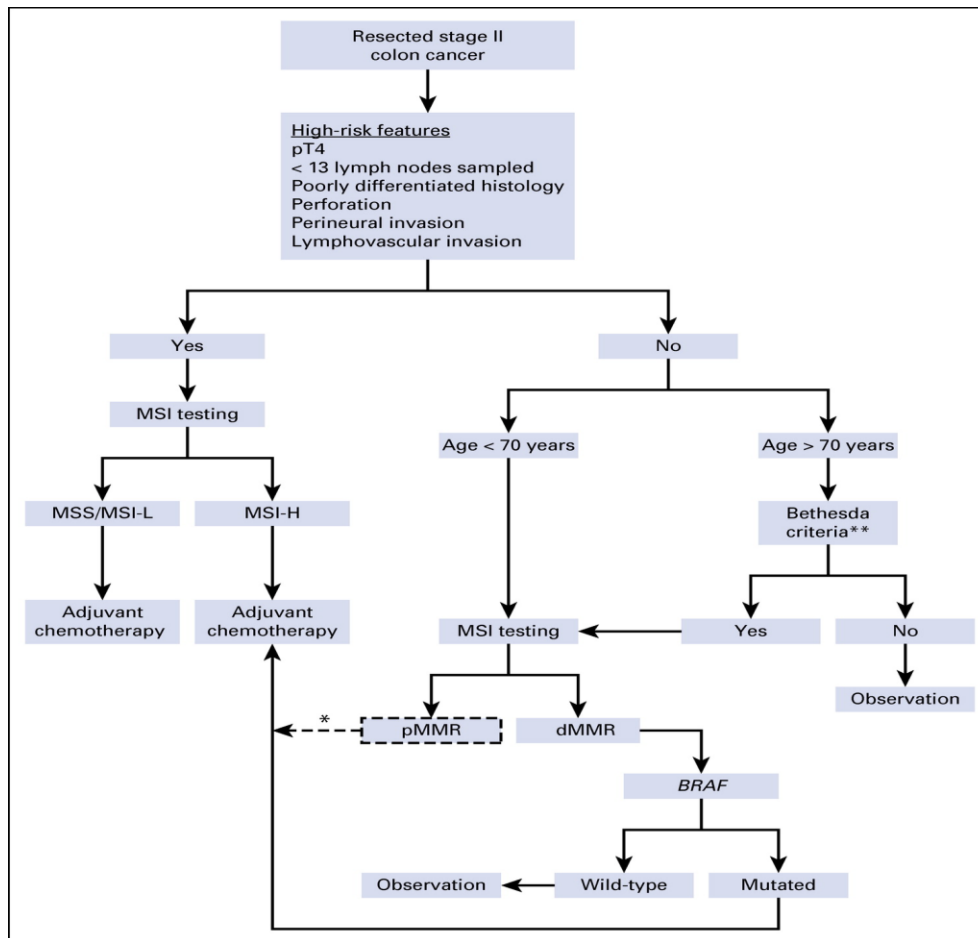
1.5.2 Χημειοθεραπεία

Οι ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο παχέος εντέρου έχουν όφελος από την χημειοθεραπεία όταν έχουν περιοχικές ή απομακρυσμένες μεταστάσεις, έτσι ώστε να ελεγχθεί το καρκινικό φορτίο μετά την κολεκτομή ή ως παρηγορητικό μέτρο με στόχο να βελτιωθεί η επιβίωση τους. Οι πιο συχνά χορηγούμενοι παράγοντες στα θεραπευτικά σχήματα είναι οι 5-φλουορακίλη(5-FU), η καπεσιταβίνη και η οξαλιπλατίνη. Η επικουρική χημειοθεραπεία χορηγείται συνήθως σε διάρκεια 6 μηνών είτε ως μονοθεραπεία με 5-FU ή καπεσιταβίνη, είτε ως διπλό σχήμα με συνδυασμό 5-FU/οξαλιπλατίνη ή καπεσιταβίνη/οξαλιπλατίνη. Στα θεραπευτικά σχήματα εντάσσονται πλέον και οι βιολογικοί παράγοντες, τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται είναι η μπεβασιζουμάμπη(bevacizumab) με δράση εναντίον του VEGF, η πανιτουμουμάμπη(P-mab) και η κετουξιμάμπη(cetuximab) εναντίον του EGFR αντίστοιχα. Η σετουξιμάμπη έχει αποτέλεσμα μόνο στο 10-20% των ασθενών με ορθοκολικό καρκίνο. Επιπλέον η πενταετής επιβίωση των ασθενών

σταδίου IV πλησιάζει το 13%, συνεπώς περισσότερες μελέτες πρέπει να γίνουν ώστε να αναπτυχθούν πιο αποτελεσματικά μονοκλωνικά αντισώματα καθώς και τα θεραπευτικά σχήματα να τροποποιηθούν και να εξελιχθούν για την αύξηση της επιβίωσης στη συγκεκριμένη νόσο.(18,19)

ΣΤΑΔΙΟ II

Βασικό θέμα έρευνας είναι το όφελος χορήγησης χημειοθεραπείας σε ασθενείς με νόσο σταδίου II. Κριτήριο είναι η πιθανότητα υποτροπής της νόσου. Γενικά μελέτες δείχνουν ότι το όφελος από την επικουρική χημειοθεραπεία σε αυτή την ομάδα ασθενών είναι περίπου 5%. Στην μελέτη MOSAIC έγινε σύγκριση της 5ετούς επιβίωσης μεταξύ ασθενών που έλαβαν μονοθεραπεία με 5-FU και συνδυασμό 5-FU/οξαλιπλατίνης, το ποσοστό επιβίωσης ήταν 87% χωρίς διαφορά στις δύο ομάδες. Η μελέτη QUASAR ανέδειξε ότι η ομάδα που χορηγήθηκε 5-FU συγκριτικά με την ομάδα που δεν έλαβε θεραπεία παρουσίασε βελτίωση στην επιβίωση 3-4%.(20) Κριτήρια για την χορήγηση επικουρικής χημειοθεραπείας σε στάδιο II είναι το στάδιο T4, η διάτρηση ή η εντερική απόφραξη από τον όγκο, κακή διαφοροποίηση, η λεμφοαγγειακή και η περινευρική διήθηση, η ύπαρξη λιγότερων από 12 λεμφαδένων στο παρασκέυασμα τα θετικά εγχειρητικά όρια εκτομής και το MSI και BRAF status.(21) Οι κατευθυντήριες οδηγίες υποδεικνύουν την ανάγκη της επαρκούς αξιολόγησης μεταξύ των κινδύνων τοξικότητας από την χημειοθεραπεία, όπως είναι το διαρροϊκό σύνδρομο και η περιφερική νευροπάθεια, καθώς και θανατηφόρων επιπλοκών από την χημειοθεραπεία σε σύγκριση με το μικρό πλεονέκτημα στην συνολική επιβίωση(OS) στους ασθενείς υψηλού κινδύνου σταδίου II.(21)



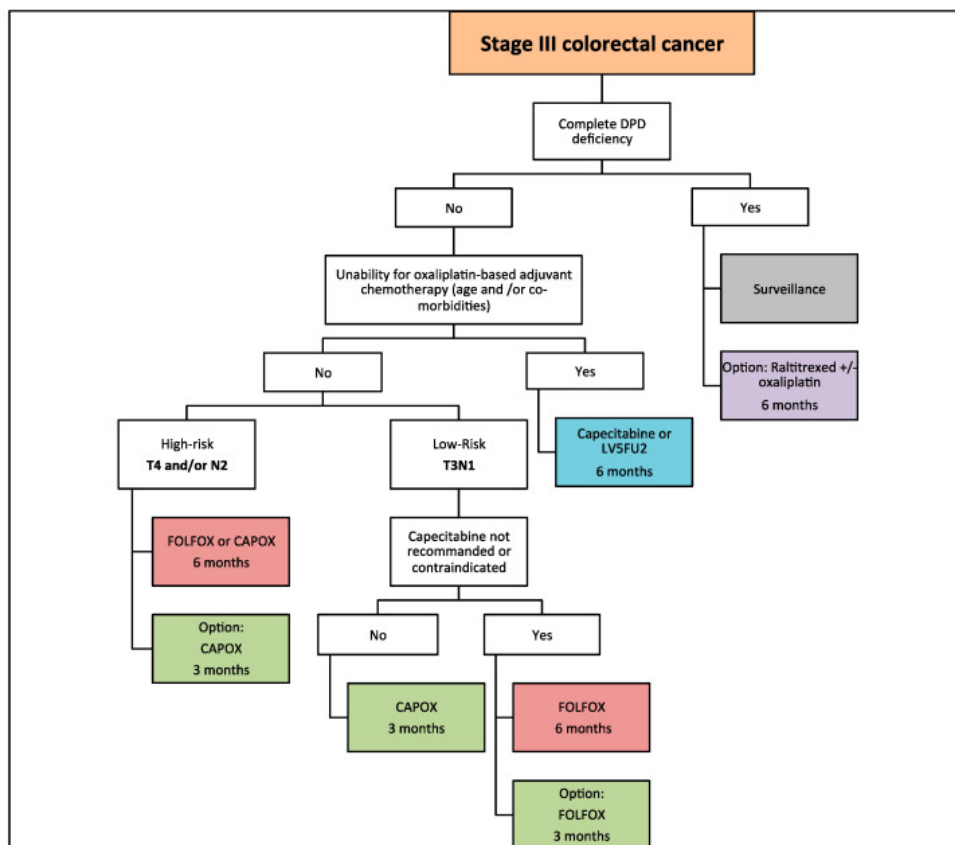
ΕΙΚΟΝΑ 4 Αλγόριθμος σε ασθενείς υψηλού κινδύνου με νόσο σταδίου II

Από: Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer: A Clinical Dilemma Joseph Kannarkatt, Joe Joseph, Peter C. Kurniali, Anas Al-Janadi, and Borys Hrinchenko Journal of Oncology Practice 2017 13:4, 233-241 (20)

ΣΤΑΔΙΟ III

Όσον αφορά τους ασθενείς με νόσο σταδίου III έχει καθιερωθεί η χορήγηση του σχήματος FOLFOX για 6 μήνες(12 κύκλοι). Υπολογίζεται ότι μόνο το 30% θα ωφεληθεί από την χορήγηση επικουρικής χημειοθεραπείας, το 50% θα θεραπευθεί από την χειρουργική εξαίρεση του όγκου και το υπόλοιπο 20% θα εμφανίσει υποτροπή της νόσου παρά την θεραπεία. Επίσης το κλασσικό σχήμα των 6μηνών σύμφωνα με την μελέτη IDEA μπορεί να μειωθεί στους 3μήνες με αντίστοιχα θεραπευτικά αποτελέσματα και λιγότερο τοξικότητα σχετιζόμενη με την χημειοθεραπεία, σύμφωνα με ορισμένα κριτήρια. Η μελέτη IDEA ανέδειξε ότι το FOLFOX(3 μήνες) για ασθενείς χαμηλού ρίσκου και το CAPOX(3 μήνες) για υψηλού ρίσκου ασθενείς δεν παρουσίασαν χειρότερα αποτελέσματα σε σχέση

με τα αντίστοιχα θεραπευτικά σχήματα με διάρκεια 6 μηνών. Στην πενταετία το disease free survival(DFS) ήταν σημαντικά μεγαλύτερο στο μακρύ σχήμα με FOLFOX ενώ η το overall survival(OS) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο σχημάτων.(22)



ΕΙΚΟΝΑ 5 Αλγόριθμος επικουρικής χημειοθεραπείας σε ασθενείς με νόσο σταδίου III.

Από: Taieb J, Gallois C. Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer. Cancers (Basel). 2020 Sep 19;12(9):2679. (22)

ΣΤΑΔΙΟ IV

Σε ασθενείς με νόσο σταδίου IV οι πρώτες γραμμές θεραπείας είναι τα σχήματα 5FU/ιρινοτεκάνη (FOLFIRI) και 5FU/οξαλιπλάτινα (FOLFOX) σε συνδυασμό με βιολογικό παράγοντα. Τριπλού σχήματος θεραπεία 5FU/οξαλιπλάτινα/ιρινοτεκάνη (FOLFOXIRI) επιλέγεται μόνο σε ασθενείς με υψηλό καρκινικό φορτίο και με ταχεία εξέλιξη της νόσου, παρά τα υψηλά ποσοστά τοξικότητας που το συνοδεύουν. Το μεγαλύτερο όφελος στην επιβίωση των ασθενών με μεταστατική νόσο παρατηρείται όταν η χημειοθεραπεία προηγείται από την χειρουργική εξαίρεση του πρωτοπαθή όγκου.(23,24)

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Ο VEGF είναι αυξητικός παράγοντας που παράγεται από τα καρκινικά και τα στρωματικά κύτταρα του όγκου και μεσολαβεί στην αγγειογένεση και στην μεταστατική επέκταση της νόσου. Το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που εγκρίθηκε είναι η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab). Όταν προστίθεται στο FOLFIRI δείχνουν οι μελέτες ότι αυξάνει την συνολική επιβίωση από 15 στους 20 μήνες. Δεν υπάρχουν βιοδείκτες που να βοηθούν στην επιλογή των ασθενών που θα ωφεληθούν περισσότερο από την συγκεκριμένη ομάδα μονοκλωνικών αντισωμάτων.

Έχουν αναπτυχθεί μονοκλωνικά αντισώματα και ενάντια του EGFR, όπως η σετουξιμάμπη (cetuximab) και η πανιτουμουμάμπη (panitumumab). Μεταλλάξεις στα KRAS και NRAS είναι δείκτες κακής πρόγνωσης και όταν υπάρχουν έχουν ρόλο βιοδείκτη μη αποτελεσματικότητας των προαναφερθέντων βιολογικών παραγόντων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικά σε ασθενείς με καρκίνο εντοπιζόμενο στο αριστερό κόλον και σε αυτούς που εμφανίζουν φαινότυπο KRAS/NRAS wild-type.(25)

1.5.3 Ακτινοθεραπεία

Η ακτινοθεραπεία έχει ρόλο στην αντιμετώπιση του καρκίνου του ορθού και όχι του κόλου, και χρησιμοποιείται κυρίως ως νέο-επικουρική ακτινοθεραπεία και σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία προεγχειρητικά για την μείωση του όγκου και την υποσταδιοποίηση του, έτσι ώστε να είναι εφικτή μια πιο αποτελεσματική ογκολογικά εκτομή του ορθού. Βασικό της πλεονέκτημα σύμφωνα με τις μελέτες είναι ότι συμβάλλει στην μείωση του ποσοστού της τοπικής υποτροπής. Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται πλήρης ανταπόκριση του όγκου στην χημειο-ακτινοθεραπεία και η αντικατάσταση του από ινώδη ιστό και οι ασθενείς μπορεί να αποφύγουν την επέμβαση μπαίνοντας σε ένα στενό πρόγραμμα παρακολούθησης. Υπάρχει το βραχύ και το μακρύ σχήμα και η εκτομή του ορθού πραγματοποιείται συνήθως 6-12 εβδομάδες μετά την ολοκλήρωση της χημειοακτινοθεραπείας. Συνοδεύεται όμως και από παρενέργειες-επιπλοκές, όπως είναι η τοξικότητα που εκδηλώνεται με τα συμπτώματα της ακτινικής εντερίτιδας. Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε προεγχειρητική ακτινοθεραπεία και μετά σε χειρουργική επέμβαση εμφανίζουν συχνότερα το σύνδρομο χαμηλής προσθίας εκτομής(LARS) καθώς και διαταραχές από το ουροποιητικό και γεννητικό σύστημα συχνότερα στους άνδρες.(26)

1.5.4 Διαφορές στην αντιμετώπιση βάση μοριακού προφίλ και θέσεως

Το δεξιό με το αριστερό κόλον έχουν διαφορετική εμβρυολογική προέλευση με αποτέλεσμα να έχουν διαφορές τόσο σε επίπεδο ανατομίας όσο και φυσιολογίας. Αυτό επεκτείνεται και στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου στα τμήματα αυτά. Ο καρκίνος στο κόλον σύμφωνα με τα νεότερα δεδομένα πρέπει να θεωρείται διαφορετική νοσολογική οντότητα ανάλογα με την θέση του, μιας και εμφανίζει διαφορές σε μοριακό επίπεδο και διαφορετικό επίπεδο ανταπόκρισης στα διάφορα είδη χημειοθεραπείας. Όταν οι ασθενείς υποβάλλονται σε ριζική χειρουργική εκτομή δεν παρουσιάζουν διαφορές στην επιβίωση τους ως προς την εντόπιση του όγκου. Οι διαφορές παρουσιάζονται στο επίπεδο της ανταπόκρισης στα διάφορα σχήματα της επικουρικής χημειοθεραπείας. Σύμφωνα με την μελέτη των Missiaglia et al στο στάδιο III η θεραπεία με FOLFIRI δεν εμφάνισε διαφορές στην επιβίωση, όμως στο στάδιο II οι ασθενείς με όγκο στο δεξιό κόλον είχαν περισσότερο όφελος από την θεραπεία. Σε αντίθεση με το FOLFOX περισσότερο όφελος παρουσιάστηκε στους ασθενείς με καρκίνο στο αριστερό κόλον. Στο στάδιο IV μεγαλύτερη επιβίωση σχετίστηκε με εντόπιση στο αριστερό κόλον. Τα μονοκλωνικά αντισώματα φαίνεται επίσης να έχουν πιο πτωχή ανταπόκριση στο δεξιό κόλον, για παράδειγμα η σετουξιμάμπη σε άγριους τύπους KRAS (wt) δίνει μικρότερη περίοδο ελεύθερη προόδου (progression free survival-PFS) στους δεξιούς όγκους, ενώ bevacizumab ωφελεί περισσότερο αριστερούς όγκους προχωρημένου σταδίου.(27)

Differences regarding survival, treatment, and molecular levels between right and left colon cancer.

	RCC	LCC	
Survival			
5-yr OS in 1990s	56.3%	59.7%	<i>P</i> < 0.01
in 2000s	67%	71%	<i>P</i> < 0.01
5-yr DFS in 2010	73%	74%	<i>P</i> > 0.05
in 2014	88.6%	89.4%	<i>P</i> > 0.05
Median OS (mo)	18.2%	29.4%	<i>P</i> < 0.001
Dominant treatment - Adjuvant	FOLFIRI	FOLFOX	
Palliative	Anti-EGFR therapy	Anti-angiogenesis	
Molecular levels			
Carcinogenesis mechanisms	MMR, KRAS, BRAF, miRNA-31	CIN (p53), NRAS; miRNA-146a, 147b, 1288	
Protein expressions	GNAS, NQO1, Telomerase, p-PDH	ANXA10, Topo I, TS, EGFR	
Relapse pathways	Cell cycle control genes, high WNT	Stromal expression, low WNT signaling	

RCC: Right colon cancer; LCC: Left colon cancer.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.2 Σύγκριση κλινικών χαρακτηριστικών και θεραπείας ανάλογα με την εντόπιση.

Από: Shen H, Yang J, Huang Q, Jiang MJ, Tan YN, Fu JF, Zhu LZ, Fang XF, Yuan Y. Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers. *World J Gastroenterol.* 2015 Jun 7;21(21):6470-8. doi: 10.3748/wjg.v21.i21.6470. PMID: 26074686; PMCID: PMC4458758. (27)

1.6 Μοριακοί υπότυποι στον καρκίνο του παχέος εντέρου

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου και του ορθού είναι μία ετερογενής νόσος με διαφορετικά χαρακτηριστικά σε γενετικό, μοριακό, επιγενετικό και φαινοτυπικό επίπεδο. Έγινε προσπάθεια συγχώνευσης των ήδη υπάρχων κατηγοριοποιήσεων και μέσω του ‘CRC Subtyping Consortium’ διαμορφώθηκε ένα νέο σύστημα σταδιοποίησης του ορθοκολικού καρκίνου το οποίο περιλαμβάνει 4 υπότυπους (Consensus Molecular Subtypes-CMS) με στόχο η ετερογένεια της νόσου να κατηγοριοποιηθεί ορθότερα σύμφωνα με μοριακά και κλινικά χαρακτηριστικά. Στο συγκεκριμένο σύστημα μπορεί να ενταχθεί περίπου το 85% των καρκίνων παχέος εντέρου ενώ το υπόλοιπο 15% δεν εντάσσεται σε μία από τις 4 υποομάδες. Οι 4 υποκατηγορίες είναι οι CMS1(MSI immune), CMS2(canonical), CMS3(metabolic) και CMS4(mesenchymal).(28,29,30)

CMS1(MSI immune)

Οι όγκοι που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία προέρχονται από οδοντωτά αδενώματα. Το μονοπάτι καρκινογένεσης που χαρακτηρίζει τους όγκους αυτούς είναι το ‘serrated pathway’. Κοινά χαρακτηριστικά της ομάδας αυτής είναι η συνηθέστερη εντόπιση τους είναι στο δεξιό κόλον, εμφανίζουν υψηλό ποσοστό μεταλλάξεων του BRAF και παρατηρείται έντονη διήθηση λεμφοκυττάρων στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου. Σε μοριακό επίπεδο παρατηρείται υπερμεθυλίωση του CpG, το οποίο σχετίζεται με την αδρανοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και προστατευτικών μηχανισμών κατά της ογκογένεσης, συνδέονται με το DNA mismatch repair system(MMR) που οδηγεί στην ενεργοποίηση και ενίσχυση του μονοπατιού της μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI).

Οι ασθενείς με MSI όγκους σε πρώιμα στάδια εμφανίζουν καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με όγκους MSS. Στο στάδιο III ανταποκρίνονται στο FOLFOX και όχι στη μονοθεραπεία με φλουορακίλη. Γενικότερα εμφανίζουν καλύτερη συμπεριφορά και πρόγνωση όταν η νόσος δεν είναι σε προχωρημένο στάδιο και δεν υπάρχει εκτεταμένη νόσος, ενώ η ανταπόκριση τους μετά την υποτροπή του καρκίνου είναι χειρότερη σε σύγκριση με άλλους όγκους.

Παρατηρείται ότι σε αυτούς του όγκους έχουν ρόλο στην αντιμετώπιση βιολογικοί παράγοντες, όπως αναστολείς PD-1(pembrolizumab) και αναστολείς PDL-1(durvalumab), τα οποία έχουν ανοσοτροποποιητική δράση και ενισχύουν την δράση των κυττάρων T να αναγνωρίζουν και να καταστρέφουν τα καρκινικά κύτταρα στόχους. (28,29,30)

CMS2(Canonical)

Οι όγκοι αυτής της κατηγορίας προέρχονται από το κλασσικό μονοπάτι ογκογένεσης στον καρκίνο του παχέος εντέρου που είναι το ‘adenoma to carcinoma sequence’ και εμφανίζει επιθηλιακά χαρακτηριστικά. Χαρακτηρίζονται από υψηλό δείκτη χρωμοσωμικής αστάθειας κυρίως με ενίσχυση ή απώλεια τμημάτων χρωμοσωμάτων που επηρεάζουν την έκφραση και λειτουργία ογκογονιδίων και μεταλλάξεις στο WNT και MYC, τα οποία οδηγούν σε ενίσχυση των ενδοκυττάρων μηχανισμών ογκογένεσης. Η ενίσχυση εμφανίζεται στα ογκογονίδια ενώ η απώλεια τμημάτων σε ογκοκατασταλτικά γονίδια. Αδρανοποιείται το γονίδιο APC με συνοδό ενεργοποίηση του KRAS και απώλεια του TP53. Εντοπίζονται συχνότερα στο αριστερό κόλον και συγκριτικά με τις υπόλοιπες κατηγορίες εμφανίζουν την υψηλότερη πρόγνωση ανεξάρτητα του σταδίου, με 5ετή επιβίωση περίπου στο 77%, αν και η πλειοψηφία τους στην διάγνωση τους εμφανίζουν στάδιο III νόσο. (28,29,30)

CMS3(Metabolic)

Είναι ο μεταβολικός υπότυπος και οι όγκοι εμφανίζουν χρωμοσωμική αστάθεια, όμως σε μικρότερο ποσοστό σε σύγκριση με τα CMS2 και CMS4, ενώ το MSI status είναι υψηλότερο σε σχέση με τους προηγούμενους υπότυπους. Το 30% αυτών παρουσιάζει υψηλό δείκτη μεταλλάξεων. Οι μεταλλάξεις του KRAS παρουσιάζονται σε όλους του υπότυπους, όμως εμφανίζονται συχνότερα στο CMS3 σε ποσοστό περίπου 68%. Θεωρείται πως οι καρκίνοι αυτής της υποομάδας προέρχονται από σωληνολαχνωτά αδενώματα με οδοντωτά χαρακτηριστικά και ίσως να αποτελεί ένα ενδιάμεσο τύπο του CMS1 και CMS2.

Καρκίνοι σταδίου III με μεταλλάξεις του KRAS και απομακρυσμένη εντόπιση παρουσιάζουν μικρότερο χρόνο μέχρι την εμφάνιση της υποτροπής και έχουν χειρότερη πρόγνωση. Στους μεταστατικούς όγκους αυτής της ομάδας η μετάλλαξη του KRAS αποτελεί αρνητικό προγνωστικό δείκτη και αποτελεί ένδειξη αποτυχίας του θεραπευτικού σχήματος με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR, όπως η σετουξιμάμπη. Επιπλέον ο μεταβολικός επαναπρογραμματισμός του κυττάρου είναι ένα βασικό στοιχείο για την κακοήθη εξαλλαγή του κυττάρου, προκλινικές μελέτες φανερώνουν ότι οι αναστολείς μεταβολικών αλληλουχιών όπως είναι οι μεταφορείς γλυκόζης και τα γλυκολυτικά ένζυμα έχουν ρόλο στην διακοπή της ογκογένεσης. Η cystathionine-β-synthase (CBS) είναι αυξημένη στον καρκινικό βλεννογόνο σε σχέση με τον φυσιολογικό και οδηγεί σε μεταβολικές αλλαγές του κυττάρου και σε πιο διεσδυτικό φαινότυπο. Πιθανότατα οι χρήση αναστολέων της CBS να αποτελέσει ένα νέο θεραπευτικό μέτρο στην αντιμετώπιση KRAS θετικών καρκίνων παχέος εντέρου, μέσω αναστολής του αναβολισμού του καρκινικού κυττάρου.(28,29,30)

CMS4(Mesenchymal)

Οι όγκοι αυτής της κατηγορίας παρουσιάζουν ένα γενετικό προφίλ που πλησιάζει αυτό του οδοντωτού αδενώματος, όμως εμφανίζουν χαμηλά ποσοστά υπερμετάλλαξης και MSS status. Εμφανίζουν μεσεγχυματικό φαινότυπο και χαρακτηριστικά όπως η αυξημένη αγγειογένεση, η σύνδεση ιντεγκρίνης σε πρωτεΐνες του στρώματος και ενεργοποίηση ινοβλαστών που δρουν ευνοικά στην καρκινογένεση μέσω σηματοδότησης του παράγοντα TGF-β. Το υπόστρωμα του όγκου είναι φλεγμονώδες και εμπεριέχει κύτταρα του ανοσοποιητικού. Στο προφλεγμονώδες υπόστρωμα βρίσκονται Treg cells, T helper 17 cells, μυελοειδή κατασταλτικά και μακροφάγα που ενισχύουν τον όγκο. Οδηγεί στην παραγωγή IL-23 και IL-17 όπου συνδέει τους όγκους CMS4 με το μονοπάτι colitis-associated

colorectal carcinoma, όπου η απενεργοποίηση του TP53 συμβαίνει στα αρχικά στάδια της ογκογένεσης σε σύγκριση με το CMS1 που εμφανίζεται σε μεταγενέστερα στάδια.

Σε σχέση με τους άλλους υπότυπους εμφανίζουν την χειρότερη πρόγνωση στην 5ετία και υποτροπιάζουν πιο σύντομα. Η προτεινόμενη θεραπεία για στάδιο III είναι το FOLFOX, αλλά δεν παρουσιάζει αυτή ομάδα ασθενών σημαντικά οφέλη από την επικουρική χημειοθεραπεία. Επιπλέον σε αντίθεση με τα άλλα στάδια δεν ανταποκρίνεται σε θεραπείες έναντι του EGFR ανεξάρτητα από τις μεταλλάξεις του KRAS, έτσι στο στάδιο IV χορηγείται το bevacizumab. Όφελος στους CMS4 όγκους θα είχε η θεραπεία με στόχο το φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον του όγκου. Το μονοκλωνικό αντίσωμα abiruzumab, το οποίο δρα έναντι της ιντεγκρίνης ανβ6 επιφάνειας των καρκινικών κυττάρων φαίνεται σε προκλινικό στάδιο να παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα σε αυτούς τους όγκους.(28,29,30)

	CMS1	CMS2	CMS3	CMS4
Alternate name	Microsatellite Instability Immune	Canonical	Metabolic	Mesenchymal
Primary characteristics	Hypermuted, microsatellite unstable and strong immune activation	Epithelial, marked WNT and MYC signaling activation	Epithelial and evident metabolic dysregulation	Prominent TGF- β activation, stromal invasion and angiogenesis. +/- WNT
Incidence	14%	37%	13%	23%
Genomic associations	MSI, high mutation count, low copy number	Chromosomal instability (CIN), low-moderate mutation count and copy number	CIN, moderate mutation count, low-moderate copy number	CIN, low mutation count, high copy number
Precursor lesions	Serrated (low TGF β microenvironment)	Tubular adenoma	Tubulovillous adenoma with serrated features (21)	Serrated (high TGF β microenvironment)
Epigenomic associations	High methylation	Low methylation	Moderate methylation	Low methylation
Transcriptomic pathways	Immune activation, JAK-STAT activation, Caspases	WNT targets, <i>MYC</i> activation, <i>EGFR</i> or <i>SRC</i> activation, <i>VEFG</i> or <i>VEGFR</i> activation, Integrin activation, <i>TGFB</i> activation, <i>IGF</i> and <i>IRS2</i> activation, <i>HNF4a</i> , <i>HER2</i> and cyclin upregulation	DNA damage repair, Glutaminolysis, lipogenesis, cell cycle	Mesenchymal activation, complement activation, immunosuppression, integrins
Stroma-immune microenvironment	Few CAF, highly immunogenic, large immune infiltrate, tends towards adaptive immune response	Very few CAF, poorly immunogenic, tends toward innate immune response	Few CAF, highly immunogenic, tends toward adaptive immune response	Many CAF, inflamed, tends toward innate immune response, epithelial to mesenchymal transition
Associated mutations	<i>MSH6</i> , <i>RNF43</i> , <i>ATM</i> , <i>TGFBR2</i> , <i>BRAF</i> , <i>PTEN</i>	<i>APC</i> , <i>KRAS</i> , <i>TP53</i> , <i>PIK3CA</i>	<i>APC</i> , <i>KRAS</i> , <i>TP53</i> , <i>PIK3CA</i>	<i>APC</i> , <i>KRAS</i> , <i>TP53</i> , <i>PIK3CA</i>
Clinical associations				
Histopathologic associations	Solid, trabecular, mucinous features	Tubular	Papillary	Prominent desmoplasia, stroma
Age (years)	69	66	67	64
Sex	44% M, 56% F	58% M, 42% F	53% M, 47% F	55% M, 45% F
Location	Proximal	Distal	Mixed	Distal
Stage at diagnosis (%)				
I	12	13	17	8
II	44	40	41	33
III	40	39	37	47
IV	4	8	5	12
Grade (%)				
1	15	22	20	9
2	40	73	68	72
3	45	5	12	19

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.3 Μοριακοί υπότυποι καρκίνου παχέος εντέρου.

Από: Thanki K, Edward Nicholls M, Gomez G, Gajjar A, James Senagore A, Rashidi L, et al . Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and their Clinical Implications. IBBJ 2017; 3 (3) :105-111 (29)

1.7 Βιοδείκτες και μεταλλάξεις στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

1.7.1 Μεταλλάξεις των KRAS/NRAS

Το 1/3 των καρκίνων του παχέος εντέρου και ορθού παρουσιάζει σημειακές μεταλλάξεις στα εξόνια 2 και 3 του γονιδίου KRAS καθώς και 15% εμφανίζει μεταλλάξεις στα εξόνια 2,3 και 4 του γονιδίου NRAS. Οι μεταλλάξεις ενεργοποιούν μόνιμα το μονοπάτι RAS (RAS/RAF/MAPK). Λειτουργούν ως αρνητικός προγνωστικός δείκτης ανταπόκρισης στην χημειοθεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR, όπως η σετουξιμάμπη, ενώ ανταπόκριση παρατηρείται μόνο σε RAS-wild type όγκους, η οποία είναι εμφανής στη διαφορά στην επιβίωση. Στους ασθενείς με μεταλλάξεις στο NRAS πρέπει να ελέγχεται και το KRAS για να αποφασισθεί κατά πόσο ο ασθενής είναι υποψήφιος για θεραπεία έναντι του EGFR. Χρήσιμο είναι να ανευρεθούν βιοδείκτες θετικής προγνωστικής αξίας για την ανταπόκριση σε αυτού του είδους το χημειοθεραπευτικό σχήμα με μονοκλωνικά αντισώματα.(31,32)

1.7.2 Μεταλλάξεις BRAF

Το γονίδιο BRAF αποτελεί στόχο στο σηματοδοτικό μονοπάτι του KRAS, και οι όγκοι που εμφανίζουν μεταλλάξεις σε αυτό χαρακτηρίζονται κακής πρόγνωσης. Το μεταλλαγμένο BRAF εμφανίζεται σε συνηθέστερα σε όγκους του εγγύς κόλου, με βλεννώδη χαρακτηριστικά, φτωχή διαφοροποίηση και με υψηλό δείκτη MSI. Το 8% των όγκων παχέος εντέρου παρουσιάζει την BRAFV600E μετάλλαξη, η οποία έχει αρνητικό προγνωστικό χαρακτήρα σε σχέση με την επιβίωση στον ορθοκολικό καρκίνο.(31,32)

1.7.3 Γονίδια DNA MMR/MSI

Η μικροδορυφορική αστάθεια(MSI) οφείλεται σε αδυναμία επιδιόρθωσης λαθών στην αλληλουχία του DNA κατά την αντιγραφή από τα γονίδια επιδιόρθωσης MMR. Τα γονίδια MMR απενεργοποιούνται μέσω σποραδικής υπερμεθυλίωσης του MLH1 promoter ή μεταλλάξεις της germline στα γονίδια MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2. Όγκοι MSI-H εμφανίζουν ευνοικότερη πρόγνωση σε σχέση με τους MSI-L όγκους. Στους όγκους σταδίου II MSI-H η επικουρική χημειοθεραπεία δεν προσφέρει όφελος. Η MSI-H συνοδεύεται σε εκτεταμένη νόσο συχνά από

μετάλλαξη BRAF , το οποίο μειώνει την επιβίωση. Συνεπώς το MSI status πρέπει να αναγνωρίζεται παράλληλα με το μεταλλαγμένο BRAF για την καλύτερη πρόβλεψη της συμπεριφοράς του όγκου και της επιβίωσης του ασθενούς. Το status MSI λειτουργεί ως προγνωστικός δείκτης για την νόσο σταδίου II αλλά και ως μέτρο πρόληψης για την πρόιμη αναγνώριση ασθενών με σύνδρομο Lynch.(31,32)

1.7.4 CIMP status

Η υπερμεθυλίωση νησίδων CpG παρατηρείται συχνότερα σε ηλικιωμένους ασθενείς, σε γυναίκες και σε υψηλής διαφοροποίησης όγκους του δεξιού κόλου με συνοδές μεταλλάξεις σε γονίδια MMR(MSI-H) και στο BRAF.Το CIMP status αποτελεί ένα αρχόμενο βιοδείκτη λόγω των ξεχωριστών μεταλλάξεων του. Υπερμεθυλιωμένα γονίδια που μπορούν να ανιχνευθούν είναι τα SLC5A8, ITGA4, SFRP2, CDKN2A, HMTF, MGMT και η SEPT9.(31,32)

1.7.4.1 SEPT9

Ένας από τους πιο ευρέως μελετημένους βιοδείκτες του προτύπου της υπερμεθυλίωσης του DNA είναι του γονιδίου SEPT9, το οποίο παράγει την septin9 μια GTP πρωτεΐνη που συμμετέχει στην κυτταρική πρόσδεση. Η αποτελεσματικότητά του είναι εμφανέστερη σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου σταδίου III-IV και εμφανίζει πλεονεκτήματα στην χρήση του σε προληπτικό(screening) επίπεδο. Ο συνδυασμός των SEPT9-FIT-CEA φαίνεται να αυξάνει την ευαισθησία από 73% σε περίπου 97% στη μελέτη των Wu et al. Ένας από τους σημαντικότερους περιορισμούς του είναι η χαμηλή ευαισθησία του στην αναγνώριση προκαρκινικών βλαβών που κυμαίνεται από 8-38%.(31,32)

1.7.4.2 CDKN2A-MGMT

Η υπερμεθυλίωση του CDKN2A και συγκεκριμένα στον p16INK4A promoter, προδιαθέτει σε χειρότερη πρόγνωση, σε αυξημένο κίνδυνο υποτροπής της νόσου καθώς και σε μεταστατική εξέλιξη του όγκου. Το γονίδιο MGMT εκφράζει ένα ένζυμο επιδιόρθωσης του DNA που αποτρέπει την εμφάνιση μεταλλάξεων. Η υπερμεθυλίωση του MGMT αποτελεί θετικό προγνωστικό παράγοντα για την ανταπόκριση στην επικουρική χημειοθεραπεία με 5-FU σε ασθενείς με προχωρημένο στάδιο της νόσου. Συσχετίζεται με βελτιωμένη απάντηση στην νέο-επικουρική χημειοακτινοθεραπεία σε ασθενείς με καρκίνο ορθού.(31,32)

1.7.5 Μεταλλάξεις EGFR

Μεγάλο ποσοστό των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου εμφανίζουν αυξημένη έκφραση του EGFR, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα με ανασταλτική δράση στον EGFR είναι η σετουξιμάμπη και η πανιτουμάμπη, που απενεργοποιούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια καρκινογένεσης των RAS, PI3K-AKT και SRC. Ο EGFR αποτελεί στόχο της θεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα σε KRAS-wild type όγκους, με μειονέκτημα την προοδευτική εμφάνιση αντίστασης στην χημειοθεραπεία σε αυτούς τους παράγοντες. Συνδέτες του EGFR, όπως οι EREG και AREG, αποτελούν πρόσφατους βιοδείκτες σε KRAS-wild type όγκους υπό χημειοθεραπεία ενάντια του EGFR. Σε πρόσφατη μετανάλυση παρουσιάστηκε η σχέση της αυξημένης έκφρασης mRNA των EREG και AREG και της αυξημένης progression free survival(PFS). Σε άλλη μελέτη μόνο η υπερέκφραση του EREG φάνηκε να σχετίζεται θετικά με την OS και την PFS. Συνεπώς και οι δύο βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ανεξάρτητοι ευνοικοί προγνωστικοί παράγοντες στον ορθοκολικό καρκίνο.(31,32)

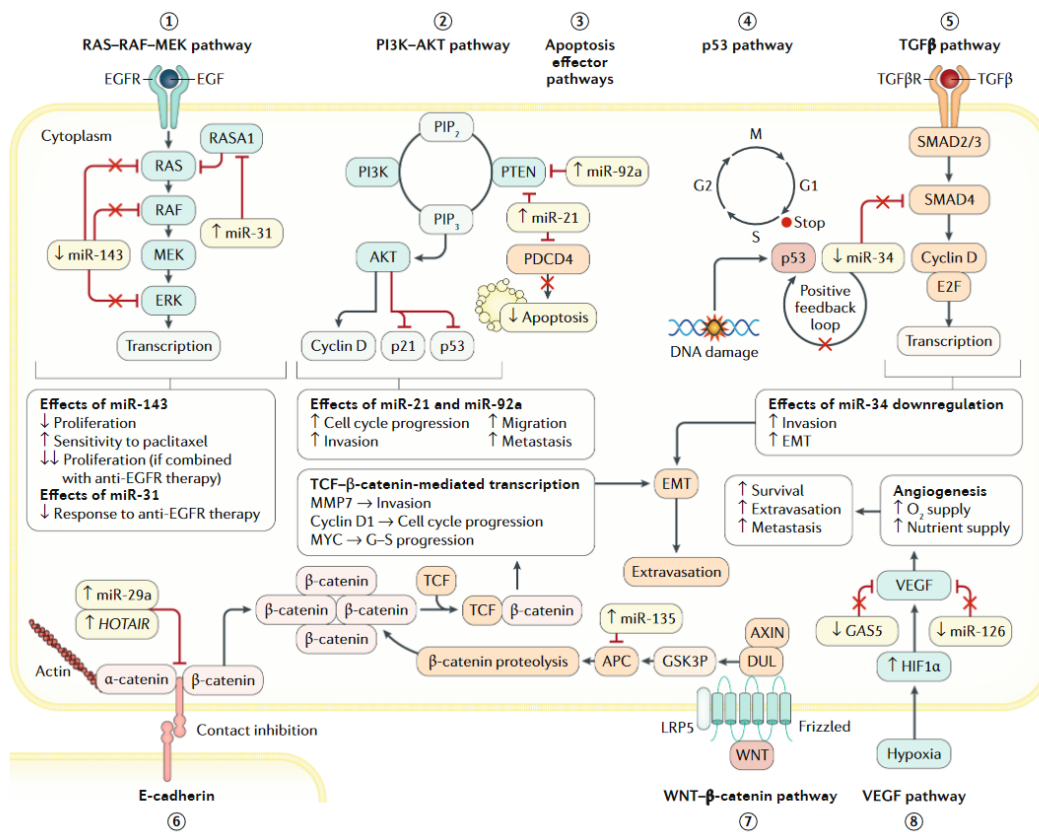
1.7.6 Μεταλλάξεις του PIK3CA

Το PIK3CA είναι ογκογονίδιο που παράγει την PI3K που ανήκει στην οικογένεια τυροσινικών κινασών που μαζί με το KRAS ρυθμίζει το μονοπάτι του EGFR και οδηγεί στην φωσφορυλίωση του AKT και ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι AKT-mTOR. Συμμετέχει στην κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Μεταλλαγμένο PIK3CA ανευρίσκεται περίπου στο 15% των όγκων παχέος εντέρου και ορθού. Μόνο όταν συνυπάρχουν μεταλλάξεις και στα δύο εξόνια 9 και 10 του PIK3 παρατηρείται συσχέτιση με χειρότερη πρόγνωση, φαινόμενο που εμφανίζεται κυρίως σε KRAS-wild type όγκους. Μεταλλάξεις στο εξόνιο 20 του PIK3CA μπορεί να λειτουργήσουν ως βιοδείκτης αντίστασης στην αντι-EGFR θεραπεία.(31,32)

1.7.7 MicroRNAs

Τα microRNAs έχουν ρόλο κλειδί στην ανάπτυξη ή την καταστολή καρκινικών κυττάρων και μπορούν να αποσπαστούν όχι μόνο από μονιμοποιημένους ιστούς αλλά και από σωματικά υγρά, ιδιαίτερα από το αίμα. Έχουν την δυνατότητα να αναστέλλουν γονίδια και να ευνοούν τον πολλαπλασιασμό και την διείσδυση των καρκινικών κυττάρων. Σε όγκους παχέος εντέρου με μεταλλαγμένο BRAF

παρατηρείται έκφραση του miR-31, το οποίο μπορεί να αποτελέσει διαγνωστικό βιοδείκτη. Σε KRAS-wild type όγκους με ανταπόκριση στην αντι-EGFR θεραπεία εκφράζονται τα miR-99a και miR-125b, ενώ η έκφραση του miR-181a σε αυτή την κατηγορία ασθενών σχετίζεται με κακή πρόγνωση. Η έκφραση του miR-622 σε ασθενείς με καρκίνο ορθού μπορεί να λειτουργήσει ως αρνητικός προγνωστικός παράγοντας ανταπόκρισης στην ακτινοθεραπεία. Το miR-126 καταστέλλεται στον καρκίνο του παχέος εντέρου και φαίνεται να συμμετέχει στην αγγειογένεση με άμεση δράση στον VEGF. Σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα μεταστατικής επέκτασης της νόσου και η απορρύθμιση του στον μεταστατικό καρκίνο φαίνεται να λειτουργεί ανασταλτικά στην ανταπόκριση στην θεραπεία με bevacizumab. Πάνω από 500 διαφορετικά microRNAs έχουν ανευρεθεί στον ορθοκολικό καρκίνο.(33)



ΕΙΚΟΝΑ 6 Η επίδραση των microRNAs σε διαφορετικά μονοπάτια καρκινογένεσης.

Από: Jung, G., Hernández-Illán, E., Moreira, L., Balaguer, F., & Goel, A. (2020). Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(2), 111–130. doi:10.1038/s41575-019-0230-y (33)

1.7.8 Βιοδείκτες βιολογικών υλικών

1.7.8.1 Circulating tumor cells-CTC

Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα(circulating tumor cells-CTC) τα οποία προέρχονται από τον πρωτοπαθή όγκο ή από μεταστατικές εστίες ανευρίσκονται στον ορό των ασθενών που πάσχουν από καρκίνο του παχέος εντέρου. Είναι χρήσιμα ως ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας για την ενεργότητα και την εξέλιξη της νόσου, την μεταστατική της συμπεριφορά καθώς και ότι συμβάλλει στην αποφυγή νέων βιοψιών. Η απομόνωση των CTC παρέχει πληροφορίες για την βιολογία του καρκίνου, ακόμα και κατά την διάρκεια χημειοθεραπείας και δίνει στοιχεία για την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Καθίσταται ένας αποτελεσματικός μη επεμβατικός βιοδείκτης.(31,34)

1.7.8.2 Cell-free DNA-cfDNA

Το cfDNA αποτελεί τμήματα DNA που προέρχονται από τον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων και κυκλοφορούν στο πλάσμα του ασθενούς. Συλλέγονται με την λήψη περιφερικού αίματος και παρέχουν πληροφορίες για μεταλλάξεις και ανωμαλίες του γονιδιώματος, αναγνωρίζοντας με αυτό τον τρόπο την εξέλιξη του καρκίνου. Σε σύγκριση με τα CTC, το cfDNA αποτελεί πιο αξιόπιστο βιοδείκτη τόσο σε διαγνωστικό όσο και σε προγνωστικό επίπεδο, καθώς και δίνει πληροφορίες για την επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος σε εξατομικευμένο επίπεδο ανάλογα με την γενετική μορφολογία του όγκου. Είναι εφικτό να αναγνωρισθούν αλλαγές στο γονιδίωμα όπως η υπερμεθυλίωση του DNA, η απώλεια ετεροζυγωτίας, το MSI status και μεταλλάξεις των KRAS και TP53.(31,34)

1.8 CDX2

1.8.1 Δομή και λειτουργία στο φυσιολογικό κύτταρο

CDX2 είναι ένας μεταγραφικός πυρηνικός παράγοντας που ανήκει στην οικογένεια των caudal homeobox CDX γονιδίων και το γονίδιο που τον εκφράζει είναι ένα εξαπεπτίδιο που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 13q12-13.(35) Τα γονίδια αυτά συμμετέχουν στον έλεγχο της εμβρυολογικής ανάπτυξης. Συγκεκριμένα το CDX2 έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και διαμόρφωση του πεπτικού σωλήνα

σε εμβρυολογικό επίπεδο, και ελέγχει την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση, την προσκόλληση και την απόπτωση των κυττάρων. Η έκφραση του CDX2 παρατηρείται στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πεπτικού σωλήνα και κυρίως στα εντεροκύτταρα, που βρίσκονται στις κρύπτες του λεπτού και του παχέος εντέρου και η ενεργότητα του εμφανίζεται σε κύτταρα που υφίστανται διαφοροποίηση(36,37) Ελέγχει την διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων μέσω ενεργοποίησης της μεταγραφής πρωτεϊνών ειδικών για τον πεπτικό σωλήνα όπως η σουρκάση, η ισομαλάση, η καρβονική ανυδράση I και η MUC2. Επίσης σταματά τον κυτταρικό κύκλο όταν προκαλούνται βλάβες στο DNA μέσω ενεργοποίησης και αύξησης ενός cdk αναστολέα, του WAF/p21.(38)

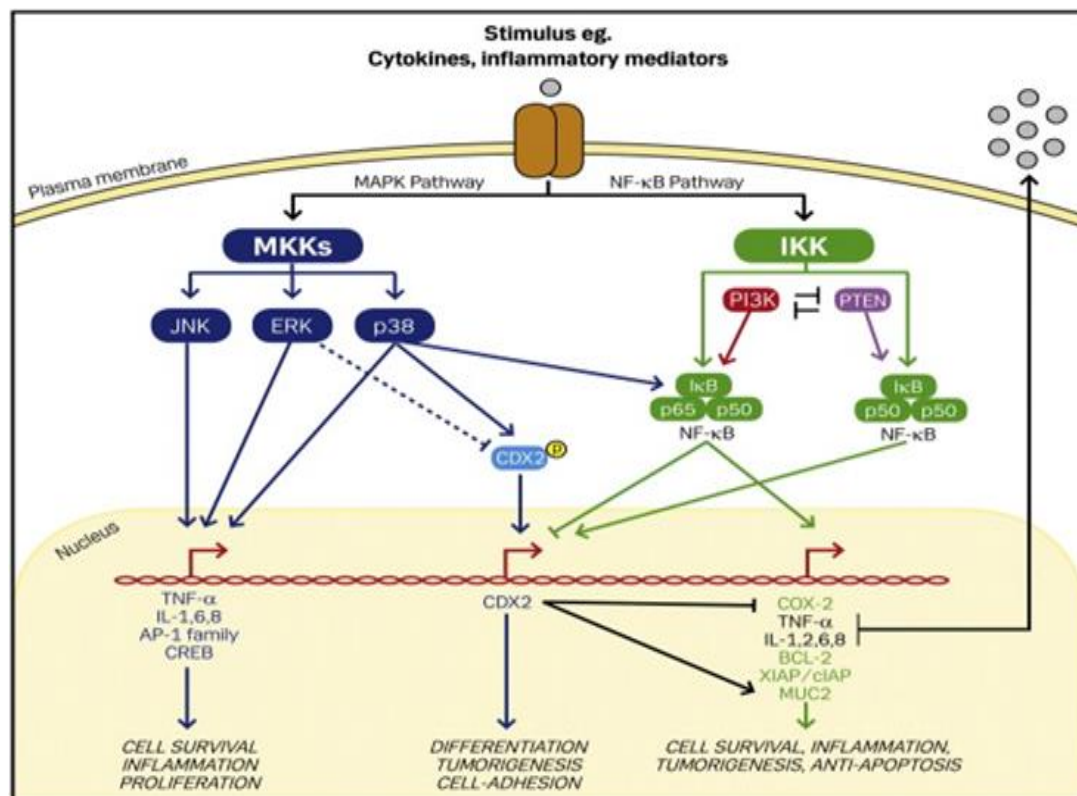
1.8.1.1 CDX2 και κυτταρικός φραγμός

Ο ακριβής ρόλος του CDX2 στην κυτταρική μετανάστευση δεν έχει αποσαφηνιστεί, μελέτες φανερώνουν μηχανισμούς που το CDX2 την επηρεάζει, όπως η μειωμένη έκφραση του CDX2 ενισχύει την μετανάστευση των εντερικών κυττάρων, σε αντίθεση με το γεγονός ότι σε περίπτωση τραύματος η κινητοποίηση των κυττάρων σχετίζεται με αυξημένη έκφραση του CDX2.(37) Το CDX2 επηρεάζει τον υποδοχέα του γονιδίου ELMO3, ενισχύοντας έτσι την GTP-πρωτεΐνη Rac, η οποία παίζει ρόλο στην ανανέωση των κυττάρων στο εντερικό επιθήλιο.(39) Απαραίτητο για την διατήρηση του κυτταρικού φραγμού είναι η παρουσία ακέραιων δομών κυτταρικής πρόσδεσης. Στο μηχανισμό αυτό συμμετέχουν γονίδια κυτταρικής πρόσδεσης όπως τα LI-cadherin, E-cadherin, και Claudin-2 (CLDN2) που αποτελούν στόχο του CDX2.(37)

1.8.1.2 CDX2 και κυτταρική φλεγμονή

Μελέτες σε ασθενείς με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου φανερώνουν ότι η έκφραση του CDX2 επηρεάζεται. Ο παράγοντας TNF-a που εμφανίζει αυξημένες συγκεντρώσεις στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου(ΙΦΝΕ) σχετίζεται με μειωμένη έκφραση του CDX2 και ο παράγοντας που ενεργοποιεί την αλληλουχία είναι ο NF-kB, και συγκεκριμένα η ισορροπία μεταξύ p50-p65. Η σύνδεση διμερών p50/p50 οδηγεί σε ενίσχυση της έκφρασης του CDX2, ενώ του διμερούς p50/p65 μειώνει την έκφραση του γονιδίου. Επίσης η έκφραση αυτών των διμερών καθορίζεται από τα μονοπάτια PTEN και PI3K.(40) Οι κυτταροκίνες εκτός του μονοπατιού NF-kB ενεργοποιούν και το MAPK μονοπάτι, με στόχους τις κινάσες ERK, JNK και p38, οι οποίες σχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη και απόπτωση καθώς και με την φλεγμονώδη απάντηση των κυττάρων. Η ενεργοποίηση της ERK οδηγεί σε φωσφορύλιωση του CDX2 μειώνοντας την δράση του.(37) Το μονοπάτι JNK φαίνεται

να έχει έμμεση επίδραση στο CDX2, μέσω συνεργικής δράσης με τους παράγοντες NF-κB και TNF-α, οι οποίοι λειτουργούν ως ρυθμιστές της έκφρασης του γονιδίου MUC2, γονίδιο στόχος του CDX2, με το JNK να επιδρά αρνητικά στην έκφραση του MUC2 στο επιθήλιο των κυττάρων του παχέος εντέρου, ενισχύοντας την φλεγμονώδη απάντηση των εντερικών κυττάρων.(41) Το CDX2 φαίνεται να εξισορροπεί αυτή την διεργασία μέσω θετικής ενίσχυσης της έκφρασης του MUC2 αναστέλλοντας την φλεγμονώδη διαδικασία.(37) Το CDX2 επιδρά άμεσα στο σύμπλεγμα TRIM31 που αποτελεί ρυθμιστή της πρωτεΐνης NLPP3. Η αδρανοποίηση του CDX2 οδηγεί σε μειωμένη έκφραση του TRIM31, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η έκφραση της NLPP3 και ως επακόλουθο την απελευθέρωση των IL-6 και IL-1b.(42) Αλλαγές στην έκφραση και λειτουργία του CDX2 σχετίζονται με διαταραχή στην ομοιόσταση του εντερικού επιθηλίου και ενεργοποίηση της φλεγμονώδους διεργασίας, όπως παρατηρείται στις (ΙΦΝΕ).(37)



EIKONA 7 Η συμμετοχή του CDX2 σε φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες.

Από: Jahan S, Awaja N, Hess B, Hajjar S, Sad S, Lohnes D. The transcription factor Cdx2 regulates inflammasome activity through expression of the NLRP3 suppressor TRIM31 to maintain intestinal homeostasis. *J Biol Chem.* 2022 Oct;298(10):102386 (42)

1.8.2 Ο ρόλος του CDX2 στον καρκίνο

Η έκφραση του CDX2 σχετίζεται με την διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, μελέτες αποδεικνύουν ότι η έκφραση του εντοπίζεται κυρίως σε εντεροκύτταρα και στο επιθήλιο του πεπτικού σωλήνα αν και εμφανίζεται και σε άλλους ιστούς.(Πιν.4) Η έκφραση του διαφοροποιείται στα αδενοκαρκινώματα του πεπτικού σωλήνα, συχνότερα σε αυτά του παχέος εντέρου. Αυτό το καθιστά ως ένα πιθανό βιοδείκτη για τις συγκεκριμένες κακοήθειες.(43) Η έκφραση του CDX2 παρατηρείται έντονα στον πυρήνα επιθηλιακών κυττάρων του λεπτού και του παχέος εντέρου και σε τμήματα του παγκρεατικού πόρου. Σε αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου εκφράζεται ~90%, σε αυτά που προέρχονται από τον οισοφάγο, τον στόμαχο και τις ωοθήκες ~20-30%, ενώ όσον αφορά καρκινοειδής όγκους παρατηρείται σε ποσοστό μικρότερο του 1% και αφορά συνηθέστερα σε όγκους με προέλευση από το λεπτό έντερο.(44)

1.8.2.1 CDX2 στον καρκίνο οισοφάγου

Η έκφραση του CDX2 εμφανίζει διαφορές μεταξύ των παθήσεων του οισοφάγου, ανεξάρτητα αν οφείλονται σε φλεγμονώδη ή νεοπλασματική διεργασία. Παρατηρείται στην γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση τα χολικά και τα γαστρικά υγρά που δρουν στον κατώτερο οισοφάγο οδηγούν σε υπερέκφραση του CDX2 και των γονιδίων στόχων του σε αντιδιαστολή με το φυσιολογικό επιθήλιο όπου η έκφραση του απουσιάζει.(45) Στον οισοφάγο Barrett επίσης παρατηρείται αύξηση της έκφρασης του CDX2 και φαίνεται το γονίδιο να παίζει ρόλο στην εντερική μεταπλασία του πλακώδους επιθηλίου του οισοφάγου. Στον καρκίνο του οισοφάγου παρατηρείται διαφορά μεταξύ του αδενοκαρκινώματος και του καρκίνου εκ πλακώδων κυττάρων, όπου ο πρώτος σχετίζεται με αυξημένη έκφραση ενώ ο δεύτερος τύπος νεοπλασίας δεν παρουσιάζει έκφραση του γονιδίου.(45,46)

1.8.2.2 CDX2 στον γαστρικό καρκίνο

Στον πυρήνα των γαστρικών κυττάρων δεν παρατηρείται έκφραση του CDX2, ενώ εμφανίζεται συσχέτιση της έκφρασης του σε σημεία με εντερική μεταπλασία ανεξάρτητα αν συνυπάρχουν δυσπλασία ή νεοπλασματική εξεργασία. Η έκφραση του CDX2 εμφανίζει θετική συσχέτιση με προχωρημένη βαθμό δυσπλασίας. Η εντερική μεταπλασία αν και μοιάζει με το εντερικό επιθήλιο του παχέος εντέρου παρουσιάζει χαμηλότερη έκφραση συγκριτικά.(47) Στην εξέλιξη της νεοπλασματικής διαδικασίας από την δυσπλασία στον καρκίνο προοδευτικά η έκφραση του μειώνεται.(36) Η απουσία

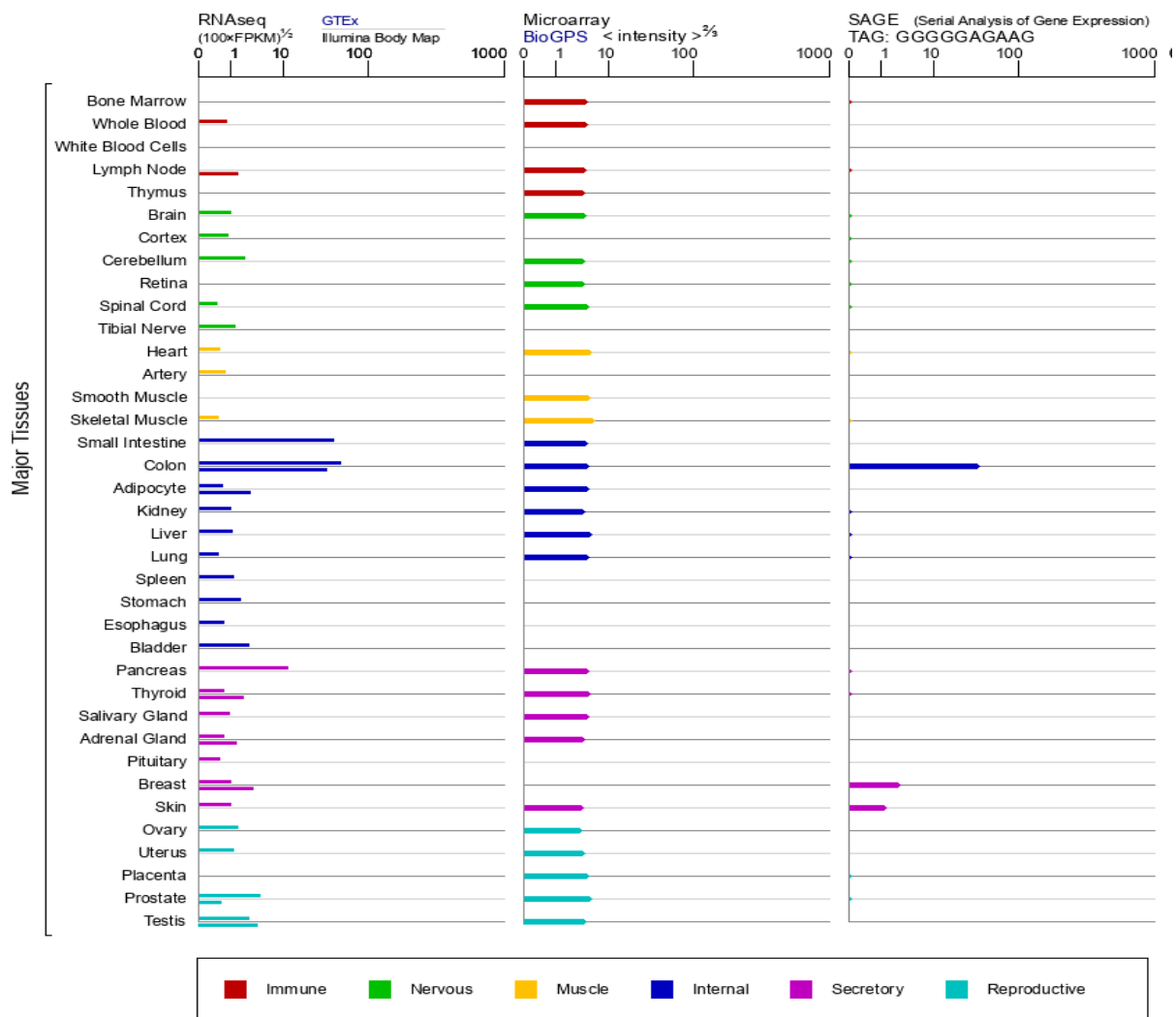
της έκφρασης του μπορεί να αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την λεμφαδενική επέκταση του γαστρικού καρκίνου.(48)

1.8.2.3 CDX2 στον καρκίνο χοληφόρων και παγκρέατος

Αλλαγές στην έκφραση του CDX2 αναγνωρίζονται και σε νεοπλασίες των χοληφόρων και του παγκρέατος. Σε ασθενείς με χολολιθίαση και συνοδό εντερική μεταπλασία το CDX2 ανιχνεύεται περίπου στο 90%. Σε σύγκριση με τον καρκίνο της χοληδόχου κύστεως η ανίχνευση του γονιδίου βρίσκεται σε χαμηλότερα επίπεδα ~35%, και εμφανίζει συσχέτιση με τον βαθμό διαφοροποίησης, όπου η συχνότητα έκφρασης του CDX2 μειώνεται σε χαμηλότερα διαφοροποιημένους όγκους.(49,50) Σε όγκους των εξωηπατικών χοληφόρων το ποσοστό CDX2 θετικών όγκων πλησιάζει το 37%, παρατηρείται συχνότερα στους θηλώδεις και οι όγκοι αυτοί εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης και καλύτερη πρόγνωση.(51) Σε αδενοκαρκινώματα του παγκρέατος το CDX2 εκφράζεται σε ποσοστό μικρότερο του 10%.(52)

1.8.2.4 CDX2 στον καρκίνο ουρογεννητικού συστήματος

Καρκίνοι των ωοθηκών, του ενδομητρίου και του προστάτη εκφράζουν το γονίδιο CDX2. Οι ωοθηκικοί όγκοι με βλενωδή χαρακτηριστικά είναι οι πιο συχνοί με τα δεδομένα από τις μελέτες να εμφανίζουν μεγάλη απόκλιση μεταξύ τους.(36) Στους καρκίνους ενδομητρίου με πλακώδη χαρακτηριστικά θετική έκφραση του CDX2 παρατηρείται περίπου στο 70% και εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση της έκφρασης του CDX2 με την β-κατενίνη.(53) Στον καρκίνο του προστάτη η έκφραση του γονιδίου είναι περίπου 5% και έχει εστιακή εντόπιση.(54)



ΠΙΝΑΚΑΣ 1.4 Η έκφραση του CDX2 σε διαφορετικούς ιστούς.

Από: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CDX2>

1.8.3 Ο ρόλος του CDX2 στον καρκίνο του παχέος εντέρου

Η έκφραση των γονιδίων της οικογένειας CDX συχνά απορρυθμίζεται στον καρκίνο και παρατηρείται ότι έχουν ογκοκατασταλτική αλλά και ογκογενετική δραστηριότητα. Στον καρκίνο του στομάχου και του οισοφάγου η έκφραση του σχετίζεται με το προκαρκινικό στάδιο και μειώνεται όσο προχωράει το στάδιο του όγκου, ενώ στον καρκίνο του παχέος εντέρου φαίνεται να έχει ογκοκατασταλτικό ρόλο, χωρίς αυτό να έχει διευκρινιστεί πλήρως.(55) Η έκφραση του CDX2 σε μικρό ποσοστό απουσιάζει από τα καρκινικά κύτταρα και σύμφωνα με την ανοσοιστοχημεία δεν περιορίζεται μόνο στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων, αλλά επεκτείνεται και στο κυτταρόπλασμα. Η απώλεια της έκφρασης του

CDX2 σχετίζεται με τον βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, το στάδιο κατά TNM, εμφανίζεται συχνότερα σε όγκους του δεξιού κόλου, με ανεπάρκεια του συστήματος MMR, με μεταλλάξεις BRAF και CIMP.(56)

1.8.3.1 Ο ρόλος του CDX2 στο μονοπάτι EMT

Epithelial-mesenchymal transition(EMT) ονομάζεται το μονοπάτι νεοπλασματικής εξεργασίας και αλυσίδας μεταλλάξεων, που έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της πολικότητας των κυττάρων και της πρόσδεσης τους με τα γειτονικά κύτταρα επιδρώντας αρνητικά στην κυτταρική αρχιτεκτονική, δίνοντας στα κύτταρα χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να μεταναστεύουν από την φυσιολογική τους θέση.(57) Η απώλεια της λειτουργικής E-cadherin θεωρείται κομβικό σημείο του EMT, η οποία ρυθμίζεται αρνητικά από μεταγραφικούς παράγοντες όπως το Snail,Slug, Twist και ZEB1.(58,59) Τα σηματοδοτικά μονοπάτια Wnt και PI3K/Akt φαίνεται να παίζουν ρόλο στο EMT, και στην καρκινογένεση του ορθοκολικού καρκίνου. Η β-catenin αποδομείται από ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών (APC,Axin2,CK1,GSK-3β), οι μεταλλάξεις ή η απορρύθμιση του ενεργοποιεί το μονοπάτι Wnt μέσω αυξημένων επιπέδων β-catenin οδηγώντας στην έναρξη της δράσης των c-Myc,Slug,ZEB1 και MMP-7, τα οποία επάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και την διήθηση των καρκινικών κυττάρων.(60)

Το CDX2 λειτουργεί ανασταλτικά στην νεοπλασματική διήθηση και στην μεταστατική διεργασία στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Στην μελέτη των Junhui Yu et al. αναδείχθηκε ότι η κατάργηση της έκφρασης του CDX2 σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου σχετίζεται με αύξηση των μεταναστευτικών χαρακτηριστικών, ενώ στα κύτταρα με ενίσχυση της έκφρασης του γονιδίου δεν παρατηρήθηκε αυτό το χαρακτηριστικό. Επιπλέον η κατάργηση του CDX2 συσχετίστηκε με αύξηση των ηπατικών μεταστάσεων σε επίπεδο in vivo καθώς και μείωση της επιβίωσης των οργανισμών, συμπεραίνοντας ότι η κατάργηση του CDX2 ενισχύει την μεταστατική δυναμική του καρκίνου του παχέος εντέρου.(60)

1.8.3.1.1 CDX2 και Snail/ β-catenin

Η έκφραση του CDX2 έχει αρνητική επίδραση στον παράγοντα Snail, καθώς και η απουσία του Snail αδρανοποιεί την ανασταλτική δράση της έκφρασης του CDX2 στην μεταναστευτική δραστηριότητα των νεοπλασμάτων. Συνεπώς το CDX2 ανταγωνίζεται το EMT μέσω ρύθμισης της λειτουργίας

παραγόντων όπως το Snail.(60) Η έκφραση του CDX2 παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την δραστηριότητα του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K/Akt.(61) Η απώλεια έκφρασης του CDX2 οδηγεί σε φωσφορυλίωση των Akt και GSK-3β με μείωση της δράσης του δεύτερου, ενώ αυτό ρυθμίζει την έκφραση του Snail.(60) Απώλεια έκφρασης του CDX2 καταργεί την φωσφορυλίωση της β-catenin, αυξάνει τον χρόνο ημίσειας ζωής της, ενώ η υπερέκφραση του οδηγεί σε αποδόμηση της. Η κατάργηση της έκφρασης της β-catenin οδηγεί σε μείωση των Slug,ZEB1, ενώ δεν επηρεάζει την έκφραση του Snail,συνεπώς το CDX2 αποσταθεροποιεί την β-catenin μέσω του μονοπατιού PI3K/Akt/GSK-3β.(60)

1.8.3.2 CDX2 και MSI/CIMP status

Τα δύο πιο συχνά μονοπάτια που χαρακτηρίζουν τον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι το CIN και το μονοπάτι των οδοντωτών αδενωμάτων. Χαρακτηριστικά του δεύτερου μονοπατιού είναι η εντόπιση στο δεξιό κόλον, μεταλλάξεις BRAF, η απώλεια έκφρασης MMR πρωτεϊνών και η συμμετοχή του CIMP.(62) Η απώλεια των πρωτεϊνών επιδιόρθωσης οδηγεί σε συσσώρευση μικροδορυφορικών μεταλλάξεων και οι όγκοι χαρακτηρίζονται ως MSI σταθεροί (MSS) ή MSI ασταθείς (MSI-h/MSI-l). Περίπου το 70% προέρχεται από το CIN μονοπάτι, ενώ το υπόλοιπο 30% από των οδοντωτών αδενωμάτων.(56) Απώλεια έκφρασης του CDX2 παρατηρείται περίπου στο 15% των MSI-h όγκων, αν και στην πλειοψηφία των μελετών δεν παρουσιάστηκε σχέση μεταξύ της έκφρασης του CDX2 και του MSI status, ενώ με το CIMP εμφανίζει άμεση συσχέτιση.(56,63) Στην μελέτη των Sakamoto et al δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της απώλειας ή της μειωμένης έκφρασης του CDX2 και των BRAF μεταλλάξεων με την ηλικία, την εντόπιση του όγκου και άλλα χαρακτηριστικά του όγκου, εκτός του ότι οι μεταλλάξεις BRAF συσχετίστηκαν με απουσία dirty necrosis, αλλά η συνύπαρξη τους παρατηρήθηκε σε ποσοστό ~42%.(63)

1.8.3.3 CDX2 ως βιοδείκτης πρόγνωσης στον καρκίνο του παχέος εντέρου

Η επιβίωση των ασθενών με νόσο σταδίου III εμφανίζει σημαντική βελτίωση λόγω των εξελίξεων στην επικουρική χημειοθεραπεία. Ένα μικρό ποσοστό των ασθενών σταδίου II ανήκει στην ομάδα υψηλού κινδύνου για τοπική υποτροπή ή μεταστατική εκδήλωση της νόσου, οι οποίοι πραγματικά θα έχουν όφελος από την επικουρική χημειοθεραπεία.(64) Η 5ετης disease-free survival(DFS) και ο κίνδυνος υποτροπής της νόσου είναι χαμηλότεροι στους ασθενείς με όγκους που δεν εκφράζουν το CDX2.(64) Η επικουρική χημειοθεραπεία φαίνεται να έχει μεγαλύτερο όφελος ανεξαρτήτου σταδίου

(II/III) σε όγκους αρνητικούς για το CDX, με DFS 91%(XMΘ+) έναντι 56%(XMΘ-) για το στάδιο II και 74%(XMΘ+) έναντι 37%(XMΘ-) για το στάδιο III αντίστοιχα.(64) Συνεπώς το CDX2 μπορεί να λειτουργήσει ως βιοδείκτης θετικής ανταπόκρισης στην επικουρική χημειοθεραπεία σε όγκους με απώλεια έκφρασης του CDX2.

Η έκφραση του CDX2 παρουσιάζει αλλαγές συγκριτικά με το σύστημα CMS. Απώλεια της έκφρασης του CDX2 παρατηρείται στο CMS1, το οποίο εμφανίζει χαρακτηριστικά MSI και καλή πρόγνωση και στο CMS4 που εμφανίζει χειρότερη πρόγνωση. Η πρόγνωση όμως στους CDX2 θετικούς όγκους CMS4 βρίσκεται στα ίδια επίπεδα με των CMS1 όγκων.(65)

Η έκφραση του CDX2 στα καρκινικά κύτταρα δεν είναι σταθερή ανάμεσα στις διαφορετικές τομές του ίδιου όγκου, γεγονός που καθιστά την ανοσοϊστοχημεία του γονιδίου ένα πιθανό μη αξιόπιστο προγνωστικό παράγοντα για τους ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου.(66)

Οι ασθενείς με νόσο σταδίου II/III με θετικό CDX2 εμφανίζουν μικρότερο όφελος από την επικουρική χημειοθεραπεία σε σχέση με αυτούς που δεν εκφράζουν το CDX2.(64) Το CDX2 φαίνεται να προάγει την έκφραση της multidrug resistance protein1(MDR1) μέσω πρόσδεσης στον υποκινητή του γονιδίου της ABCB11,η οποία μεταφέρει την 5-FU, έχοντας κάποιο ρόλο στην χημειοανθεκτικότητα του καρκίνου του παχέος εντέρου.(67).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάδειξη συσχέτισης μεταξύ της έκφρασης του γονιδίου CDX2 η οποία ποσοτικοποιήθηκε μέσω digital image analysis, σε σχέση με παράγοντες όπως είναι η ηλικία και το φύλο του ασθενούς, η εντόπιση του όγκου στο παχύ έντερο(δεξιό κόλον- εγκάρσιο κόλον-αριστερό κόλον) ή στο ορθό, το στάδιο TNM της νόσου με επιμέρους σύγκριση ανάλογα με το τοπικό (T) στάδιο και την λεμφαδενική επέκταση (N) της νόσου και σε σύγκριση με τον αριθμό των διηθημένων αλλά και τον συνολικό αριθμό των λεμφαδένων που ανευρέθηκαν στο παρασκευάσμα, η διάμετρος του όγκου και η διαφοροποίηση του όγκου (grade).

2.2 Υλικό και Μεθοδολογία

2.2.1 Δείγματα Ιστού

Τα δείγματα λήφθηκαν από 123 ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνο, με ελεύθερο ιστορικό άλλων νεοπλασιών, οι οποίοι υπεβλήθησαν σε κολεκτομή στο Γενικό Νοσοκομείο Χαλκίδας μεταξύ των ετών 2018-2022. Οι όγκοι κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα με την 7^η έκδοση της UICC TNM classification(3). Οι ασθενείς δεν υποβλήθησαν σε προεγχειρητική χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία. Τα δείγματα του όγκου πάρθηκαν από παρασκευάσματα κολεκτομών σε ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνο. Τα δείγματα μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα φορμαλίνης 10% (>48ώρες).

Στον Πίνακα 1, παρουσιάζονται τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου συνολικά. Στη συγκεκριμένη έρευνα συμμετείχαν συνολικά 123 ασθενείς εκ των οποίων το 50.4% (N=62) παρουσίασαν καρκίνο αριστερού κόλου, το 33.3% (N=41) καρκίνο δεξιού κόλου και το 16.3% (N=20) καρκίνο του ορθού. Από το σύνολο των συμμετεχόντων, το 59.3% (N=73) είναι άνδρες και το 40.7% (N=50) γυναίκες, μέσης ηλικίας 74.75 (\pm 9.66) έτη. Αναφορικά με το βαθμό διαφοροποίησης η πλειοψηφία των ασθενών είχε νόσο βαθμού διαφοροποίησης Grade II (75.6%, N=93) και ακολούθησαν οι ασθενείς με νόσο βαθμού διαφοροποίησης Grade III (15.4%, N=19) και βαθμού διαφοροποίησης Grade I (8.9%, N=11). Σύμφωνα με το σύστημα σταδιοποίησης TNM, η πλειοψηφία των ασθενών εντοπίζεται με καρκίνο κατηγορίας T3 (64.2%, N=79), N0 (56.1%, N=69)

και M0 (95.9%, N=118). Η μέση μέγιστη διάμετρος του όγκου ήταν περίπου 4.5 cm. Κατά μέσο όρο, οι διηθημένοι και οι εξαιρεθέντες λεμφαδένες ήταν περίπου 2 και 19, αντίστοιχα. Σχετικά με το στάδιο της νόσου, το 40.7% (N=50) είχε στάδιο III, το 35% (N=43) στάδιο II, το 20.3% (N=25) στάδιο I και τέλος το 4.1% (N=5) στάδιο IV. Η μέση τιμή της μέτρησης CDX2 ήταν 130.26 (\pm 18.35)

	Σύνολο	
	N	%
Φύλο		
<i>Γυναίκα</i>	50	40.7
<i>Άντρας</i>	73	59.3
Ηλικία		
<i>Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)</i>	74.75(9.66)	
<i>Ελάχιστη-Μέγιστη</i>	45-93	
Εντόπιση		
<i>Αριστερό</i>	62	50.4
<i>Δεξιό</i>	41	33.3
<i>Ορθό</i>	20	16.3
Grade		
<i>I</i>	11	8.9
<i>II</i>	93	75.6
<i>III</i>	19	15.4
T		
<i>T1</i>	11	8.9
<i>T2</i>	18	14.6
<i>T3</i>	79	64.2
<i>T4</i>	15	12.2
Μέγιστης διάμετρος όγκου (cm)		
<i>Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)</i>	4.56(1.84)	
<i>Ελάχιστη-Μέγιστη</i>	0.7-10	
N		
<i>N0</i>	69	56.1
<i>N1</i>	39	31.7
<i>N2</i>	15	12.2
Διηθημένοι Λεμφαδένες		
<i>Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)</i>	1.46(2.83)	
<i>Ελάχιστη-Μέγιστη</i>	0-17	
Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες		
<i>Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)</i>	18.48(7.11)	
<i>Ελάχιστη-Μέγιστη</i>	4-41	
M		
<i>M0</i>	118	95.9
<i>M1</i>	5	4.1
Στάδιο		
<i>I</i>	25	20.3
<i>II</i>	43	35.0
<i>III</i>	50	40.7
<i>IV</i>	5	4.1
CDX2		
<i>Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)</i>	130.26(18.35)	

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2 Αναλυτική καταγραφή Εξεταζόμενων περιστατικών

A/A	ID	ΦΥΛΟ	ΗΛΙΚΙΑ	ΕΝΤΟΠΙΣΗ	GRADE	STAGE (TNM 7 th EDITION)	ΜΕΓΙΣΤΗ ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΟΓΚΟΥ	CDX2
1	627/18/Γ1	ΘΗΛ	73	ΟΡΘΟΣΙΓΜ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/18)-M0 (II)	5cm	125.09
2	655/18/Γ1	ΘΗΛ	70	ΟΡΘΟΣΙΓΜ(ΑΡ)	II	T3-N1(1/16)-M0 (IIIa)	3.5cm	134.55
3	673/18/Γ3	ΑΡΕΝ	66	ΟΡΘΟ	II	T2-N2(8/20)-M0 (IIIb)	3.8cm	81.76
4	734/18/Γ1	ΑΡΕΝ	71	ΟΡΘΟΣΙΓΜ(ΑΡ)	I	T2-N0(0/26)-M0 (I)	4.5cm	119.05
5	793/18/ΓΧ	ΑΡΕΝ	60	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N1(2/11)-M0 (IIIb)	4.2cm	131.22
6	832/18/Γ1	ΑΡΕΝ	80	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N2(9/21)-M0 (IIIc)	4cm	132.44
7	869/18/Γ3	ΘΗΛ	74	ΟΡΘΟ	II	T3-N1(3/15)-M0 (IIIb)	2.5cm	134.09
8	881/18/Γ1	ΘΗΛ	73	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	III	T4B-N0(0/22)-M0 (II)	7.5cm	179.83
9	927/18/Γ1	ΑΡΕΝ	82	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/14)-M0 (II)	3.5cm	80.91
10	954/18/Γ3	ΘΗΛ	84	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/8)-M0 (II)	3cm	91.28
11	1032/18/Γ2	ΑΡΕΝ	60	ΔΕ ΚΟΛΟΝ	III	T3-N2(17/24)-M0 (IIIb)	8cm	136.77
12	55/19/Γ2	ΘΗΛ	90	ΟΡΘΟ	III	T4-N2(6/8)-M0 (IIIc)	4cm	171.83
13	150/19/Γ2	ΑΡΕΝ	91	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N1B(3/22)-M0 (IIIb)	4cm	139.99
14	161/19/Γ1	ΘΗΛ	65	ΟΡΘΟ	I	T1-N0(0/22)-M0 (I)	3cm	131.49
15	207/19/Γ2	ΑΡΕΝ	72	ΕΓΚΑΡΣΙΟ(ΔΕ)	II	T3-N1(2/7)-M0 (IIIb)	4cm	140.88
16	218/19/Γ1	ΑΡΕΝ	73	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/12)-M0 (II)	5.3cm	135.56
17	231/19/Γ1	ΑΡΕΝ	81	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	II	T4-N1B(2/15)-M0 (IIIb)	5cm	177.65
18	329/19/Γ3	ΑΡΕΝ	89	ΟΡΘΟ	III	T3-N1B(2/21)-M0 (IIIb)	6.5cm	142.33
19	401/19/Γ2	ΑΡΕΝ	73	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	I	T2-N0(0/19)-M0 (I)	6.5cm	100.09
20	413/19/Γ1	ΘΗΛ	86	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/18)-M0 (II)	4cm	151.51
21	505/19/Γ4	ΑΡΕΝ	62	ΟΡΘΟ	II	T2-N0(0/18)-M0 (I)	4.5cm	156.77
22	529/19/Γ4	ΘΗΛ	72	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1B(3/21)-M0 (IIIb)	4cm	142.33
23	616/19/Γ1	ΑΡΕΝ	66	ΟΡΘΟ	II	T2-N0(0/7)-M0 (I)	3.7cm	141.86
24	663/19/Γ1	ΑΡΕΝ	88	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N0(0/17)-M0 (II)	3.5cm	98.99
25	666/19/Γ5	ΑΡΕΝ	87	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N0(0/17)-M0 (II)	8cm	124.61
26	710/19/Γ3	ΘΗΛ	57	ΟΡΘΟ	II	T2-N0(0/12)-M0 (I)	4.5cm	127.82
27	752/19/Γ1	ΑΡΕΝ	60	ΟΡΘΟ	II	T1-N0(0/18)-M0 (I)	4.7cm	130.08
28	764/19/Γ2	ΑΡΕΝ	71	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N2A(6/19)-M0 (IIIb)	3.5cm	124.42
29	858/19/Γ4	ΘΗΛ	67	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T4A-N0(0/23)-M0 (II)	7.5cm	123.88
30	881/19/Γ3	ΑΡΕΝ	70	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1A(1/40)-M0 (IIIb)	4.5cm	121.05
31	922/19/Γ3	ΘΗΛ	65	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	III	T4A-N2A(4/20)-M1 (IV)	3.5cm	178.88
32	1333/19/Γ4	ΑΡΕΝ	55	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N1(1/19)-M0 (IIIb)	5cm	131.82
33	1336/19/Γ3	ΑΡΕΝ	85	ΟΡΘΟ	II	T2-N0(0/4)-M0 (I)	2.4cm	91.12
34	1357/19/Γ3	ΑΡΕΝ	67	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T2-N0(0/27)-M0 (I)	4cm	129.06
35	1360/19/Γ3	ΑΡΕΝ	59	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1(2/24)-M0 (IIIb)	3.3cm	126.77
36	70/20/Γ2	ΑΡΕΝ	85	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	I	T1-N0(0/8)-M0 (I)	0.7cm	126.54
37	31/20/Γ3	ΘΗΛ	90	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N0(0/26)-M0 (II)	4.5cm	91.22
38	267/20/Γ1	ΑΡΕΝ	89	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	I	T1-N0(0/13)-M0 (I)	4.5cm	121.34
39	329/20/Γ4	ΑΡΕΝ	58	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1B(2/14)-M0 (IIIb)	4cm	136.07
40	357/20/Γ2	ΑΡΕΝ	92	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1C(0/5)-M0 (IIIb)	3.5cm	141.96
41	382/20/Γ1	ΘΗΛ	76	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1A(1/15)-M0 (IIIb)	3cm	124.54
42	384/20/Γ2	ΘΗΛ	66	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N1B(2/13)-M1 (IV)	6cm	131.24
43	389/20/Γ5	ΑΡΕΝ	64	ΟΡΘΟ	II	T3-N0(0/24)-M0 (II)	7.5cm	133.45
44	400/20/Γ5	ΘΗΛ	83	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/20)-M0 (II)	4cm	130.09
45	431/20/Γ5	ΘΗΛ	78	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	III	T4A-N2A(5/19)-M0(IIIc)	3.7cm	139.88
46	632/20/Γ3	ΘΗΛ	89	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	III	T3-N0(0/23)-M0 (II)	6.5cm	131.22
47	635/20/Γ3	ΘΗΛ	71	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1B(3/15)-M0 (IIIb)	4cm	81.76
48	690/20/ΓΧ	ΑΡΕΝ	73	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	III	T4A-N1B(3/24)-M0 (IIIb)	4.5cm	100.09
49	705/20/Γ3	ΑΡΕΝ	70	ΟΡΘΟ	II	T3-N1B(2/24)-M1 (IV)	5cm	128.99
50	763/20/Γ2	ΑΡΕΝ	75	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	III	T3-N0(0/21)-M0 (II)	4.5cm	99.54
51	816/20/Γ1	ΑΡΕΝ	61	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N2A(4/37)-M0 (IIIb)	4.4cm	134.77
52	849/20/Γ1	ΘΗΛ	84	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T2-N0(0/11)-M0 (I)	5.5cm	129.01
53	856/20/Γ1	ΑΡΕΝ	81	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/12)-M0 (II)	4.3cm	131.78
54	975/20/Γ3	ΑΡΕΝ	85	ΟΡΘΟΣΙΓΜ(ΑΡ)	II	T2-N1A(1/27)M0 (IIIa)	7cm	136.66
55	1032/20/Γ3	ΑΡΕΝ	69	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/13)M0 (II)	1.5cm	125.03
56	1045/20/Γ1	ΘΗΛ	86	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	III	T3-N1B(2/17)-M0 (IIIb)	3.5cm	141.12

57	1078/20/T5	ΘΗΛ	60	ΟΡΘΟ	II	T3-N0(0/34)-M0 (II)	4.5cm	130.07
58	1112/20/T3	ΑΡΕΝ	80	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N0(0/28)-M0 (II)	4cm	91.63
59	1215/20/T4	ΑΡΕΝ	93	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T4B-N1B(2/20)-M0 (IIIc)	6cm	134.44
60	1217/20/T5	ΑΡΕΝ	75	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	I	T1-N0(0/18)-M0 (I)	8cm	142.33
61	1246/20/T6	ΘΗΛ	80	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T4A-N1A(1/21)-M0 (IIIb)	6cm	99.98
62	83/21/T5	ΑΡΕΝ	71	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/14)-M0 (II)	6cm	128.99
62	143/21/T2	ΑΡΕΝ	86	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N2B(15/21)-M0 (IIIc)	6.5cm	131.83
64	188/21/T6	ΑΡΕΝ	73	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	III	T3-N1A(1/19)-M0 (IIIb)	10cm	141.23
65	239/21/T4	ΑΡΕΝ	75	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/17)-M0 (II)	7cm	139.02
66	246/21/T3	ΘΗΛ	71	ΟΡΘΟ	II	T2-N1B(2/13)-M0 (IIIa)	2cm	120.65
67	307/21/T2	ΑΡΕΝ	82	ΟΡΘΟ	II	T3-N0(0/13)-M0 (II)	2cm	132.87
68	310/21/T2	ΑΡΕΝ	69	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T2-N0(0/14)-M0 (I)	2.5cm	140.91
69	460/21/T1	ΘΗΛ	65	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T1-N0(0/13)-M0 (I)	3cm	149.81
70	517/21/T1	ΑΡΕΝ	83	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/30)-M0 (II)	5.8cm	127.88
71	536/21/T1	ΑΡΕΝ	69	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/24)-M0 (II)	4cm	121.97
72	589/21/T3	ΑΡΕΝ	63	ΟΡΘΟ	II	T3-N1B(3/26)-M0 (IIIb)	3.5cm	123.55
73	651/21/T4	ΘΗΛ	78	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	II	T3-N0(0/8)-M0 (II)	5.5cm	139.76
74	721/21/T7	ΑΡΕΝ	73	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T4A-N2A(6/31)-M0(IIIc)	3.3cm	128.05
75	732/21/T1	ΘΗΛ	62	ΟΡΘΟ	II	T3-N1B(3/18)M0 (IIIa)	3.3cm	90.09
76	797/21/T1	ΑΡΕΝ	67	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/21)-M0 (II)	2cm	121.03
77	810/21/T1	ΘΗΛ	83	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	III	T3-N0(0/19)-M0 (II)	6.5cm	145.67
78	814/21/T5	ΑΡΕΝ	65	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	III	T4B-N1A(1/21)-M0(IIIb)	5.5cm	135.09
79	1037/21/T1	ΘΗΛ	74	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/18)-M0 (II)	4cm	133.04
80	1069/21/T1	ΑΡΕΝ	67	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N1B(2/18)-M0 (IIIb)	5.5cm	169.87
81	1114/21/X1	ΘΗΛ	74	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/19)-M0 (II)	1.5cm	139.08
82	1280/21/T2	ΑΡΕΝ	77	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T2-N0(0/16)-M0 (I)	6cm	151.22
83	1309/21/T1	ΘΗΛ	74	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	I	T1-N0(0/19)-M0 (I)	2cm	141.56
84	1336/21/T4	ΘΗΛ	77	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	III	T3-N2B(12/15)-M1 (IV)	5.5cm	150.76
85	1379/21/T1	ΑΡΕΝ	84	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N1C(0/12)-M0 (IIIb)	7cm	132.28
86	1641/21/T5	ΑΡΕΝ	68	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N0(0/29)-M0 (II)	7cm	141.04
87	1747/21/T1	ΑΡΕΝ	65	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	II	T4B-N0(0/17)-M0 (II)	3cm	139.54
88	1839/21/T1	ΑΡΕΝ	76	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3-N0(0/15)-M0 (II)	5cm	130.59
89	2030/21/T1	ΘΗΛ	84	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	III	T3-N0(0/18)-M0 (II)	3.5cm	150.87
90	2103/21/T4	ΘΗΛ	82	ΕΓΚΑΡΣΙΟ(ΔΕ)	II	T4B-N0(0/11)-M0 (II)	4.5cm	132.08
91	2123/21/T3	ΑΡΕΝ	80	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T2-N0(0/21)-M0 (I)	2.5cm	135.62
92	2346/21/T1	ΑΡΕΝ	77	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T2-N0(0/9)-M0 (I)	4cm	129.08
93	2485/21/T1	ΑΡΕΝ	57	ΣΙΜΓΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3-N2A(4/27)-M0 (IIIb)	4cm	128.93
94	106/22/T2	ΘΗΛ	85	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	III	T2-N0(0/27)-M0 (I)	5.5cm	167.65
95	128/22/T2	ΘΗΛ	69	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	I	T1-N0(0/7)-M0 (I)	1.8cm	129.89
96	215/22/T1+T4	ΘΗΛ	78	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	III	T2N0(0/14)M1 (IV)	2.5cm	139.87
97	338/22/T1	ΑΡΕΝ	76	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3N1B(2/32)M0 (IIIb)	5.5cm	128.76
98	386/22/T5	ΑΡΕΝ	74	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3N0(0/22)M0 (II)	4.5cm	121.74
99	393/22/T1	ΘΗΛ	64	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3N1C(0/30)M0 (IIIb)	6cm	100.73
100	538/22/T1	ΘΗΛ	77	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3N0(0/17)M0 (II)	4cm	123.98
101	575/22/T2	ΑΡΕΝ	84	ΟΡΘΟ	II	T1N0(0/10)M0 (I)	2cm	134.31
102	589/22/T2	ΘΗΛ	62	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	II	T3N0(0/17)M0 (II)	3.2cm	119.87
103	779/22/T1	ΘΗΛ	66	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	I	T1N0(0/26)M0 (I)	3.5cm	110.98
104	892/22/T4	ΑΡΕΝ	86	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N0(0/15)M0 (II)	3.5cm	119.87
105	896/22/T1	ΘΗΛ	74	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N2A(6/26)M0 (IIIb)	3cm	118.04
106	1040/22/T2	ΑΡΕΝ	86	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3N1C(0/14)M0(X2)(IIIb)	5cm	120.04
107	1046/22/T1	ΘΗΛ	80	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3N1A(1/15)M0 (IIIb)	4cm	121.12
108	1201/22/T4	ΘΗΛ	74	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N0(0/31)M0 (II)	2.5cm	124.43
109	1355/22/T5	ΑΡΕΝ	68	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N0(0/12)M0 (II)	10cm	128.93
110	1384/22/T4	ΑΡΕΝ	84	ΟΡΘΟ	III	T3N2A(5/19)M0 (IIIb)	7cm	138.72
111	1567/22/T5	ΘΗΛ	90	ΕΓΚΑΡΣΙΟ(ΔΕ)	II	T4BNO(0/18)M0 (II)	9cm	132.05
112	1619/22/T3	ΑΡΕΝ	81	ΚΑΤΙΟΝ(ΑΡ)	II	T3N1B(3/14)M0 (IIIb)	6cm	121.33
113	1694/22/T1	ΑΡΕΝ	85	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N1A(1/41)M0 (IIIb)	7.5cm	137.03
114	1737/22/T5	ΑΡΕΝ	71	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	I	T1N0(0/21)M0 (I)	4.5cm	132.21
115	1734/22/T1	ΘΗΛ	79	ΟΡΘΟ	II	T3N1A(1/17)M0 (IIIb)	10cm	130.88
116	1837/22/T1	ΘΗΛ	70	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3N1B(2/10)M0 (IIIb)	3cm	128.54
117	1864/22/T5	ΑΡΕΝ	60	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N0(0/29)M0 (II)	4.5cm	136.08
118	1990/22/T1	ΑΡΕΝ	88	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T3N0(0/6)M0 (II)	2.3cm	129.43
119	2073/22/T1	ΑΡΕΝ	76	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	III	T3N2B(7/18)M0 (IIIc)	4cm	149.06
120	2167/22/T4	ΘΗΛ	85	ΑΝΙΟΝ(ΔΕ)	II	T3N0(0/15)M0 (II)	2cm	138.99
121	2181/22/T4	ΘΗΛ	45	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ(ΑΡ)	II	T4N1B(2/7)M0 (IIIb)	5cm	130.98
122	2227/22/T1	ΘΗΛ	83	ΤΥΦΛΟ(ΔΕ)	I	T2N0(0/16)M0 (I)	2.5cm	159.77
123	2272/22/T3	ΑΡΕΝ	86	ΣΙΓΜΟΕΙΔΕΣ	II	T3N1C(0/14)M0(IIIb)	5cm	120.04

Control group (n=10) benign colon epithelia

mean value

119.74

2.2.2 Ανοσοϊστοχημεία

Αρχή της διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής (IHC) χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίχρωση (αιματοξυλίνη) και να καλυφθεί με καλυπτρίδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με χρήση οπτικού μικροσκοπίου και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Μεθοδολογία ανοσοϊστοχημείας για χρήση αντισωμάτων σε ιστό εγκλεισμένο σε παραφίνη.

1. Αφαιρέστε την παραφίνη από τις τομές σε ξυλένιο ή υποκατάστατα ξυλενίου ή αν γίνει σε αυτοματοποιημένο μηχάνημα πχ. Στη δική μας περίπτωση με **EZ Prep solution (EZ Preparation)** is used for paraffin removal from tissue samples during immunohistochemistry
2. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
3. Αποκάλυψη αντιγόνου (Antigen retrieval **Cell Conditioning (CC1)** βλέπε πιο κάτω την ιδιότητα αυτού του ρυθμιστικού διαλύματος καθώς επίσης και στο πινακάκι στο τέλος σε ποια θερμοκρασία χρησιμοποιείται
4. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
5. Εξουδετερώστε την ενδογενή υπεροξειδάση με χρήση 0,5% v/v υπεροξειδίου του υδρογόνου/μεθανόλης επί 10 λεπτά.
6. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
7. Επώαστε τις τομές με βέλτιστα αραιωμένο πρωτοταγές αντίσωμα Rabbit anti-human CDX2 Monoclonal Antibody (Clone EP25)
8. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
9. Επώαστε με το Post Primary Block επί 10 λεπτά. OptiView HQ Universal Linker contains a cocktail of HQ labeled (HQ is a proprietary hapten covalently attached to the goat antibodies) antibodies (goat anti-mouse IgG, goat anti-mouse IgM, and goat anti-rabbit)

10. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
11. Επλώστε με το Polymer OptiView HRP Multimer contains a mouse monoclonal anti-HQ-labeled HRP tertiary antibody
12. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
13. Επλώστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε DAB.
14. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
15. Αντιχρωματίστε με αιματοξυλίνη.
16. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
17. Επώαση με Bluing Reagent is applied after hematoxylin and changes the hue of the hematoxylin to a blue color.
18. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με Reaction Buffer.
19. Αφυδάτωση και διαύγαση των τομών με διαδοχική εμφύσηση σε ανιούσας συγκέντρωσης διαλύματα αιθανόλης και ξυλόλης για 5 min στο καθένα
20. Επικάλυψη με καλυπτρίδα

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ :

EZ Prep Concentrate (10X) - Το διάλυμα EZ Prep Concentrate (10X) (EZ Prep) χρησιμοποιείται για την αφαίρεση παραφίνης από δείγματα ιστού κατά τη διάρκεια της ανοσοϊστοχημείας. Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση (IVD). Κάντε τα εξής για να παρασκευάσετε αραιωμένο (1X) διάλυμα.

Cell Conditioning¹ (CC1) – Το Διάλυμα Κυττάρου Conditioning (CC1) είναι ένα προ-αραιωμένο διάλυμα που χρησιμοποιείται ως στάδιο προεπεξεργασίας στην επεξεργασία δειγμάτων ιστού για IHC. Το CC1 είναι ένα ρυθμιστικό διάλυμα με βάση το tris που δεν πρέπει να αραιώνεται. Η στερέωση του ιστού από φορμαλίνη έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των ομάδων αλδεϋδης και αμινοξέων που υπάρχουν στον ιστό. Ο σχηματισμός αυτών των δεσμών μετουσιώνει την πρωτεΐνη και μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της αντιγονικότητας. Επιπλέον, η φορμαλδεϋδη μπορεί να σχηματίσει γέφυρες μεθυλενίου που διασυνδέουν πρωτεΐνες ιστού, μειώνοντας έτσι τη διείσδυση του ιστού σε μεγάλα μόρια όπως τα αντισώματα. Το CC1 είναι ένα ρυθμιστικό διάλυμα με βάση το tris με ελαφρώς βασικό pH, το οποίο, σε υψηλές θερμοκρασίες είναι ικανό να υδρολύει τους ομοιοπολικούς δεσμούς που σχηματίζονται από τη φορμαλίνη στον ιστό. Η αφαίρεση αυτών των δεσμών επιτρέπει την επαναδιάταξη των μορίων πρωτεΐνης και αυξάνει την προσβασιμότητα των

αντισωμάτων. Συχνά αυτές οι αλλαγές έχουν ως αποτέλεσμα σημαντικά κέρδη στη δέσμευση αντισωμάτων και βελτιωμένες αναλογίες σήματος προς θόρυβο. Η αυτοματοποιημένη χρώση slide θερμαίνει αυτόματα τη διαφάνεια στην κατάλληλη θερμοκρασία και χρόνο που επιλέγει ο χρήστης.

Reaction Buffer (10X) - Reaction Buffer Concentrate (10X) είναι ένα ρυθμιστικό διάλυμα με βάση το Tris (pH 7,6 ± 0,2) που χρησιμοποιείται για το ξέπλυμα των πλακών μεταξύ των σταδίων χρώσης και την παροχή ενός σταθερού υδατικού περιβάλλοντος για την ανοσοϊστοχημεία (IHC). Το ρυθμιστικό διάλυμα αντίδρασης Ventana χρησιμοποιείται ως βασικό συστατικό για τη διατήρηση ενός κατάλληλου υδατικού περιβάλλοντος για να συμβαίνουν πολλές αντιδράσεις κατά τη διάρκεια IHC και ISH, όπως γενική πλύση, επώαση αντισωμάτων και επώαση ενζύμων και άλλων βοηθητικών υλικών όταν χρησιμοποιείται στην αυτοματοποιημένη χρώση αντικειμένων.

Η αντίδραση IHC περιλαμβάνει ένα ειδικό αντίσωμα που εντοπίζεται από μια σύνθεση δευτερογενούς αντισώματος συζευγμένη με βιοτίνη που αναγνωρίζει ανοσοσφαιρίνες κουνελιού και ποντικού.

Στο τέλος κάθε σταδίου επώασης, ο αυτοματοποιημένος χρωματιστής πλακών Ventana πλένει τα τμήματα με ρυθμιστικό διάλυμα αντίδρασης για να σταματήσει την αντίδραση και να αφαιρέσει το μη δεσμευμένο υλικό που θα παρεμπόδιζε την επιθυμητή αντίδραση στα επόμενα βήματα.

Το **OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView)** είναι ένα έμμεσο σύστημα χωρίς βιοτίνη για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων IgG ποντικού, IgM ποντικού και κουνελιού. Το κιτ προορίζεται για την αναγνώριση στόχων με ανοσοϊστοχημεία (IHC) σε τομές σταθεροποιημένου με φορμαλίνη, ενσωματωμένου σε παραφίνη και κατεψυγμένου ιστού που βάφονται στους αυτοματοποιημένους χρωματιστές διαφανειών VENTANA και οπτικοποιούνται με μικροσκόπιο φωτός. Αυτό το προϊόν θα πρέπει να ερμηνεύεται από εξειδικευμένο παθολόγο σε συνδυασμό με την ιστολογική εξέταση, τις σχετικές κλινικές πληροφορίες και τους κατάλληλους ελέγχους. Αυτό το προϊόν προορίζεται για χρήση in vitro διαγνωστικής (IVD). (DAB) υπόστρωμα υπεροξειδίου του υδρογόνου χρωμογόνου και τετραϋδροχλωρική 3, 3'-διαμινοβενζιδίνη, που παράγει ένα καφέ ίζημα που παρατηρείται εύκολα με μικροσκόπιο φωτός.

Hematoxylin Counter Stain - Το αντιδραστήριο αντιχρώσης Hematoxylin είναι μια τροποποιημένη αιματοξυλίνη Gill's και προορίζεται για χρώση κυτταρικών πυρήνων σε πλακίδια που περιέχουν κύτταρα από κατεψυγμένο ιστό, σταθεροποιημένο με φορμαλίνη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό ή κυτταρολογικά παρασκευάσματα.

Bluing Reagent / Post counter stain - Το Blueing Reagent δρα μέσω της συνδυασμένης επίδρασης των ιόντων λιθίου και αυξάνοντας το pH του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε μπλε των χρωματισμένων τμημάτων με αιματοξυλίνη. Το Blueing Reagent εφαρμόζεται μετά την αιματοξυλίνη και αλλάζει την απόχρωση του η αιματοξυλίνη σε μπλε χρώμα.

Procedure	Method	Indications
Deparaffinization	EZ PREP	for 4 minutes at 72°C
Antigen Unmasking	Cell Conditioning 1 (CC1)	Heating time at max. temp: 80 min Heating temp: 100°C
Primary Antibody	Incubation antibody ready to use	Time / T°: DEPENDS min Temp / 37°C
Amplification / Detection	OptiView DAB IHC Detection Kit (POLYMER KIT)	Default-Incubation time linker:T°8 min/ Temp / 36°C -Incubation time multimer: 8 min Temp / 36°C
Counterstain	Hematoxylin II	Time/ T° 16 min
Post Counterstain	Bluing reagent	Time/ T° 16 min

Ψηφιακή ανάλυση εικόνας (Digital Image Analysis)

Οι μετρήσεις έκφρασης των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκαν με ψηφιακή ανάλυση εικόνας (Digital Image analysis-DIA). Τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης PLA2G2A, PLA2G3, PRDX-6 αξιολογήθηκαν ποσοτικά με εκτίμηση των αντίστοιχων επιπέδων έντασης χρώσης (αξιολόγηση πυκνομετρίας) στα χρωματισμένα κακοήθη κύτταρα. Πραγματοποιήσαμε DIA χρησιμοποιώντας ένα ημι-αυτόματο σύστημα [hardware: Microscope CX-31, (Olympus, Melville, NY, USA) εξοπλισμένο με ψηφιακή κάμερα (Sony, Tokyo, Japan). Windows XP/NIS-Elements Software AR v3.0, (Nikon Corp, Tokyo, Japan)]. Εντοπίστηκαν περιοχές ενδιαφέροντος ανά τομή ιστού (5 οπτικά πεδία σε μεγέθυνση ×400) και καταχωρήθηκαν σε μια ψηφιακή βάση δεδομένων ως στιγμιότυπα. Οι μετρήσεις

πραγματοποιήθηκαν με την εφαρμογή μιας συγκεκριμένης μακροεντολής (διάχυτη μεμβρανώδης και κυτταροπλασματική/υπομεμβρανώδης έκφραση για κύτταρα όγκου, σύμφωνα με το φύλλο δεδομένων του κατασκευαστή). Με βάση έναν αλγόριθμο, μετρήθηκε ανεξάρτητα η ένταση της χρώσης των τομών φυσιολογικού ιστού (μάρτυρας) και συγκρίθηκε με τις αντίστοιχες τιμές σε τομές κακοήθους ιστού. Ένα ευρύ φάσμα τιμών συνεχούς κλίμακας του γκρι (0-255) στην ανάλυση RedGreenBlue (RGB) ήταν διαθέσιμο για τη διάκριση διαφορετικών επιπέδων έκφρασης πρωτεΐνης. Σε αυτήν την ψηφιοποιημένη διαδικασία, οι τιμές της έντασης της ανοσοχρώσης που μειώνονται στο 0 θεωρούνται ως προοδευτική υπερέκφραση του δείκτη, ενώ οι τιμές που αυξάνονται στο 255 δείχνουν προοδευτική απώλεια της έντασης της χρώσης. Όλα τα αποτελέσματα και οι τιμές DIA φαίνονται στους πίνακες των αποτελεσμάτων .

2.2.3 Στατιστική Ανάλυση

Μεθοδολογία

Οι συνεχείς μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη, περιγράφονται μέσω των μέτρων κεντρικής θέσης (μέση τιμή και διάμεσος) καθώς και των μέτρων διασποράς (τυπική απόκλιση, ελάχιστη και μέγιστη τιμή), ενώ οι ποιοτικές μεταβλητές εκφράζονται ως πλήθος και ποσοστό των συμμετεχόντων σε κάθε κατηγορία της μεταβλητής.

Στη συνέχεια, ελέγχθηκε η υπόθεση της κανονικότητας για τις ποσοτικές μεταβλητές, καθώς η επιλογή των κατάλληλων στατιστικών ελέγχων καθορίζεται με βάση την ισχύ ή όχι της συγκεκριμένης υπόθεσης. Ο έλεγχος της υπόθεσης κανονικότητας των μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των ελέγχων Shapiro-Wilk, για δείγματα κάτω των 30 πειραματικών μονάδων, και Kolmogorov-Smirnov, για δείγματα άνω των 30. Οι υποθέσεις που ελέγχθηκαν είναι της ακόλουθης μορφής:

H₀: Η κατανομή των δεδομένων δε διαφέρει από την κανονική κατανομή

H₁: Η κατανομή των δεδομένων διαφέρει από την κανονική κατανομή

Αν το p-value είναι μικρότερο του 0.05 ($p < 0.05$), απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση και η κατηγορία της ερώτησης δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή, ενώ αν το p-value είναι μεγαλύτερο του 0.05 ($p > 0.05$), τότε η κατηγορία της ερώτησης ακολουθεί την κανονική κατανομή.

Για τον έλεγχο της σχέσης μεταξύ δύο ποσοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman (r), ο οποίος εφαρμόστηκε στην περίπτωση όπου οι μεταβλητές δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Η συσχέτιση θεωρείται χαμηλή όταν ο συντελεστής συσχέτισης (r)

κυμαίνεται από 0.1 έως 0.3, μέτρια όταν ο συντελεστής συσχέτισης κυμαίνεται από 0.3 έως 0.5 και υψηλή όταν ο συντελεστής είναι μεγαλύτερος από 0.5.

Για τον έλεγχο της ισότητας των μέσων τιμών δύο δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική διαδικασία Mann-Whitney, η οποία δεν προϋποθέτει την κανονικότητα των δεδομένων. Χρησιμοποιήθηκε, επιπλέον, ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal-Wallis, ο οποίος δεν απαιτεί την υπόθεση της κανονικότητας των μεταβλητών, για να αξιολογηθούν πιθανές διαφορές στις μέσες τιμές τριών και πάνω δειγμάτων καθώς και ο post-hoc έλεγχος Bonferroni για διόρθωση πολλαπλών συγκρίσεων.

Τέλος, εφαρμόστηκε πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης για την εύρεση της σχέσης μεταξύ της εξαρτημένης συνεχούς μεταβλητής (CDX2) και ενός συνόλου ανεξάρτητων μεταβλητών (φύλο, ηλικία, εντόπιση, βαθμός διαφοροποίησης, στάδιο, ταξινόμηση TNM και εξαιρεθέντες λεμφαδένες) συνολικά και ανά εντόπιση του καρκίνου.

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο στατιστικό πρόγραμμα IBMSPSSStatistics 25.0. Επιπλέον, ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε το $p < 0.05$.

Εργαστηριακός Αλγόριθμος Μελέτης



2.3 Αποτελέσματα

Ανεξαρτήτως της εντόπισης του καρκίνου του παχέος εντέρου, υψηλότερα ποσοστά των ασθενών ήταν άνδρες (Αριστερό: 61.3%, N=38, Δεξιό: 56.1%, N=23, Ορθό: 60%, N=12). Σχετικά με την ηλικία, η μέση ηλικία των ασθενών με εντόπιση όγκου στο δεξιό κόλον ήταν τα 77 έτη και ήταν η μεγαλύτερη σε σχέση με τις ηλικίες των ασθενών με εντόπιση όγκου στον αριστερό κόλον ή στο ορθό, 74 και 71 έτη, αντίστοιχα. Ο συχνότερος βαθμός διαφοροποίησης της νόσου ήταν Grade II, ανεξαρτήτως της εντόπισης του όγκου (Αριστερό: 80.6%, N=50, Δεξιό: 65.9%, N=27, Ορθό: 80%, N=16). Ως προς την ταξινόμηση TNM, παρατηρήθηκε ότι οι περισσότεροι ασθενείς, ανεξαρτήτως εντόπισης, είχαν στάδιο T3 (Αριστερό: 71%, N=44, Δεξιό: 61%, N=25, Ορθό: 50%, N=10). Στο δεξιό κόλον και στο ορθό, το αμέσως επόμενο συχνότερο στάδιο ήταν το T2 (Δεξιό: 17.1%, N=7, Ορθό: 30%, N=6), ενώ στον αριστερό κόλον το T4 (12.9%, N=8). Σε ασθενείς με εντόπιση όγκου στο δεξιό κόλον, εντοπίστηκε η μεγαλύτερη μέγιστη διάμετρος όγκου, 5.03(±2.13), ενώ ασθενείς με καρκίνο στον αριστερό κόλον είχαν τη μικρότερη διάμετρο, 4.33(1.49). Επιπλέον, ανεξαρτήτως εντόπισης, τα υψηλότερα ποσοστά στην ταξινόμηση TNM, αντιστοιχούν σε απουσία μεταστάσεων λεμφαδένων, (Αριστερό κόλον: 48.4%, N=30, Δεξιό κόλον: 70.7%, N=29, Ορθό: 50%, N=10), παρόλα αυτά η απουσία μεταστάσεων είναι συχνότερη στους ασθενείς με καρκίνο στο δεξιό κόλον. Ο αριθμός των διηθημένων λεμφαδένων είναι μεγαλύτερος σε ασθενείς με εντόπιση καρκίνου στο δεξιό κόλον, 1.85(±4.10), ακολουθούν οι ασθενείς με καρκίνο του ορθού, 1.75(±2.34), και τέλος οι ασθενείς με αριστερή εντόπιση, 1.10(±1.73). Σχετικά με τον αριθμό των εξαιρεθέντων λεμφαδένων, το μεγαλύτερο πλήθος εντοπίστηκε στο δεξιό κόλον, 19.85(±7.38), και ακολουθούν ο αριστερός, 18.00(±6.86), και το ορθό, 17.15(±7.20). Η πλειοψηφία των ασθενών δεν παρουσίαζε απομακρυσμένες μεταστάσεις (M0) (Αριστερό κόλον: 96.8%, N=60, Δεξιό κόλον: 95.1%, N=39, Ορθό: 95%, N=19). Στάδιο III παρατηρήθηκε σε υψηλότερα ποσοστά σε ασθενείς με εντόπιση καρκίνου αριστερού κόλου (48.4%, N=30) και ορθού (45%, N=9), ενώ στη δεξιά πλευρά το 46.3% (N=19) είχε στάδιο II. Η αμέσως επόμενη συχνότερη κατηγορία σταδίου ήταν για την αριστερή πλευρά το στάδιο II (33.9%, N=21), για τη δεξιά πλευρά το στάδιο III (26.8%, N=11) και για το ορθό το στάδιο I (35%, N=7). Τέλος, η CDX2 ήταν χαμηλότερη στην αριστερή εντόπιση, 127.68(±16.68), και ακολουθούν το ορθό, 128.64(±21.05), και η δεξιά εντόπιση, 134.95(±18.92) (Γράφημα 1-3).

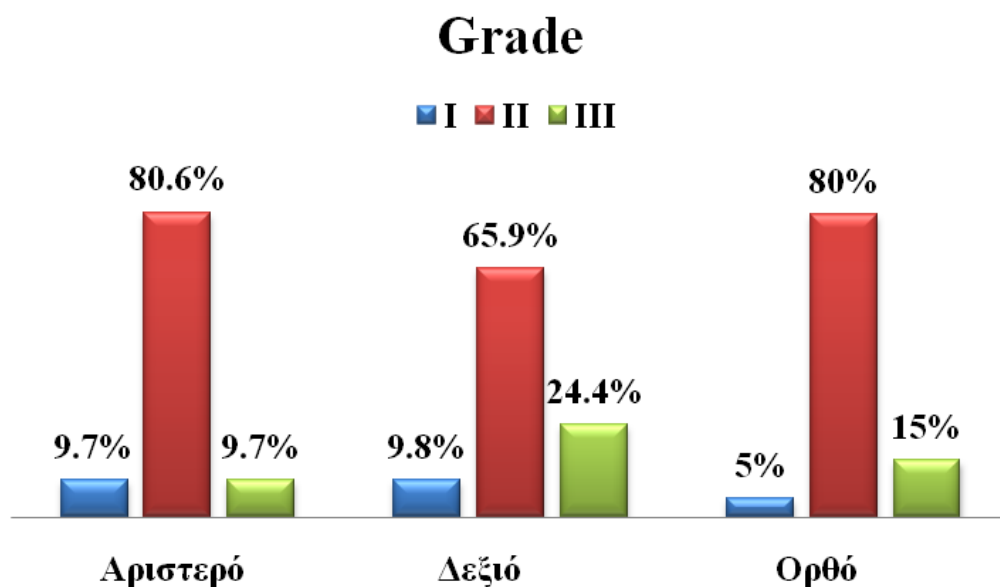
Πίνακας 2.3

Κλινιπαθολογικά χαρακτηριστικά ασθενών σε σχέση με την εντόπιση του καρκίνου

	Αριστερό (50.4%. N=62)	Δεξιό (33.3%. N=41)	Ορθό (16.3%. N=20)
	N(%)	N(%)	N(%)
Φύλο			
Γυναίκα	24(38.7%)	18(43.9%)	8(40%)
Αντρας	38(61.3%)	23(56.1%)	12(60%)
Ηλικία			
Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)	74.23(9.54)	77.05(8.97)	71.65(10.77)
Ελάχιστη-Μέγιστη	45-93	60-91	57-90
Grade			
I	6(9.7%)	4(9.8%)	1(5%)
II	50(80.6%)	27(65.9%)	16(80%)
III	6(9.7%)	10(24.4%)	3(15%)
T			
T1	5(8.1%)	3(7.3%)	3(15%)
T2	5(8.1%)	7(17.1%)	6(30%)
T3	44(71%)	25(61%)	10(50%)
T4	8(12.9%)	6(14.6%)	1(5%)
Μέγιστης διάμετρος όγκου (cm)			
Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)	4.33(1.49)	5.03(2.13)	4.32(2.08)
Ελάχιστη-Μέγιστη	0.7-7.5	2-10	2-10
N			
N0	30(48.4%)	29(70.7%)	10(50%)
N1	27(43.5%)	5(12.2%)	7(35%)
N2	5(8.1%)	7(17.1%)	3(15%)
Διηθημένοι Λεμφαδένες			
Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)	1.10(1.73)	1.85(4.10)	1.75(2.34)
Ελάχιστη-Μέγιστη	0-9	0-17	0-8
Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες			
Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)	18.00(6.86)	19.85(7.38)	17.15(7.20)
Ελάχιστη-Μέγιστη	5-40	7-41	4-34
M			
M0	60(96.8%)	39(95.1%)	19(95%)
M1	2(3.2%)	2(4.9%)	1(5%)
Στάδιο			
I	9(14.5%)	9(22%)	7(35%)
II	21(33.9%)	19(46.3%)	3(15%)
III	30(48.4%)	11(26.8%)	9(45%)
IV	2(3.2%)	2(4.9%)	1(5%)

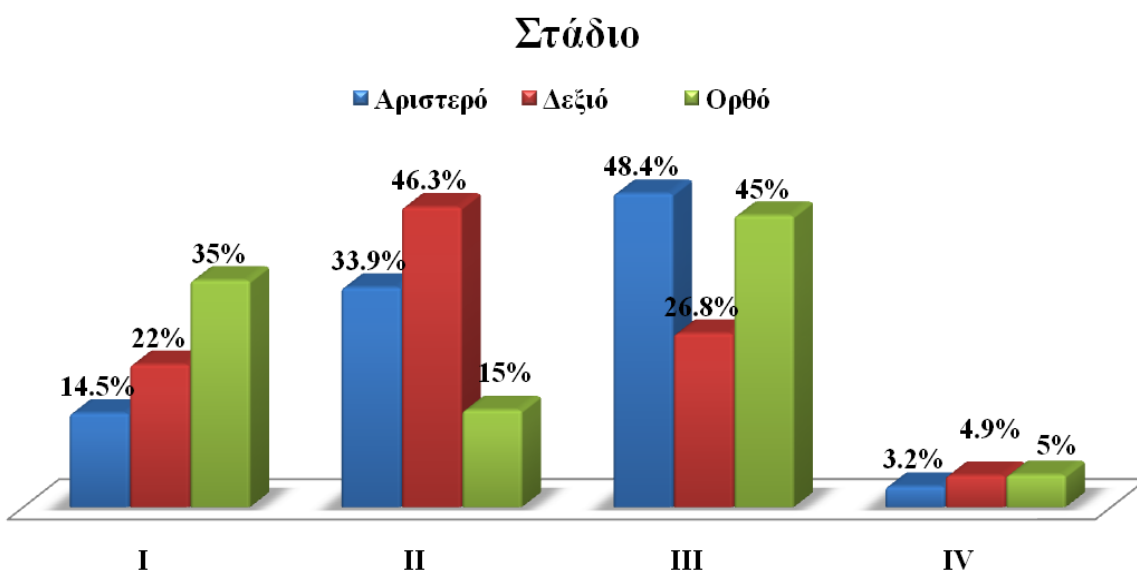
CDX2

Μέση τιμή (Τυπ.Απόκλιση)	127.68(16.68)	134.95(18.92)	128.64(21.05)
Ελάχιστη-Μέγιστη	80.91-178.88	91.22-179.83	81.76-171.83



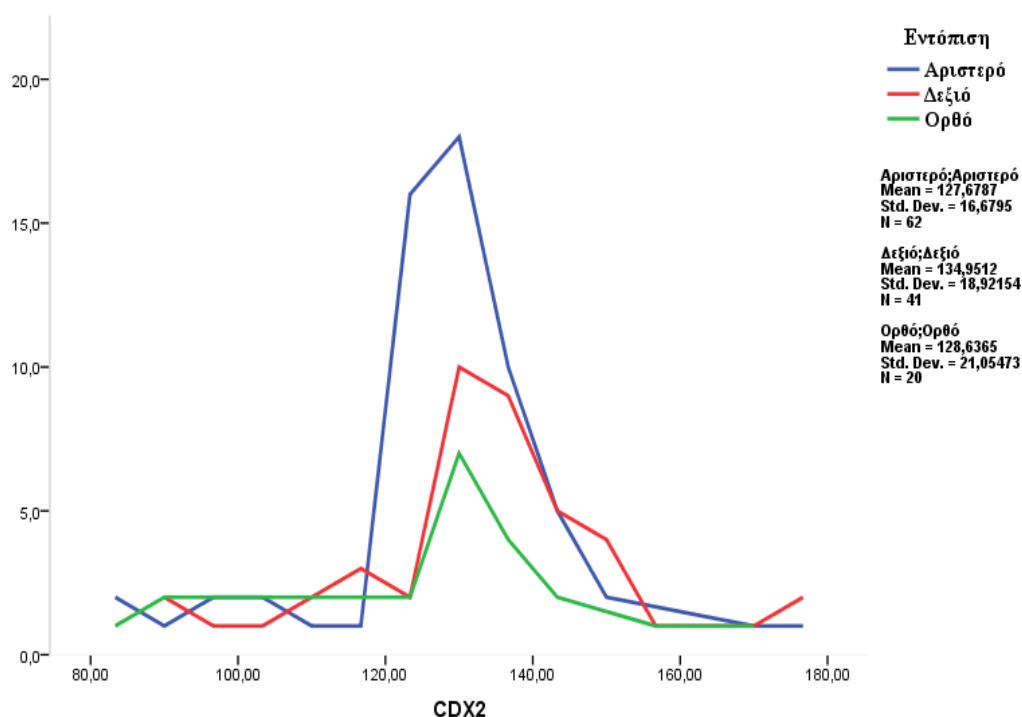
Γράφημα 1

Κατανομή των ασθενών σχετικά με τον βαθμό διαφοροποίησης σε κάθε κατηγορία εντόπισης



Γράφημα 2

Κατανομή των ασθενών σχετικά με το στάδιο της νόσου σε κάθε κατηγορία εντόπισης



Γράφημα 3

Κατανομή των επιπέδων CDX2 σε κάθε κατηγορία εντόπισης

Φύλο

Στον Πίνακα 2.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του μη παραμετρικού ελέγχου Mann-Whitney U για τη διερεύνηση πιθανών διαφορών του δείκτη CDX2 ως προς το φύλο. Με βάση τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με το φύλο (Mann-Whitney U=1701.5, p-value=0.524).

Πίνακας 2.4

Αποτελέσματα του ελέγχου Mann-Whitney για την αξιολόγηση διαφορών του δείκτη CDX2 σε σχέση με το φύλο

	Φύλο	N	Διάμεσος(IQR)	MeanRank	Mann-Whitney U	p-value
CDX2	Γυναίκα	50	131.23(123.95-141.23)	64.47	1701.5	0.524
	Άντρας	73	131.22(122.76-136.90)	60.31		

Ηλικία

Για τη διερεύνηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με την ηλικία χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Spearman, ο οποίος είναι κατάλληλος για δεδομένα τα οποία δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή. Από τον Πίνακα 2.5, παρατηρείται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του δείκτη CDX2 και της ηλικίας ($r=0.067$, $p\text{-value}=0.460$).

Πίνακας 2.5

Συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ του δείκτη CDX2 σε σχέση με την ηλικία

		CDX2	Ηλικία
CDX2	Spearman's rho	1.000	0.067
	p-value		0.460

Εντόπιση του όγκου

Στον Πίνακα 2.6 παρουσιάζεται ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal Wallis, προκειμένου να αξιολογηθεί πιθανή σχέση του δείκτη CDX2 με την εντόπιση της νόσου. Με βάση τα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές CDX2 σε σχέση με την εντόπιση της νόσου (Kruskal-Wallis $H=6.272$, $p\text{-value}=0.043$). Αναλυτικότερα, οι ασθενείς που εμφάνισαν την νόσο στο αριστερό κόλον παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με τους ασθενείς που εμφάνισαν την νόσο στο δεξιό κόλον ($p\text{-value}=0.043$).

Πίνακας 2.6

Αποτελέσματα του ελέγχου KruskalWallis για την αξιολόγηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με την εντόπιση της νόσου

	Εντόπιση	N	Διάμεσος(IQR)	MeanRank	Kruskal-Wallis H	p-value
CDX2	Αριστερό	62	129.04(121.34-135.58)	55.01	6.272	0.043
	Δεξιό	41	136.08(128.49-141.78)	72.96		

Βαθμός διαφοροποίησης (grade)

Στον Πίνακα 2.7 παρουσιάζεται ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal Wallis, προκειμένου να αξιολογηθεί πιθανή σχέση του δείκτη CDX2 με τον βαθμό διαφοροποίησης της νόσου. Με βάση τα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με τον βαθμό διαφοροποίησης της νόσου (Kruskal-Wallis H=17.109, p-value<0.001). Αναλυτικότερα, οι ασθενείς με βαθμό διαφοροποίησης Grade III παρουσίασαν υψηλότερες τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με τους ασθενείς με βαθμό διαφοροποίησης Grade II (p-value <0.001) καθώς και με τους ασθενείς με βαθμό διαφοροποίησης Grade I .

Πίνακας 2.7

Αποτελέσματα του ελέγχου Kruskal Wallis για την αξιολόγηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με τον βαθμό διαφοροποίησης της νόσου.

	Grade	N	Διάμεσος(IQR)	MeanRank	Kruskal-Wallis H	p-value
CDX2	I	11	129.89(119.05-141.56)	56.86	17.109	<0.001
	II	93	130.07(122.76-135.59)	56.25		
	III	19	141.23(136.77-150.87)	93.11		

Μέγιστη διάμετρος του όγκου

Για τη διερεύνηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με το μέγεθος του όγκου χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Spearman. Από τον Πίνακα 2.8 παρατηρείται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του δείκτη CDX2 και του μέγεθος του όγκου (r=0.132, p-value=0.146).

Πίνακας 2.8

Συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ του δείκτη CDX2 σε σχέση με το μέγεθος του όγκου

	CDX2	Μέγιστης Διάμετρος όγκου (cm)
CDX2	Spearman's rho	1.000
		0.132

Τοπική επέκταση του όγκου – Στάδιο T (κατά TNM)

Στον Πίνακα 2.9 παρουσιάζεται ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal Wallis, προκειμένου να αξιολογηθεί πιθανή σχέση του δείκτη CDX2 με το στάδιο T του όγκου με βάση την σταδιοποίηση TNM. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με το στάδιο T του όγκου με βάση την σταδιοποίηση TNM (Kruskal-Wallis H=3.343, p-value=0.342).

Πίνακας 2.9

Αποτελέσματα του ελέγχου Kruskal Wallis για την αξιολόγηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με το στάδιο T του όγκου με βάση την σταδιοποίηση TNM

	T	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
CDX2	T1	11	131.49(126.54-141.56)	65.73	3.343	0.342
	T2	18	132.35(120.25-144.2)	65.83		
	T3	79	130.59(121.97-137.03)	58.09		
	T4	15	134.44(128.05-171.83)	75.23		

Λεμφαδενική επέκταση του όγκου – Στάδιο N (κατά TNM)

Στον Πίνακα 2.10 παρουσιάζεται ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal Wallis, προκειμένου να αξιολογηθεί πιθανή σχέση του δείκτη CDX2 με την λεμφαδενική επέκταση του όγκου με βάση την σταδιοποίηση TNM. Με βάση τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με την λεμφαδενική επέκταση-στάδιο N κατά TNM (Kruskal-Wallis H=1.664, p-value=0.435).

Πίνακας 2.10

Αποτελέσματα του ελέγχου KruskalWallis για την αξιολόγηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με την λεμφαδενική επέκταση του όγκου- στάδιο N με βάση την σταδιοποίηση TNM

	N	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
CDX2	N0	69	130.09(123.93-139.31)	60.81	1.664	0.435
	N1	39	131.22(121.12-137.03)	59.85		
	N2	15	134.77(128.05-149.06)	73.07		

Απομακρυσμένες μεταστάσεις – στάδιο M (κατά TNM)

Στον Πίνακα 2.11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του μη παραμετρικού ελέγχου Mann-Whitney U για τη διερεύνηση πιθανών διαφορών του δείκτη CDX2 ως προς τις απομακρυσμένες μεταστάσεις του όγκου-στάδιο M κατά TNM. Με βάση τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη CDX2 στους ασθενείς που είχαν απομακρυσμένες μεταστάσεις σε σχέση με τους ασθενείς που δεν είχαν απομακρυσμένες μεταστάσεις (Mann-Whitney U=164.5, p-value=0.094).

Πίνακας 2.11

Αποτελέσματα του ελέγχου Mann-Whitney U για την αξιολόγηση διαφορών του δείκτη CDX2 σε σχέση με το στάδιο M κατά TNM

	M	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Mann-Whitney U	p-value
CDX2	M0	118	131.10(123.15-139.03)	60.89	164.5	0.094
	M1	5	139.87(130.11-164.82)	88.10		

Στάδιο της νόσου (κατά TNM)

Στον Πίνακα 2.12 παρουσιάζεται ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal Wallis, προκειμένου να αξιολογηθεί πιθανή σχέση του δείκτη CDX2 με το στάδιο της νόσου. Με βάση τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του δείκτη CDX2 σε σχέση με το στάδιο της νόσου (Kruskal-Wallis H = 4.724, p-value = 0.193>0.05).

Πίνακας 2.12

Αποτελέσματα του ελέγχου KruskalWallis για την αξιολόγηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με το στάδιο της νόσου κατά TNM

	Στάδιο	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
CDX2	I	25	131.49(127.18-142.1)	68.10	4.724	0.193
	II	43	130.07(121.97-136.08)	55.78		
	III	50	131.83(121.28-139.01)	61.69		
	IV	5	139.87(130.12-164.82)	88.10		

Συνολικός αριθμός εξαιρεθέντων λεμφαδένων (total LN)

Για τη διερεύνηση της συσχέτισης του δείκτη CDX2 με τον συνολικό αριθμό εξαιρεθέντων λεμφαδένων χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Spearman. Από τον Πίνακα 2.13, παρατηρείται μία αρνητική μη στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του δείκτη CDX2 και του συνολικού αριθμού εξαιρεθέντων λεμφαδένων ($r=-0.082$, $p\text{-value}=0.369$).

Πίνακας 2.13

Συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ του δείκτη CDX2 σε σχέση με τον συνολικό αριθμό εξαιρεθέντων λεμφαδένων

		CDX2	Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες
CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.082
	p-value		0.369

ΑΝΑ ΕΝΤΟΠΙΣΗ

Στον Πίνακα 2.14 παρουσιάζονται οι έλεγχοι Mann-Whitney U προκειμένου να βρεθούν διαφορές στα επίπεδα της CDX2 σε σχέση με το φύλο σε κάθε κατηγορία της εντόπισης. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της CDX2 μεταξύ ανδρών και γυναικών σε καμία κατηγορία της εντόπισης (Αριστερό κόλον: Mann-Whitney=433, $p\text{-value}=0.740$, Δεξιό κόλον: Mann-Whitney=166.50, $p\text{-value}=0.287$, Ορθό: Mann-Whitney=39, $p\text{-value}=0.487$). Παρατηρείται ότι η CDX2 στην αριστερή και δεξιά εντόπιση ήταν υψηλότερη στις γυναίκες, ενώ αντίθετα στο ορθό η CDX2 ήταν υψηλότερη στους άνδρες.

Πίνακας 2.14

Σύγκριση του CDX2 σε σχέση με το φύλο ανά εντόπιση

Εντόπιση	Φύλο	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Mann-Whitney U	p-value
Αριστερό	Γυναίκα	24	129.99(121.81-139.68)	32.46	433.00	0.740
	Άντρας	38	128.96(121.34-135.21)	30.89		
Δεξιό	Γυναίκα	18	139.38(127.87-150.79)	23.25	166.500	0.287
	Άντρας	23	134.77(128.05-140.88)	19.24		
Ορθό	Γυναίκα	8	130.48(122.44-133.44)	9.38	39.000	0.487
	Άντρας	12	133.16(124.91-141.08)	11.25		

Στον Πίνακα 2.15 παρουσιάζονται οι έλεγχοι Mann-Whitney U για τη διερεύνηση διαφορών στις τιμές CDX2 σε σχέση με τη σταδιοποίηση TNM σε κάθε κατηγορία της εντόπισης. Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στις τιμές της CDX2 μεταξύ M0 και M1 σε καμία κατηγορία της εντόπισης (Αριστερό κόλον: Mann-Whitney=23, p-value=0.140, Δεξιό κόλον: Mann-Whitney=18, p-value=0.204, Ορθό: Mann-Whitney=6, p-value=0.544). Παρατηρείται ότι η CDX2 στην κατηγορία απουσίας απομακρυσμένων μεταστάσεων (M0) στην αριστερή και δεξιά εντόπιση ήταν χαμηλότερη, ενώ αντίθετα στο ορθό η CDX2 στην κατηγορία M0 ήταν υψηλότερη.

Πίνακας 2.15

Σύγκριση του CDX2 σε σχέση με την ταξινόμηση TNM, M, ανά εντόπιση

Εντόπιση	M	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Mann-Whitney U	p-value
Αριστερό	M0	60	128.96(121.33-135.44)	30.88	23.000	0.140
	M1	2	155.06(131.24-0)	50.00		
Δεξιό	M0	39	134.77(128.05-141.23)	20.46	18.000	0.204
	M1	2	145.32(139.87-0)	31.50		
Ορθό	M0	19	131.49(123.55-138.72)	10.68	6.000	0.544
	M1	1	128.99(128.99-128.99)	7.00		

Στον Πίνακα 2.16 παρουσιάζονται οι έλεγχοι Kruskal-Wallis προκειμένου να βρεθούν διαφορές στα επίπεδα της CDX2 σε σχέση με το βαθμό διαφοροποίησης σε κάθε κατηγορία της εντόπισης. Δεν

παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της CDX2 σε σχέση με το βαθμό διαφοροποίησης στην αριστερή εντόπιση (Chi-Square=1.563, p-value=0.458) και στο ορθό (Chi-Square=5.773, p-value=0.056). Αντίθετα, στη δεξιά εντόπιση βρέθηκαν σημαντικές διαφορές (Chi-Square=11.179, p-value=0.004) και πιο συγκεκριμένα παρατηρείται ότι ασθενείς με βαθμό διαφοροποίησης Grade II έχουν χαμηλότερη τιμή CDX2 σε σχέση με ασθενείς με βαθμό διαφοροποίησης Grade III (p=0.003).

Πίνακας 2.16

Σύγκριση του CDX2 σε σχέση με το βαθμό διαφοροποίησης ανά εντόπιση

Εντόπιση	Grade	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
Αριστερό	CDX2 I	6	123.94(117.03-132.81)	24.67	1.563	0.458
	II	50	129.04(121.91-134.8)	31.58		
	III	6	137.49(99.95-150.56)	37.67		
Δεξιό	CDX2 I	4	137.27(108.12-155.41)	23.25	11.179	0.004
	II	27	131.83(124.43-139.54)	16.78		
	III	10	147.37(139.1-155.07)	31.50		
Ορθό	CDX2 I	1	131.49(131.49-131.49)	11.00	5.773	0.056
	II	16	130.08(121.38-133.93)	9.06		
	III	3	142.33(138.72-0)	18.00		

Στον Πίνακα 2.17 παρουσιάζονται οι έλεγχοι Kruskal-Wallis προκειμένου να βρεθούν διαφορές στα επίπεδα της CDX2 σε σχέση με την ταξινόμηση TNM για το μέγεθος του όγκου σε κάθε κατηγορία της εντόπισης. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της CDX2 σε σχέση με το μέγεθος του όγκου στην αριστερή εντόπιση (Chi-Square=1.474, p-value=0.688), στη δεξιά εντόπιση (Chi-Square=3.352, p-value=0.341) καθώς και στο ορθό (Chi-Square=3.5, p-value=0.321). Η ελάχιστη τιμή της CDX2 στην αριστερή εντόπιση βρέθηκε στην κατηγορία T1 και η μέγιστη στην κατηγορία T2. Σχετικά με τη δεξιά εντόπιση, η ελάχιστη τιμή της CDX2 βρέθηκε στην κατηγορία T3 και η μέγιστη στην κατηγορία T1. Τέλος, για το ορθό, η ελάχιστη τιμή της CDX2 βρέθηκε στην κατηγορία T2 και η μέγιστη στην κατηγορία T4.

Πίνακας 2.17

Σύγκριση του CDX2 σε σχέση με την ταξινόμηση TNM, T, ανά εντόπιση

Εντόπιση	T	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
Αριστερό	CDX2	T1	5	126.54(116.16-135.73)	27.80	1.474 0.688
	T2	5	135.62(124.07-143.94)	39.60		
	T3	44	128.85(121.43-134.17)	30.57		
	T4	8	132.71(106.04-138.68)	33.88		
Δεξιό	CDX2	T1	3	142.33(132.21-0)	28.67	3.352 0.341
	T2	7	139.87(129.01-159.77)	23.29		
	T3	25	134.77(122.15-140.44)	18.44		
	T4	6	135.81(131.05-178.2)	25.17		
Ορθό	CDX2	T1	3	131.49(130.08-0)	11.67	3.500 0.321
	T2	6	124.24(88.78-145.59)	8.33		
	T3	10	131.88(127.63-135.25)	10.50		
	T4	1	171.83	20.00		

Στον Πίνακα 2.18 παρουσιάζονται οι έλεγχοι Kruskal-Wallis προκειμένου να βρεθούν διαφορές στα επίπεδα της CDX2 σε σχέση με τις μεταστάσεις σε λεμφαδένες σε κάθε κατηγορία της εντόπισης. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της CDX2 σε σχέση με τις μεταστάσεις σε λεμφαδένες στην αριστερή εντόπιση (Chi-Square=1.778, p-value=0.411), στη δεξιά εντόπιση (Chi-Square=3.389, p-value=0.184) καθώς και στο ορθό (Chi-Square=1.215, p-value=0.545). Η ελάχιστη τιμή της CDX2 στην αριστερή εντόπιση βρέθηκε στην κατηγορία N0 και η μέγιστη στην κατηγορία N2. Σχετικά με τη δεξιά εντόπιση, η ελάχιστη τιμή της CDX2 βρέθηκε στην κατηγορία N0 και η μέγιστη στην κατηγορία N1. Τέλος, για το ορθό, η ελάχιστη τιμή της CDX2 βρέθηκε στην κατηγορία N1 και η μέγιστη στην κατηγορία N2.

Πίνακας 2.18

Σύγκριση του CDX2 σε σχέση με την ταξινόμηση TNM, N, ανά εντόπιση

Εντόπιση		N	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
Αριστερό	CDX2	N0	30	128.44(121.64-135.58)	30.00	1.778	0.411
		N1	27	130.98(121.05-135.09)	31.30		
		N2	5	132.44(126.68-159.38)	41.60		
Δεξιό	CDX2	N0	29	132.08(124.52-141.62)	19.55	3.389	0.184
		N1	5	140.88(138.51-159.44)	30.20		
		N2	7	134.77(128.05-149.06)	20.43		
Ορθό	CDX2	N0	10	132.18(129.51-136.2)	11.30	1.215	0.545
		N1	7	128.99(120.65-134.09)	8.57		
		N2	3	138.72(81.76-0)	12.33		

Στον Πίνακα 2.19 παρουσιάζονται οι έλεγχοι Kruskal-Wallis προκειμένου να βρεθούν διαφορές στα επίπεδα της CDX2 σε σχέση με το στάδιο σε κάθε κατηγορία της εντόπισης. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της CDX2 ανά στάδιο στην αριστερή εντόπιση (Chi-Square=2.458, p-value=0.483), στη δεξιά εντόπιση (Chi-Square=5.248, p-value=0.154) καθώς και στο ορθό (Chi-Square=0.608, p-value=0.895). Η ελάχιστη τιμή της CDX2 στην αριστερή εντόπιση βρέθηκε στο στάδιο II και η μέγιστη στο στάδιο IV. Σχετικά με τη δεξιά εντόπιση, η ελάχιστη τιμή της CDX2 βρέθηκε στο στάδιο II και η μέγιστη στο στάδιο IV. Τέλος, για το ορθό, η ελάχιστη τιμή της CDX2 βρέθηκε στην κατηγορία IV και η μέγιστη στην κατηγορία II.

Πίνακας 2.19

Σύγκριση του CDX2 σε σχέση με το στάδιο ανά εντόπιση

Εντόπιση		Στάδιο	N	Διάμεσος(IQR)	Mean Rank	Chi-Square	p-value
Αριστερό	CDX2	I	9	129.08(120.2-138.59)	31.89	2.458	0.483
		II	21	127.88(121.86-134.3)	29.19		

		III	30	129.96(121.1-135.34)	31.77		
		IV	2	155.06(131.24-0)	50.00		
Δεξιό	CDX2	I	9	140.91(129.04-154.79)	24.67	5.248	0.154
		II	19	131.22(119.87-139.54)	16.74		
		III	11	137.03(131.83-141.23)	23.45		
		IV	2	145.32(139.87-0)	31.50		
Ορθό	CDX2	I	7	131.49(127.82-141.86)	11.43	0.608	0.895
		II	3	132.87(130.07-0)	11.00		
		III	9	130.88(105.37-140.53)	10.00		
		IV	1	128.99(128.99-128.99)	7.00		

Στον Πίνακα 2.20 παρουσιάζεται ο συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης της ηλικίας με τις τιμές CDX2 ανά κατηγορία εντόπισης. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ηλικίας και της CDX2 σε καμία από τις κατηγορίες εντόπισης (Αριστερό κόλον: $r=-0.009$, $p\text{-value}=0.946$, Δεξιό κόλον: $r=-0.087$, $p\text{-value}=0.588$, Ορθό: $r=0.380$, $p\text{-value}=0.098$).

Πίνακας 2.20

Συσχέτιση του CDX2 με την ηλικία ανά εντόπιση

Εντόπιση			CDX2	Ηλικία
Αριστερό	CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.009
		p-value		0.946
Δεξιό	CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.087
		p-value		0.588
Ορθό	CDX2	Spearman's rho	1.000	0.380
		p-value		0.098

Στον Πίνακα 2.21 παρουσιάζεται ο συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης των διηθημένων λεμφαδένων με τις τιμές CDX2 ανά κατηγορία εντόπισης. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των διηθημένων λεμφαδένων και της CDX2 σε καμία από τις κατηγορίες εντόπισης (Αριστερό κόλον: $r=0.152$, $p\text{-value}=0.239$, Δεξιό κόλον: $r=0.163$, $p\text{-value}=0.309$, Ορθό: $r=-0.117$, $p\text{-value}=0.624$).

Πίνακας 2.21

Συσχέτιση του CDX2 με τους διηθημένους λεμφαδένες ανά εντόπιση

Εντόπιση	CDX2		CDX2	Διηθημένοι Λεμφαδένες
Αριστερό	CDX2	Spearman's rho	1.000	0.152
		p-value		0.239
Δεξιό	CDX2	Spearman's rho	1.000	0.163
		p-value		0.309
Ορθό	CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.117
		p-value		0.624

Στον Πίνακα 2.22 παρουσιάζεται ο συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης των εξαιρεθέντων λεμφαδένων με τις τιμές CDX2 ανά κατηγορία εντόπισης. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των εξαιρεθέντων λεμφαδένων και της CDX2 σε καμία από τις κατηγορίες εντόπισης (Αριστερό κόλον: $r=-0.088$, $p\text{-value}=0.499$, Δεξιό κόλον: $r=-0.216$, $p\text{-value}=0.176$, Ορθό: $r=-0.164$, $p\text{-value}=0.489$).

Πίνακας 2.22

Συσχέτιση του CDX2 με τους εξαιρεθέντες λεμφαδένες ανά εντόπιση

Εντόπιση	CDX2		CDX2	Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες
Αριστερό	CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.088
		p-value		0.499
Δεξιό	CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.216
		p-value		0.176
Ορθό	CDX2	Spearman's rho	1.000	-0.164
		p-value		0.489

Στον Πίνακα 2.23 παρουσιάζεται ο συντελεστής συσχέτισης Spearman για την αξιολόγηση της συσχέτισης της μέγιστης διαμέτρου του όγκου με τις τιμές CDX2 ανά κατηγορία εντόπισης. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της μέγιστης διαμέτρου του όγκου και της CDX2 σε

καμία από τις κατηγορίες εντόπισης (Αριστερό κόλον: $r=0.010$, $p\text{-value}=0.939$, Δεξιό κόλον: $r=0.052$, $p\text{-value}=0.749$, Ορθό: $r=0.240$, $p\text{-value}=0.308$).

Πίνακας 2.23

Συσχέτιση του CDX2 με τη μέγιστη διάμετρο όγκου ανά εντόπιση

Εντόπιση	CDX2		CDX2	Μέγιστης Διάμετρος όγκου (cm)
Αριστερό	CDX2	Spearman's rho	1.000	0.010
		p-value		0.939
Δεξιό	CDX2	Spearman's rho	1.000	0.052
		p-value		0.749
Ορθό	CDX2	Spearman's rho	1.000	0.240
		p-value		0.308

Στους Πίνακες 2.24 και 2.25 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης παλινδρόμησης για την αξιολόγηση των παραγόντων που πιθανόν να σχετίζονται με την CDX2. Εφαρμόστηκαν δύο πολλαπλά γραμμικά μοντέλα, το πρώτο μοντέλο αναφέρεται στο συνολικό δείγμα, ενώ το δεύτερο μοντέλο εφαρμόστηκε σε κάθε κατηγορία της εντόπισης.

Σχετικά με τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης που παρουσιάζονται στον Πίνακα 24, βρέθηκε ότι ο μεγαλύτερος βαθμός διαφοροποίησης σχετίζεται με υψηλότερες τιμές CDX2 ($B=10.317$, $p\text{-value}=0.015$). Αντίθετα, βρέθηκε ότι το μεγαλύτερο στάδιο σχετίζεται με μειωμένη τιμή στη CDX2 ($B=-11.293$, $p\text{-value}=0.015$). Επιπλέον, οι μεταστάσεις σε λεμφαδένες σχετίζονται με την CDX2 ($B=8.114$, $p\text{-value}=0.047$), καθώς αυξημένος αριθμός μεταστάσεων αντιστοιχεί σε υψηλότερες τιμές CDX2. Τέλος, οι απομακρυσμένες μεταστάσεις σχετίζονται με τις τιμές CDX2 ($B=24.151$, $p\text{-value}=0.021$), καθώς οι ασθενείς με παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων, M1, αναμένεται να έχουν υψηλότερες τιμές CDX2. Από τα αποτελέσματα της παλινδρόμησης δεν βρέθηκε κάποια άλλη μεταβλητή με ισχυρή σχέση με τη CDX2.

Πίνακας 2.24

Αποτελέσματα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για την εξαρτημένη μεταβλητή τη CDX2

Μεταβλητές	B	t	p	95% CI
Φύλο	-1.184	-0.354	0.724	-7.817,5.449
Ηλικία	-0.001	-0.004	0.997	-0.342,0.34
Εντόπιση	-0.067	-0.029	0.977	-4.578,4.444
Βαθμός διαφοροποίησης	10.317	2.472	0.015	2.048,18.587
Στάδιο	-11.293	-2.475	0.015	-20.333,-2.253
T	2.658	0.808	0.421	-3.859,9.175
N	8.114	2.008	0.047	0.108,16.12
M	24.151	2.344	0.021	3.737,44.565
Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες	-0.147	-0.629	0.531	-0.612,0.317

Τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης ανά κατηγορία εντόπισης παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.25. Σχετικά με την αριστερή εντόπιση, βρέθηκε ότι οι απομακρυσμένες μεταστάσεις σχετίζονται με τις τιμές CDX2 (B=0.327,p-value=0.032), καθώς οι ασθενείς με παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων, M1, αναμένεται να έχουν υψηλότερες τιμές CDX2. Δεν βρέθηκε κάποια άλλη μεταβλητή με ισχυρή σχέση με τη CDX2.

Πίνακας 2.25

Αποτελέσματα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για την εξαρτημένη μεταβλητή τη CDX2 ανά κατηγορία εντόπισης

Εντόπιση	Μεταβλητές	B	t	p	95% CI
Αριστερό	Φύλο	0.078	0.583	0.562	-6.434,11.709
	Ηλικία	-0.040	-0.294	0.770	-0.548,0.408
	Βαθμός διαφοροποίησης	0.134	0.655	0.516	-10.434,20.545
	Στάδιο	-0.301	-0.927	0.358	-20.406,7.504
	T	-0.065	-0.259	0.797	-13.03,10.051
	N	0.308	1.235	0.222	-5.022,21.106
	M	0.327	2.209	0.032	2.814,58.334

	Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες	-0.060	-0.456	0.650	-0.793,0.499
Δεξιό	Φύλο	-0.116	-0.596	0.555	-19.286,10.556
	Ηλικία	-0.107	-0.631	0.532	-0.957,0.504
	Βαθμός διαφοροποίησης	0.376	1.913	0.065	-0.806,25.656
	Στάδιο	-0.300	-0.727	0.473	-26.194,12.418
	T	0.015	0.063	0.950	-11.602,12.338
	N	0.318	1.160	0.255	-5.852,21.327
	M	0.037	0.139	0.890	-44.141,50.619
	Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες	-0.223	-1.316	0.198	-1.46,0.314
	Ορθό	Φύλο	-0.305	-1.079	0.304
Ηλικία		0.256	0.731	0.480	-1.005,2.004
Βαθμός διαφοροποίησης		0.511	1.193	0.258	-20.316,68.392
Στάδιο		-0.882	-1.229	0.245	-51.539,14.596
T		0.302	0.691	0.504	-16.847,32.261
N		0.009	0.016	0.987	-34.11,34.616
M		0.356	1.123	0.285	-32.16,99.163
Εξαιρεθέντες Λεμφαδένες		0.289	0.877	0.399	-1.277,2.968

2.4 Συζήτηση

Η πρωτεΐνη CDX2 εκφράζεται στον πυρήνα των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων και μέσω μεταγραφικών μηχανισμών είναι απαραίτητη για την φυσιολογική διαφοροποίηση και ανάπτυξη τους και για την διαμόρφωση του πεπτικού σωλήνα. Αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου της CDX2 προδιαθέτουν σε κακοήγη εξαλλαγή των κυττάρων και σε μεταστατικούς όγκους.(68) Η ανίχνευση με την βοήθεια ανοσοϊστοχημείας της έκφρασης της CDX2 αποτελεί ένα κλινικά χρήσιμο και σχετικά ειδικό δείκτη για νεοπλασμάτα με προέλευση κυρίως από το παχύ έντερο και το ορθό.(70) Οι μελέτες δείχνουν ότι το γονίδιο CDX2 έχει ογκοκατασταλτικό χαρακτήρα στον ορθοκολικό καρκίνο χωρίς να εμφανίζει ξεκάθαρη σχέση με την επιβίωση και την πρόγνωση. Μειωμένη ή απώλεια έκφρασης της CDX2 παρατηρείται στο 10-30% των περιπτώσεων.(69,71)

Η ανοσοϊστοχημεία δείχνει ότι η έκφραση του CDX2 δεν περιορίζεται μόνο στον πυρήνα, αλλά μπορεί και να επεκτείνεται στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων. Το μοτίβο της έκφρασης του είναι ανομοιογενές μεταξύ των κυττάρων του ίδιου του όγκου, καθώς μπορεί να εμφανίζει μειωμένη έκφραση επιλεκτικά σε συγκεκριμένα σημεία όπως είναι το διηθητικό τμήμα του όγκου, με αποτέλεσμα τα αποτελέσματα να μην έχουν μεγάλη αξιοπιστία.(56)

Αυτή η μελέτη εξέτασε την έκφραση της πρωτεΐνης CDX2 σε ιστό από δείγματα ορθοκολικού καρκίνου με τη χρήση μεθόδου ανοσοϊστοχημείας σε συνδυασμό με την ποσοτικοποίηση αυτής με την χρήση λογισμικού ψηφιακής ανάλυσης (digital image analysis-DIA) και την συσχέτιση αυτής με ιστοκοπαθολογικά χαρακτηριστικά όπως το φύλο, η ηλικία, ο βαθμός διαφοροποίησης και η μέγιστη διάμετρος του όγκου, το στάδιο του όγκου, η λεμφαδενική επέκταση του όγκου, τον συνολικό αριθμό λεμφαδένων στο παρασκευάσμα και την εντόπιση του όγκου. Σε αυτή την μελέτη η έκφραση της CDX2 είναι ανεξάρτητη με την ηλικία, η οποία συμφωνεί με την μελέτη των Asgari-Karchekani S et al., οι οποίες διαφέρουν από την μελέτη των Kim et al., η οποία ανέδειξε αρνητική συσχέτιση της έκφρασης της CDX2 με την αύξηση της ηλικίας.(69) Σε αυτή την μελέτη δεν φαίνεται συσχέτιση της έκφρασης της CDX2 με το φύλο, το οποίο διαφέρει με το αποτέλεσμα των μελετών των Bae et al., Baba et al., Asgari-Karchekani S et al., οι οποίες φανερώνουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του φύλου με την έκφραση της CDX2, καθώς και ότι η θετική έκφραση σχετίζεται με το ανδρικό φύλο ενώ η μειωμένη έκφραση παρατηρείται συχνότερα στο γυναικείο φύλο. (69,70,71) Σε αυτή την μελέτη παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση της εντόπισης του όγκου και την έκφραση της CDX2, συγκεκριμένα παρατηρείται στην DIA μειωμένη τιμή της CDX2 σε όγκους αριστερού κόλου και ορθού, άρα η έκφραση της είναι θετική, ενώ το αντίθετο παρατηρείται σε όγκους δεξιού κόλου, οι οποίοι σχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα έκφρασης της CDX2. Η σχέση αυτή είναι σύμφωνη με τα αποτελέσματα των Bae et al., Asgari-Karchekani S et al., και Olsen et al., ενώ διαφέρει με το αποτέλεσμα των Baba et al., το οποίο δεν αναδεικνύει συσχέτιση της εντόπισης του όγκου με τα επίπεδα έκφρασης της CDX2. (56,69,70,71) Σε αυτή τη μελέτη παρατηρείται ότι οι υψηλές τιμές CDX2 στην DIA σχετίζονται με χαμηλότερο βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, συνεπώς οι όγκοι με μειωμένη έκφραση της CDX2 σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με χαμηλότερο βαθμό διαφοροποίησης και το αντίστροφο, αποτέλεσμα που συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Kim et al., Baba et al., Olsen et al., και Asgari-Karchekani S et al. (56,69,70,72) Η μελέτη ανέδειξε ότι η λεμφαδενική επέκταση του ορθοκολικού καρκίνου και το στάδιο N κατά την σταδιοποίηση TNM είναι ανεξάρτητα από τα επίπεδα έκφρασης της CDX2, ενώ οι μελέτες των Bae et al., Kim et al., και Asgari-Karchekani S et al δείχνουν ότι η μειωμένη έκφραση της CDX2 προδιαθέτει σε λεμφαδενική επέκταση του όγκου και προχωρημένο στάδιο N κατά TNM. (69,71,72) Η μελέτη συμφωνεί με το αποτέλεσμα

των Olsen et al., όπου δεν παρατηρείται συσχέτιση του σταδίου της νόσου με την έκφραση της CDX2, ενώ οι Baba et al., Bae et al., Kim et al., και Asgari-Karchekani S et al στις μελέτες τους έδειξαν ότι οι όγκοι που υποεκφράζουν την CDX2 σχετίζονται με χειρότερο στάδιο και το αντίστροφο. (56,69,70,71)

Η έκφραση του γονιδίου CDX2 και κυρίως η μείωση ή εξάλειψη αυτής σχετίζεται με χαμηλότερης διαφοροποίησης όγκους, προχωρημένου σταδίου που εντοπίζονται στο δεξιό κόλον. Η υπάρχουσα βιβλιογραφία για τον ορθοκολικό καρκίνο δεν αναδεικνύει ξεκάθαρο ρόλο για το CDX2 και φαίνεται ότι συμμετέχει σε διάφορα μονοπάτια της καρκινογένεσης. Η σχέση του CDX2 με συγκεκριμένα ιστοπαθολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά του ορθοκολικού καρκίνου θα μπορούσε να αποτελέσει εργαλείο στην διάγνωση και την αντιμετώπιση αυτού και να χρησιμοποιηθεί ως ένας πιθανός βιοδείκτης κυρίως για ασθενείς με νόσο που αφορά το δεξιό κόλον. Η μείωση ή η απώλεια της έκφρασης της CDX2 δεν παρατηρείται συχνά και για αυτό τον λόγο περισσότερη έρευνα είναι απαραίτητη για την αναγνώριση της δράσης, του ρόλου και των πιθανών αλληλεπιδράσεων με άλλους παράγοντες του συγκεκριμένου γονιδίου έτσι ώστε είτε ως ανεξάρτητος βιοδείκτης είτε σε συνδυασμό με άλλους να παίζει ρόλο στην αναγνώριση της συμπεριφοράς και του δυναμικού των καρκινικών κυττάρων με στόχο την ορθότερη αντιμετώπιση και καλύτερη πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου και του ορθού.

2.5 Βιβλιογραφία

1. Sung, H, Ferlay, J, Siegel, RL, Laversanne, M, Soerjomataram, I, Jemal, A, Bray, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2021; 71: 209- 249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327736> Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN
3. Tong GJ, Zhang GY, Liu J, Zheng ZZ, Chen Y, Niu PP, Xu XT. Comparison of the eighth version of the American Joint Committee on Cancer manual to the seventh version for colorectal cancer: A retrospective review of our data. World J Clin Oncol. 2018 Nov 10;9(7):148-161. doi: 10.5306/wjco.v9.i7.148. PMID: 30425940; PMCID: PMC6230917.

4. Yao HW, Wu HW, Liu YH. [From traditional population-based approach to individualized precision medicine: the interpretation of update on The AJCC Colorectal Cancer Staging System, Eighth Edition] *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2017;55:24–27
5. leming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*. 2012 Sep;3(3):153-73. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.030. PMID: 22943008; PMCID: PMC3418538.
6. Deen KI, Silva H, Deen R, Chandrasinghe PC. Colorectal cancer in the young, many questions, few answers. *World J Gastrointest Oncol*. 2016 Jun 15;8(6):481-8. doi: 10.4251/wjgo.v8.i6.481. PMID: 27326317; PMCID: PMC4909449.
7. Menter, D.G., Davis, J.S., Broom, B.M. et al. Back to the Colorectal Cancer Consensus Molecular Subtype Future. *Curr Gastroenterol Rep* 21, 5 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11894-019-0674-9>
8. Nguyen, H. T., Duong, H."The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review)". *Oncology Letters* 16, no. 1 (2018): 9-18. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8679>
9. Tejpar S and Van Cutsem E: Molecular and genetic defects in colorectal tumorigenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 16:171–185. 2002.
10. Siena S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Balfour J, Bardelli A. Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:1308–1324. doi: 10.1093/jnci/djp280
11. Lieu, C.H.; Golemis, E.A.; Serebriiskii, I.G.; Newberg, J.; Hemmerich, A.; Connelly, C.; Messersmith, W.A.; Eng, C.; Gail Eckhardt, S.; Frampton, G.; et al. Comprehensive genomic landscapes in early and later onset colorectal cancer. *Clin. Cancer Res*. 2019, 25, 5852–5858
12. Liebl MC, Hofmann TG. The Role of p53 Signaling in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021 Apr 28;13(9):2125. doi: 10.3390/cancers13092125. PMID: 33924934; PMCID: PMC8125348.
13. Tsang AHF, Cheng KH, Wong ASP, Ng SSM, Ma BBY, Chan CML, Tsui NBY, Chan LWC, Yung BYM, Wong SCC. Current and future molecular diagnostics in colorectal cancer and colorectal adenoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20(14): 3847-3857
14. Al-Sohaily, S., Biankin, A., Leong, R., Kohonen-Corish, M. and Warusavitarne, J. (2012), Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 27: 1423-1431. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07200.x>

15. Yao HW, Liu YH. Re-examination of the standardization of colon cancer surgery. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2013 Sep;1(2):113-8. doi: 10.1093/gastro/got020. Epub 2013 Aug 19. PMID: 24759816; PMCID: PMC3938007.
16. Hohenberger W, Weber K, Matzel K, et al. Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation—technical notes and outcome. *Colorectal Dis*. 2009;11:354–65
17. Tang X-Y, Huang M-X, Han S-Q, Chang Y, Li Z-P, Kao X-M, Chen Y-Y, Liu C, Huang Y-D, Chen Y-T, Lei Z-J and Chu X-Y (2020) The Circumferential Resection Margin Is a Prognostic Predictor in Colon Cancer. *Front. Oncol*. 10:927. doi: 10.3389/fonc.2020.00927
18. van Helden EJ, Menke-van der Houven van Oordt CV, Heymans MW, Ket JCF, van den Oord R, Verheul HMW. Optimal use of anti-EGFR monoclonal antibodies for patients with advanced colorectal cancer: a meta-analysis. *Cancer Metastasis Rev* (2017) 36:395–406
19. Sharif S, O’Connell MJ, Yothers G, Lopa S, Wolmark N. FOLFOX and FLOX Regimens for the Adjuvant Treatment of Resected Stage II and III Colon Cancer. *Cancer Invest*. 2008; 26(9): 956–963.
20. Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer: A Clinical Dilemma Joseph Kannarkatt, Joe Joseph, Peter C. Kurniali, Anas Al-Janadi, and Borys Hrinchenko *Journal of Oncology Practice* 2017 13:4, 233-241
21. Varghese A. Chemotherapy for Stage II Colon Cancer. *Clin Colon Rectal Surg*. 2015 Dec;28(4):256-61. doi: 10.1055/s-0035-1564430. PMID: 26648796; PMCID: PMC4655109.
22. Taieb J, Gallois C. Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer. *Cancers (Basel)*. 2020 Sep 19;12(9):2679. doi: 10.3390/cancers12092679. PMID: 32961795; PMCID: PMC7564362.
23. Stillwell, A.P., Buettner, P.G. & Ho, YH. Meta-Analysis of Survival of Patients with Stage IV Colorectal Cancer Managed with Surgical Resection Versus Chemotherapy Alone. *World J Surg* 34, 797–807 (2010). <https://doi.org/10.1007/s00268-009-0366-y>
24. Wu, C. (2018). Systemic Therapy for Colon Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 27(2), 235–242.
25. wang K, Yoon JH, Lee JH, Lee S. Recent Advances in Monoclonal Antibody Therapy for Colorectal Cancers. *Biomedicines*. 2021 Jan 5;9(1):39. doi: 10.3390/biomedicines9010039. PMID: 33466394; PMCID: PMC7824816

26. Feeney G, Sehgal R, Sheehan M, Hogan A, Regan M, Joyce M, Kerin M. Neoadjuvant radiotherapy for rectal cancer management. *World J Gastroenterol*. 2019 Sep 7;25(33):4850-4869. doi: 10.3748/wjg.v25.i33.4850. PMID: 31543678; PMCID: PMC6737323.
27. Shen H, Yang J, Huang Q, Jiang MJ, Tan YN, Fu JF, Zhu LZ, Fang XF, Yuan Y. Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers. *World J Gastroenterol*. 2015 Jun 7;21(21):6470-8. doi: 10.3748/wjg.v21.i21.6470. PMID: 26074686; PMCID: PMC4458758.
28. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, Marisa L, Roepman P, Nyamundanda G, Angelino P, Bot BM, Morris JS, Simon IM, Gerster S, Fessler E, De Sousa E Melo F, Missiaglia E, Ramay H, Barras D, Homicsko K, Maru D, Manyam GC, Broom B, Boige V, Perez-Villamil B, Laderas T, Salazar R, Gray JW, Hanahan D, Tabernero J, Bernardis R, Friend SH, Laurent-Puig P, Medema JP, Sadanandam A, Wessels L, Delorenzi M, Kopetz S, Vermeulen L, Tejpar S. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015 Nov;21(11):1350-6. doi: 10.1038/nm.3967. Epub 2015 Oct 12. PMID: 26457759; PMCID: PMC4636487.
29. Thanki K, Edward Nicholls M, Gomez G, Gajjar A, James Senagore A, Rashidi L, et al . Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and their Clinical Implications. *IBBJ* 2017; 3 (3) :105-111
30. Valenzuela G, Canepa J, Simonetti C, Solo de Zaldívar L, Marcelain K, González-Montero J. Consensus molecular subtypes of colorectal cancer in clinical practice: A translational approach. *World J Clin Oncol*. 2021 Nov 24;12(11):1000-1008. doi: 10.5306/wjco.v12.i11.1000. PMID: 34909395; PMCID: PMC8641009.
31. Zarkavelis G, Boussios S, Papadaki A, Katsanos KH, Christodoulou DK, Pentheroudakis G. Current and future biomarkers in colorectal cancer. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(6):613-621. doi: 10.20524/aog.2017.0191. Epub 2017 Sep 22. PMID: 29118555; PMCID: PMC5670280.
32. Biomarkers in Colorectal Cancer ANDREW J. YIU, CHU Y. *YIU Anticancer Research* Mar 2016, 36 (3) 1093-1102;
33. Jung, G., Hernández-Illán, E., Moreira, L., Balaguer, F., & Goel, A. (2020). Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(2), 111–130. doi:10.1038/s41575-019-0230-y
34. Lech G, Słotwiński R, Słodkowski M, Krasnodebski IW. Colorectal cancer tumor markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(5): 1745-1755

35. Beck F. The role of Cdx genes in the mammalian gut. *Gut* 2004;53:1394-1396.
36. Saad RS, Ghorab Z, Khalifa MA, Xu M. CDX2 as a marker for intestinal differentiation: Its utility and limitations. *World J Gastrointest Surg.* 2011 Nov 27;3(11):159-66. doi: 10.4240/wjgs.v3.i11.159. PMID: 22180832; PMCID: PMC3240675.
37. Mehmet Coskun, Jesper Thorvald Troelsen, Ole Haagen Nielsen, The role of CDX2 in intestinal homeostasis and inflammation, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular Basis of Disease*, Volume 1812, Issue 3 2011, Pages 283-289, ISSN 0925-4439, <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.11.008>.
38. Bai, YQ., Miyake, S., Iwai, T. et al. CDX2, a homeobox transcription factor, upregulates transcription of the p21/WAF1/CIP1 gene. *Oncogene* 22, 7942–7949 (2003). <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206634>
39. Coskun M, Boyd M, Olsen J, Troelsen JT. Control of intestinal promoter activity of the cellular migratory regulator gene ELMO3 by CDX2 and SP1. *J Cell Biochem.* 2010 Apr 15;109(6):1118-28. doi: 10.1002/jcb.22490. PMID: 20127720.
40. Sunghoon Kim, Claire Domon-Dell, Qingding Wang, Dai H. Chung, Antonio Di Cristofano, Pier Paolo Pandolfi, Jean-Noel Freund, B.Mark Evers, PTEN and TNF- α regulation of the intestinal-specific Cdx-2 homeobox gene through a PI3K, PKB/Akt, and NF- κ B-dependent pathway, *Gastroenterology*, Volume 123, Issue 4, 2002, Pages 1163-1178, ISSN 0016-5085, <https://doi.org/10.1053/gast.2002.36043>.
41. Ahn D, -H, Crawley S, C, Hokari R, Kato S, Yang S, C, Li J, -D, Kim Y, S: TNF-alpha Activates MUC2 Transcription via NF-kappaB but Inhibits via JNK Activation. *Cell Physiol Biochem* 2005;15:029-040. doi: 10.1159/000083636
42. Jahan S, Awaja N, Hess B, Hajjar S, Sad S, Lohnes D. The transcription factor Cdx2 regulates inflammasome activity through the expression of the NLRP3 suppressor TRIM31 to maintain intestinal homeostasis. *J Biol Chem.* 2022 Oct;298(10):102386. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102386. Epub 2022 Aug 17. PMID: 35985421; PMCID: PMC9508567.
43. Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, Spichtin H, Stoios D, Bundi M, Korcheva V, Mirlacher M, Loda M, Sauter G, Corless CL. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 2004 Nov;17(11):1392-9. doi: 10.1038/modpathol.3800205. PMID: 15205684.

44. Moskaluk CA, Zhang H, Powell SM, Cerilli LA, Hampton GM, Frierson HF Jr. Cdx2 protein expression in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey using tissue microarrays. *Mod Pathol*. 2003 Sep;16(9):913-9. doi: 10.1097/01.MP.0000086073.92773.55. PMID: 13679455.
46. Lord RV, Brabender J, Wickramasinghe K, DeMeester SR, Holscher A, Schneider PM, Danenberg PV, DeMeester TR. Increased CDX2 and decreased PITX1 homeobox gene expression in Barrett's esophagus and Barrett 's-associated adenocarcinoma. *Surgery*. 2005 Nov;138(5):924-31. doi: 10.1016/j.surg.2005.05.007. PMID: 16291394.
45. Vaninetti, N., Williams, L., Geldenhuys, L., Porter, G.A., Guernsey, D.L. and Casson, A.G. (2009), Regulation of CDX2 expression in esophageal adenocarcinoma. *Mol. Carcinog.*, 48: 965-974. <https://doi.org/10.1002/mc.20549>
47. Kim HS, Lee JS, Freund JN, Min KW, Lee JS, Kim W, Juhng SW, Park CS. CDX-2 homeobox gene expression in human gastric carcinoma and precursor lesions. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006 Feb;21(2):438-42. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.03933.x. PMID: 16509871.
48. Okayama H, Kumamoto K, Saitou K, Hayase S, Kofunato Y, Sato Y, Miyamoto K, Nakamura I, Ohki S, Sekikawa K, Takenoshita S. CD44v6, MMP-7, and nuclear Cdx2 are significant biomarkers for prediction of lymph node metastasis in primary gastric cancer. *Oncol Rep*. 2009 Oct;22(4):745-55. doi: 10.3892/or_00000496. PMID: 19724852.
49. Wu XS, Akiyama Y, Igari T, Kawamura T, Hiranuma S, Shibata T, Tsuruta K, Koike M, Arii S, Yuasa Y. Expression of homeodomain protein CDX2 in gallbladder carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005 May;131(5):271-8. doi: 10.1007/s00432-004-0658-4. Epub 2005 Jan 11. PMID: 15645288.
50. Sakamoto H, Mutoh H, Ido K, Satoh K, Hayakawa H, Sugano K. A close relationship between intestinal metaplasia and Cdx2 expression in human gallbladders with cholelithiasis. *Hum Pathol*. 2007 Jan;38(1):66-71. doi 10.1016/j.humpath.2006.06.010. Epub 2006 Sep 25. PMID: 16996572.
51. Hong SM, Cho H, Moskaluk CA, Frierson HF Jr, Yu E, Ro JY. CDX2 and MUC2 protein expression in extrahepatic bile duct carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2005 Sep;124(3):361-70. doi: 10.1309/GTU1-Y77M-VR4D-X5A2. PMID: 16191504.

52. De Lott LB, Morrison C, Suster S, Cohn DE, Frankel WL. CDX2 is a useful marker of intestinal-type differentiation: a tissue microarray-based study of 629 tumors from various sites. *Arch Pathol Lab Med*. 2005 Sep;129(9):1100-5. doi: 10.5858/2005-129-1100-CIAUMO. PMID: 16119980.
53. Wani Y, Notohara K, Saegusa M, Tsukayama C. Aberrant Cdx2 expression in endometrial lesions with squamous differentiation: important role of Cdx2 in squamous morula formation. *Hum Pathol*. 2008 Jul;39(7):1072-9. doi 10.1016/j.humpath.2007.07.019. Epub 2008 May 20. PMID: 18495206.
54. Herawi M, De Marzo AM, Kristiansen G, Epstein JI. Expression of CDX2 in benign tissue and adenocarcinoma of the prostate. *Hum Pathol*. 2007 Jan;38(1):72-8. doi 10.1016/j.humpath.2006.06.015. Epub 2006 Aug 10. PMID: 16949907.
55. Aoki, K., Tamai, Y., Horiike, S. et al. Colonic polyposis caused by mTOR-mediated chromosomal instability in *Apc*^{+/ Δ 716 *Cdx2*^{+/-} compound mutant mice. *Nat Genet* 35, 323–330 (2003). <https://doi.org/10.1038/ng1265>}
56. J. Olsen, M.L.M. Espersen, P. Jess, L.T. Kirkeby, J.T. Troelsen, The clinical perspectives of CDX2 expression in colorectal cancer: A qualitative systematic review, *Surgical Oncology*, Volume 23, Issue 3, 2014, Pages 167-176, ISSN 0960-7404, <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2014.07.003>.
57. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009 Nov 25;139(5):871-90. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.007. PMID: 19945376.
58. Wang Y, Shi J, Chai K, Ying X, Zhou BP. The Role of Snail in EMT and Tumorigenesis. *Curr Cancer Drug Targets*. 2013 Nov;13(9):963-972. doi: 10.2174/15680096113136660102. PMID: 24168186; PMCID: PMC4004763.
59. Weyemi U, Redon CE, Sethi TK, Burrell AS, Jailwala P, Kasoji M, Abrams N, Merchant A, Bonner WM. Twist1 and Slug mediate H2AX-regulated epithelial-mesenchymal transition in breast cells. *Cell Cycle*. 2016 Sep 16;15(18):2398-404. doi: 10.1080/15384101.2016.1198864. Epub 2016 Jun 17. PMID: 27315462; PMCID: PMC5026799.
60. Yu, J., Li, S., Xu, Z. et al. CDX2 inhibits epithelial–mesenchymal transition in colorectal cancer by modulation of Snail expression and β -catenin stabilization via transactivation of PTEN expression. *Br J Cancer* 124, 270–280 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01148-1>
61. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002 Jul;2(7):489-501. doi: 10.1038/nrc839. PMID: 12094235.

62. Bettington, M, Walker, N, Clouston, A, Brown, I, Leggett, B & Whitehall, V (2013) *Histopathology* 62, 367– 386 The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges
63. Sakamoto N, Feng Y, Stolfi C, Kurosu Y, Green M, Lin J, Green ME, Sentani K, Yasui W, McMahon M, Hardiman KM, Spence JR, Horita N, Greenson JK, Kuick R, Cho KR, Fearon ER. BRAFV600E cooperates with CDX2 inactivation to promote serrated colorectal tumorigenesis. *Elife*. 2017 Jan 10;6:e20331. doi: 10.7554/eLife.20331. PMID: 28072391; PMCID: PMC5268782.
64. O'Connor ES, Greenblatt DY, LoConte NK, Gangnon RE, Liou JI, Heise CP, Smith MA. Adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer with poor prognostic features. *J Clin Oncol*. 2011 Sep 1;29(25):3381-8. doi: 10.1200/JCO.2010.34.3426. Epub 2011 Jul 25. PMID: 21788561; PMCID: PMC3164243.
65. C. Pilati, J. Taieb, R. Balogoun, L. Marisa, A. de Reyniès, P. Laurent-Puig, CDX2 prognostic value in stage II/III resected colon cancer is related to CMS classification, *Annals of Oncology*, Volume 28, Issue 5, 2017, Pages 1032-1035, ISSN 0923-7534, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx066>.
66. Cecchini MJ, Walsh JC, Parfitt J, Chakrabarti S, Correa RJ, MacKenzie MJ, Driman DK. CDX2 and Muc2 immunohistochemistry as prognostic markers in stage II colon cancer. *Hum Pathol*. 2019 Aug;90:70-79. doi 10.1016/j.humpath.2019.05.005. Epub 2019 May 21. PMID: 31121192.
67. Bruun, J., Sveen, A., Barros, R., Eide, P.W., Eilertsen, I., Kolberg, M., Pellinen, T., David, L., Svindland, A., Kallioniemi, O., Guren, M.G., Nesbakken, A., Almeida, R. and Lothe, R.A. (2018), Prognostic, predictive, and pharmacogenomic assessments of CDX2 refine stratification of colorectal cancer. *Mol Oncol*, 12: 1639-1655. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12347>
68. Delhorme JB, Bersuder E, Terciolo C, Vlami O, Chenard MP, Martin E, Rohr S, Brigand C, Duluc I, Freund JN, Gross I. CDX2 controls genes involved in the metabolism of 5-fluorouracil and is associated with reduced efficacy of chemotherapy in colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*. 2022 Mar;147:112630. doi 10.1016/j.biopha.2022.112630. Epub 2022 Jan 17. PMID: 35051860.
69. Asgari-Karchekani S, Karimian M, Mazoochi T, Taheri MA, Khamehchian T. CDX2 Protein Expression in Colorectal Cancer and Its Correlation with Clinical and Pathological Characteristics, Prognosis, and Survival Rate of Patients. *J Gastrointest Cancer*. 2020 Sep;51(3):844-849. doi: 10.1007/s12029-019-00314-w. PMID: 31630373.

70. Baba Y, Nosho K, Shima K, Freed E, Irahara N, Philips J, Meyerhardt JA, Hornick JL, Shivdasani RA, Fuchs CS, Ogino S. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2009 Jul 15;15(14):4665-73. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0401. Epub 2009 Jul 7. PMID: 19584150; PMCID: PMC2777758.
71. Bae JM, Lee TH, Cho NY, Kim TY, Kang GH. Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol.* 2015 Feb 7;21(5):1457-67. doi: 10.3748/wjg.v21.i5.1457. PMID: 25663765; PMCID: PMC4316088.
72. Kim JH, Shin SH, Kwon HJ, Cho NY, Kang GH. Prognostic implications of CpG island hypermethylation phenotype in colorectal cancers. *Virchows Arch* 2009; 455: 485-494 [PMID:19911194 DOI: 10.1007/s00428-009-0857-0]