



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Διευθυντής: Καθηγητής Κωνσταντίνος Ι. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

---

---

**Διδακτορική Διατριβή**

**"Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ**  
**ΠΝΕΥΜΟΝΑ"**

υπό

**ΛΑΔΑ Α. ΜΑΡΘΑ**

Ιατρός

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των  
απαιτήσεων για την απόκτηση του  
Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2014

© 2014 Μάρθα Λαδά

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

## **Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:**

- 1<sup>ος</sup> Εξεταστής  
(Επιβλέπων)** Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης  
*Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 2<sup>ος</sup> Εξεταστής** Ζωή Δανιήλ  
*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα  
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 3<sup>ος</sup> Εξεταστής** Επαμεινώνδας Ζακυνθινός  
*Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 4<sup>ος</sup> Εξεταστής** Χρήστος Παπανδρέου  
*Καθηγητής Παθολογία-Ογκολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 5<sup>ος</sup> Εξεταστής** Νικόλαος Μπαλατσός  
*Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Βιοχημείας  
και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 6<sup>ος</sup> Εξεταστής** Αλεξάνδρα Μπαργιώτα  
*Επίκουρος Καθηγήτρια Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας,  
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 7<sup>ος</sup> Εξεταστής** Θεοδώρα Κερενίδη  
*Λέκτορας Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική σε συνεργασία με το Τμήμα Ανοσολογίας Ιστοσυμβατότητας και το Τμήμα Πυρηνικής Φυσικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Στην έναρξη αλλά και στην ολοκλήρωση της ερευνητικής αυτής προσπάθειας τον πρωταρχικό καθοδηγητικό ρόλο διαδραμάτισε ο Καθηγητής και επιβλέπων της διατριβής μου Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης, ο οποίος με ενθάρρυνε να ασχοληθώ με την έρευνα και με εμπιστεύτηκε επιστημονικά από τα φοιτητικά μου ακόμα χρόνια. Για το λόγο αυτό τον ευχαριστώ θερμά για την ανάθεση αυτού του έργου και ελπίζω να υπήρξα αντάξια συνεργάτης των προσδοκιών του.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ζωή Δανιήλ και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Επαμεινώνδα Ζακυνθινό, οι οποίοι ως μέλη της τριμελούς επιτροπής της διατριβής μου παρακολουθούσαν την πρόοδο της έρευνάς μου και υπήρξαν πάντα διαθέσιμοι για να με συμβουλευθούν και να ενισχύσουν τις ερευνητικές μου ανησυχίες.

Με ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω να αναφερθώ στον άνθρωπο που με ξενάγησε στα μονοπάτια της μελέτης του καρκίνου και με ενέπνευσε να ασχοληθώ με τη δημιουργική έρευνα, με στόχο πάντα το βέλτιστο για τον ασθενή και όχι τη στείρα φιλοδοξία μου ως ιατρό. Η Λέκτορας Θεοδώρα Κερενίδη υπήρξε σημαντικότερος συμπαραστάτης σε ερευνητικό αλλά και σε ανθρώπινο επίπεδο. Με την ανεξάντλητη υπομονή και πίστη της προς το άτομό μου κατάφερα να φέρω εις πέρας το παρόν ερευνητικό έργο, ιδιαίτερα σε στιγμές που φαινόταν ακατόρθωτο. Νοιώθω τιμή που υπήρξα συνεργάτης της και το ευχαριστώ φαίνεται λίγο για να εκφράσει την αξία της συμβολής της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συνεργάτες από τα Τμήματα Πυρηνικής Ιατρικής και Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του ΠΠΓΝΛ για την ουσιαστική συνεισφορά τους στην πραγματοποίηση των απαραίτητων μετρήσεων. Συγκεκριμένα, ευχαριστώ τον Διευθυντή του Τμήματος Πυρηνικής Ιατρικής, Επίκουρο Καθηγητή Παναγιώτη Γεωργούλια που ανέλαβε τη μέτρηση των επιπέδων των ορμονών στα δείγματα του ορού. Επίσης, να ευχαριστήσω θερμά, το Διευθυντή του Τμήματος Ανοσολογίας- Ιστοσυμβατότητας καθηγητή Αναστάσιο Γερμενή, καθώς και τους συνεργάτες του Βάιο Καρανίκα και Γεδεών Λουλέ για τις μετρήσεις της μεταγραφικής έκφρασης των υποδοχέων στον ιστό. Ευχαριστίες και στους συναδέλφους από τη Θωρακοχειρουργική Κλινική που μου εξασφάλισαν πρόσβαση στα απαιτούμενα χειρουργικά αφαιρεθέντα ιστολογικά δείγματα.

Τέλος, ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ οφείλω να αποδώσω στην οικογένειά μου για την αμέριστη υλική και κυρίως ηθική συμπαράσταση που μου προσέφεραν προκειμένου να είμαι σε θέση να πραγματώσω το παρών ερευνητικό εγχείρημα. Και φυσικά πρώτα από όλους να ευχαριστήσω το σύντροφο της ζωής μου ο οποίος έμεινε σε όλη τη δύσκολη πορεία και παραμένει δίπλα μου στηρίζοντας με σε κάθε μου όνειρο.

# ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

## Προσωπικά Στοιχεία

*Επίθετο:* Λαδά

*Όνομα:* Μάρθα

*Πατρώνυμο:* Αθανάσιος

*Ημερομηνία Γεννήσεως:* 15 Σεπτεμβρίου 1979

*Υπηκοότητα:* Ελληνική

*Κατοικία:* Τυρνάβου και Εράσμου γωνία, Θεσσαλονίκη, 54634

*Τηλ.:* +302310202276, +306934736737

*E-mail:* drmlada@otenet.gr

## Σπουδές

- 2008 – 2011 : *Λάρισα Θεσσαλίας*  
Υποψήφια διδάκτωρ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τομέας  
Επιστημών Υγείας, Ιατρικής Σχολής Λάρισας.
- 1998 – 2005: *Λάρισα Θεσσαλίας*  
Απόφοιτος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τομέας Επιστημών Υγείας,  
Ιατρική Σχολή Λάρισας. Βαθμός πτυχίου 6,27
- 1994 – 1997: *Αμαρούσιο Αττικής*  
Απόφοιτος 1<sup>ου</sup> Λυκείου Αμαρουσίου.  
Βαθμός απολυτηρίου 19,1

## Εργασία

- 2011- : *Θεσσαλονίκη*  
Ειδικευόμενη Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής του Γ.Ν.Θ.  
«Γ. Παπανικολάου»
- 2008 – 2011 : *Λάρισα Θεσσαλίας*  
Συνεργάτης Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού  
Νοσοκομείου Λάρισας
- 2008 : *Εκπαιδύτρια στα Δημόσια Ι.Ε.Κ. Ευόσμου και Θεσσαλονίκης*
- 2006 – 2008: *Ζαγορά Μαγνησίας*  
Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου στο Κέντρο Υγείας Ζαγοράς.

- 2006 : *Βόλος Μαγνησίας*  
Τρίμηνη εκπαίδευση στο Γενικό Νοσοκομείο Βόλου (Γ.Ν.Β.).
- 2005 – 2006: *Νομός Αττικής*  
ΙΑτρός Αθλητικών Αγώνων στο σχολικό πρωτάθλημα νομού Αττικής

### **Σεμινάρια – Συνέδρια**

- 2013 : Εκπαιδευτική ημερίδα «Φυματίωση και Δημόσια Υγεία: Ανθρώπινα Δικαιώματα και Αρχές Ηθικής». 25 Ιανουαρίου Θεσσαλονίκη.  
: Επιστημονικό σεμινάριο «Νεότερα δεδομένα στην ταξινόμηση του καρκίνου του Πνεύμονα-Συσχέτιση με τη στοχευμένη θεραπεία». 10 Απριλίου Θεσσαλονίκη.  
: Εκπαιδευτικό σεμινάριο Ιδιοπαθείς Διάμεσες Πνευμονίες «Υπό το φως των νέων οδηγιών». 1 Ιουνίου Θεσσαλονίκη.  
: Ημερίδα «Καρκίνος του Πνεύμονα». 5 Οκτωβρίου Θεσσαλονίκη.
- 2012 : Ημερίδα «Συνεργασία Πνευμονολόγων-Νευρολόγων». 19 Μαΐου Θεσσαλονίκη(4CME) .  
: 1<sup>ο</sup> Πνευμονολογικό Συμπόσιο του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης, Θεραπευτικές Εξελίξεις στην Πνευμονολογία «Από τις δρόγες στα βλαστοκύτταρα». 16-18 Μαρτίου Αλεξανδρούπολη (11CME).  
: 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος. 1-4 Νοεμβρίου Θεσσαλονίκη.  
: Ημερίδα «Συνεργασία Πνευμονολόγων-Παιδιάτρων». 24 Νοεμβρίου Θεσσαλονίκη (4CME).
- 2010 : International Postgraduate Symposium on Lung Cancer. 10-13 Ιουνίου Σάμος (5CME).  
: Ημέρες Πνευμονολογίας. 10-11 Σεπτεμβρίου Ασπροπόταμος Τρικάλων.
- 2009 : UPDATES ASCO 2009 & WCLC. Φεβρουάριος Αθήνα.  
: Updates in Lung and Head & Neck Cancers. 7-10 Μαΐου Μύκονος.

- : 18<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. 26-29 Νοεμβρίου Θεσσαλονίκη.
- 2008 : Ημέρες Πνευμονολογίας. 12-13 Σεπτεμβρίου Καρδίτσα.  
: 17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. 20-23 Νοεμβρίου Αλεξανδρούπολη.
- 2006 : Εκπαιδευτικές Ημερίδες *Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας "Γ. Παπαδάκης"*. 13-17 Φεβρουαρίου Αθήνα (24CME).
- 2004 : Επιστημονική Ημερίδα «Αντιγόνα Ιστοσυμβατότητας (HLA). Σύγχρονα Δεδομένα-Κλινικές Εφαρμογές». 22 Οκτωβρίου Αθήνα.  
: Σεμινάριο Αυχενικής Διαφάνειας. 14 Φεβρουαρίου Λάρισα.  
: Συμπόσιο «Νέες Εξελίξεις στην Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή (ART)». 3-4 Απριλίου Λάρισα.
- 2003 : 3<sup>ο</sup> Παιδιατρικό Συμπόσιο Κεντρικής Ελλάδας. 11-13 Απριλίου Λάρισα (5CME).  
: 9ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας. 9-11 Μαΐου Αθήνα.
- 2002 : 8<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας. 19-21 Απριλίου Ιωάννινα.

## Προσόντα

### Ξένες γλώσσες

- *Αγγλική* (Άριστη γνώση - κάτοχος Cambridge First Certificate in English, Certificate of Proficiency in English).
- *Γερμανική* (Πολύ καλή γνώση - κάτοχος Zentrals Mittelstufen Prufungen).

### Γνώση ηλεκτρονικών υπολογιστών

- *Λειτουργικά συστήματα*: Windows 98, 2000, XP, Vista.
- *Λογισμικό*: Πακέτα Γραφείου (MS Office - Word, Excel, Access, Power Point, Open Office - Writer, Calc, Impress, Draw), σχεδιαστικά (Photoshop).
- *Σχεδιασμός / διαχείριση ιστοσελίδων* (MS Front Page).



- *Εφαρμογές Internet & E-mail* (Internet Explorer, Mozilla Firefox, Outlook, Outlook Express).

## **Δραστηριότητες**

2013 : Συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο TRUMPET για το άσθμα.

20011 – : Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα μαθημάτων της Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής κλινικής του ΓΝΘ «Γ. Παπανικολάου».

Παρακολούθηση του προγράμματος συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στην Πνευμονολογία της Εταιρείας Μελέτης Πνευμονοπαθειών και Επαγγελματικών Παθήσεων Θώρακος.

2008 – 2011: Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα μαθημάτων της Πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Συμμετοχή στο πρόγραμμα σπироμετρήσεων της Πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας «Πρόγραμμα έγκαιρης διάγνωσης της ΧΑΠ».

Συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο REACH για το άσθμα.

Συμμετοχή στο ερευνητικό πρωτόκολλο REACT για τη ΧΑΠ.

2007 – : Μέλος της ανθρωπιστικής μη κερδοσκοπικής μη κυβερνητικής οργάνωσης *FAIR PLANET*.

Σκοπός της οργάνωσης είναι η παροχή ανθρωπιστικής βοήθειας επείγουσας ή αναπτυξιακής, προκειμένου να συντελέσει στην κοινωνική και οικονομική ανάπτυξη, προς άτομα και κοινότητες των χωρών όλου του κόσμου, που αντιμετωπίζουν ανθρωπιστικές κρίσεις και προβλήματα, είτε αυτά προέρχονται από φυσικές καταστροφές είτε από πολιτικούς, κοινωνικούς και οικονομικούς παράγοντες.

1992 – 1994: *Μέλος της Περιβαλλοντικής Ομάδας του 3<sup>ου</sup> Γυμνασίου Αμαρουσίου. Τιμητική μνεία από τον τότε Δήμαρχο Αμαρουσίου για την εκπόνηση οργανωμένης έρευνας και κατάθεση προτάσεων που οδήγησαν στην έναρξη του έργου της Ανακύκλωσης στο Δήμο Αμαρουσίου.*

## **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ**

1. Kerenidi T, **Lada M**, Tsaroucha A, Georgoulas P, Mystridou P, Gourgoulanis KI. Clinical significance of serum adipokines levels in lung cancer. *Med Oncol*. 2013 Jun;30:507. doi: 10.1007/s12032-013-0507-x.
2. Manika K, Tasiopoulou K, Vlogiaris L, **Lada M**, Papaemmanouil S, Zarogoulidis K, Kioumis I. Rifampicin-associated acute renal failure and hemolysis: a rather uncommon but severe complication. *Ren Fail*. 2013 Sep;35:1179-81.

## **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ**

1. Μανίκα Κ, Μπούτσικου Ε, Σπυρόπουλος Γ, Γαλατάς Α, **Λαδά Μ**, Κιουμής Ι. Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας σε έδαφος κεχροειδούς φυματίωσης. *Πνεύμων* 2013, 26:364-368.

## **ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Kerenidi T, Tsaroucha A, **Lada M**, Georgoulas P, Mystridou P, Gourgoulanis KI, Kostikas K. Clinical significance of serum adipokines levels in lung cancer. *European Respiratory Journal* 2009, 34:53 (Suppl.), 475-475.
2. Tsilioni I, Kerenidi T, **Lada M**, Oikonomidi S, Kiropoulos T, Gourgoulanis KI. Elevated serum levels of oxidative stress biomarkers in patients with lung cancer. *European Respiratory Journal* 2010 P3250.

3. Kazakou A, Kerenidi T, **Lada M**, Tsilioni I, Dalaveris E, Gourgoulialis KI. Clinical significance of serum osteopontin levels in lung cancer. *European Respiratory Journal* 2012 P4210.
4. Lamprodinou G, Athanasiadis A, Kerenidi T, Doufexis D, **Lada M**, Tsilioni I, Roussos G, Vavougiou G, Gourgoulialis KI. Clinical significance of cytokines levels in exhaled breath condensate (EBC) and serum of lung cancer patients. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr e22202).

### **ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Ελευθεριάδου Δ, Παπαδοπούλου Α, **Λαδά Μ**, Μπαργιώτας Κ, Καραχάλιος Θ, Μαλίζος ΚΝ. Πρώιμα αποτελέσματα ολικής αρθροπλαστικής γόνατος που βασίζεται στην εμβιομηχανική αρχή του Medial Pivot. 8<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Ιωάννινα 19-21 Απριλίου 2002.
2. **Λαδά Μ**, Παπαδοπούλου Α, Σούκιας Ν, Σκεντέρης Ν. Διάρκεια του QRS διαστήματος και κοιλιακές αρρυθμίες σε ασθενείς με Τετραλογία Fallot στους οποίους έγινε υποβαλβιδική μυεκτομή. 9<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Αθήνα 9-11 Μαΐου 2003.
3. Παπαδοπούλου Α, **Λαδά Μ**, Σούκιας Ν, Σκεντέρης Ν. Δεξιοκαρδία με αναστροφή των σπλάχνων σε τρία αδέρφια, Αθήνα 9-11 Μαΐου 2003.
4. Νέγκα Χ, Κερενίδη Θ, Καραντάνα Μ, **Λαδά Μ**, Μακρής Δ, Γουργουλιάνης ΚΙ, Κουκούλης Γ. Διερεύνηση μεταστατικών πλευριτικών συλλογών απο καρκίνο πνεύμονα: η διαγνωστική αξία του θυρεοειδικού παράγοντα μεταγραφής (TTF1). 18<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 26-29 Νοεμβρίου 2009.
5. **Λαδά Μ**, Κερενίδη Θ, Μυστρίδου Π, Γουργουλιάνης Κ.Ι. Επιβίωση ασθενών με Μη Μικροκυτταρικό Καρκίνο Πνεύμονα (ΜΜΚΠ) και σύγχρονες εγκεφαλικές μεταστάσεις. 18<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 26-29 Νοεμβρίου 2009.
6. Μυστρίδου Π, Κερενίδη Θ, **Λαδά Μ**, Γεωργούλιας Π, Γουργουλιάνης Κ.Ι. Κλινική αξιολόγηση των τιμών της ενδογενούς ερυθροποιητίνης στο Μη

Μικροτυτταρικό Καρκίνο Πνεύμονα. 18<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 26-29 Νοεμβρίου 2009.

7. Τσιλιώνη Ε, Κερενίδη Θ, **Λαδά Μ**, Οικονομίδη Σ, Κυρόπουλος Θ, Γουργουλιάνης ΚΙ. Αυξημένα επίπεδα οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών δεικτών σε ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα. 19<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Ρόδος 22-24 Οκτωβρίου 2010.
8. Μαραγκοζίδης Π, Τοτόμη Α, Καρέτση Ε, Παπαδόπουλος Δ, Τσολάκη Β, **Λαδά Μ**, Τσιλιώνη Ε, Κερενίδη Θ, Γουργουλιάνης Κ.Ι, Μπαλατσός Ν. Μελέτη της έκφρασης των αποαδενυλασών σε ασθενείς με καρκινικό πνεύμονα. 20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αθήνα 24-27 Νοεμβρίου 2011.
9. Καζάκου Α, Κερενίδη Θ, **Λαδά Μ**, Τσιλιώνη Ε, Λαμπροδήμου Γ, Γουργουλιάνης Κ.Ι. Η διαγνωστική και προγνωστική αξία της οστεοποντίνης (OPN) στον καρκινικό πνεύμονα. 20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αθήνα 24-27 Νοεμβρίου 2011.
10. Τσιάτσιου Ο, Μανίκα Κ, Παπαδοπούλου Η, **Λαδά Μ**, Χατζίκα Κ, Κατράγκου Α, Ανταχόπουλος Χ, Ροηλίδης Ε, Κιουμής Ι. Έλεγχος περιβάλλοντος ασθενή με φυματίωση εργαζόμενου σε παιδικό σταθμό. 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 1-4 Νοεμβρίου 2012.
11. Σιωνίδου Μ., Σπυράτος Δ., Σπυρόπουλος Γ., Κηπουρού Μ., Λαδά Μ., Ζαρογουλίδης Κ. Ενδοϋπεζωκοτική έγχυση ινωδολυτικού παράγοντα σε επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές. 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 1-4 Νοεμβρίου 2012.
12. Κερενίδη Θεοδώρα, Λαμπροδήμου Γεωργία, Λαδά Μάρθα, Τσιλιώνη Ειρήνη, Βαβουγιός Γεώργιος, Αθανασιάδης Αθανάσιος, Γουργουλιάνης Ι Κωνσταντίνος Η κλινική αξία των επιπέδων φλεγμονωδών κυτταροκινών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα (EBC) και στον ορό ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα. 22<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αθήνα 5-7 Δεκεμβρίου 2013.

13. Κόκκορη Ιωάννα, Μαραγκοζίδης Παναγιώτης, Κερενίδη Θεοδώρα, Λαδά Μάρθα, Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος, Μπαλατσός Νικόλαος. Η έκφραση των αποαδενυλασών στο μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. 22<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αθήνα 5-7 Δεκεμβρίου 2013.

# **“Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ”**

**ΜΑΡΘΑ ΛΑΔΑ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2014

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- 1. Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης,** Καθηγητής Πνευμονολογίας,  
*Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας- (Επιβλέπων),*
- 2. Ζωή Δανιήλ,** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα  
*Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλία*
- 3. Επαμεινώνδας Ζακυνθινός,** Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας,  
*Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

# ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Οι αδιοποκίνες επιδρούν σημαντικά στο μεταβολισμό, στην ανοσιακή απάντηση όπως και στην καρκινογένεση.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Ο σκοπός της μελέτης ήταν α) ο προσδιορισμός των επιπέδων της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης σε δείγματα ορού αίματος από ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα και υγιείς εθελοντές, β) η ανίχνευση της μεταγραφικής έκφρασης των υποδοχέων της λεπτίνης σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, σε καρκινικό και σε παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό πνεύμονα ασθενών που υπεβλήθησαν σε χειρουργείο γ) και η συσχέτιση των παραπάνω παραγόντων με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους, με την ανταπόκριση στη θεραπεία και με την επιβίωση των ασθενών.

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ:** Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκαν τα επίπεδα της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης σε ορό αίματος 80 ασθενών-μέσης ηλικίας  $62,9 \pm 9,2$  έτη- με επιβεβαιωμένο καρκίνο πνεύμονα (61 ΜΜΚΠ και 19 ΜΚΠ) πριν από οποιαδήποτε θεραπεία και 40 υγιών εθελοντών. Οι μετρήσεις έγιναν με τη μέθοδο RIA (Radioimmunoassay). Επίσης έγινε ανίχνευση της μεταγραφικής έκφρασης του υποδοχέα OBRS και OBRL της λεπτίνης σε καρκινικό και παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό 21 χειρουργημένων ασθενών με καρκίνο πνεύμονα και σε 9 καρκινικές σειρές πνεύμονα.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Τα επίπεδα της λεπτίνης ήταν χαμηλότερα ( $p < 0.0001$ ), ενώ της αδιπονεκτίνης υψηλότερα ( $p = 0.0003$ ) και ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης ήταν μικρότερος στους ασθενείς ( $p < 0.0001$ ) έναντι των υγιών μαρτύρων. Η σχετική έκφραση για τον OBRL στον καρκινικό ιστό ήταν κατά 6 φορές μικρότερη έναντι του παρακείμενου μη προσβεβλημένου ιστού [διάμεση τιμή - 6,23 (min-16,88/max-1,07)] ενώ για τον OBRS ήταν κατά 7 φορές μικρότερη [διάμεση τιμή - 6,75 (min -29,59/max-1,79)]. Δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση

μεταξύ των επιπέδων των αδιπονεκτινών, ούτε και της έκφρασης των υποδοχέων με κάποια από τις κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους. Ασθενείς με χαμηλότερες τιμές λεπτίνης εμφάνιζαν και μικρότερη επιβίωση ( $p=0.014$ ) ενώ από την πολυπαραγοντική ανάλυση αναδείχθηκαν τα επίπεδα της λεπτίνης ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:** Οι αδιποκίνες πιθανότατα παίζουν ρόλο στην παθογένεση του καρκίνου του πνεύμονα ενώ η λεπτίνη ενδέχεται να αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για την επιβίωση των ασθενών.

## ABSTRACT

**Objective:** Adipokines have a significant effect on metabolism, immunoinflammatory responses as well as on carcinogenesis.

The aim of the present study was a) to determine leptin and adiponectin serum levels in lung cancer patients and healthy volunteers, b) to detect the expression of mRNA leptin receptor in lung cancer cell lines and in lung cancer and adjacent non-malignant tissue from patients that underwent surgery and c) to identify possible association of these measurements with clinicopathological variables, response to therapy and survival of the patients.

**Methods:** Serum levels of leptin, and adiponectin were measured in eighty patients—mean age  $62.9 \pm 9.2$  years—with previously untreated lung cancer (61 NSCLC and 19 SCLC) of all stages and 40 healthy individuals. The measurements were made by using human Radioimmunoassay kits. Leptin receptor mRNA expression was detected in lung cancer and adjacent tissue from 21 LC patients that had been operated and in 9 LC cell lines.



**Results:** Serum leptin levels in lung cancer patients were statistically significantly lower compared to control ( $p < 0.0001$ ), while adiponectin were increased ( $p = 0.0003$ ) and leptin/adiponectin ratio was lower in the patients group compared to controls ( $p < 0.0001$ ). The OBRL expression was six [- 6.23 (-16.88, -1.07)] and the OBRS seven [- 6.75 (-29.59, -1.79)] times lower in the cancerous tissue compared to the adjacent. There was no association between serum levels of adipokines or receptors expression and any of the patient clinicopathological characteristics or response to therapy. Nevertheless, patients with lower values of serum leptin had shorter overall survival ( $p = 0.014$ ), whereas multivariate analysis revealed leptin levels as an independent prognostic factor for survival ( $p = 0.024$ , HR 0.452, CI 95 % 0.232–0.899).

**Conclusion:** These results suggest that adipokines may play a role in the pathogenesis of lung cancer, while leptin serum levels might provide useful prognostic information.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ</b> .....	<b>19</b>
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	<b>21</b>
<b>1 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ</b> .....	<b>22</b>
<b>2 ΑΔΙΠΟΚΙΝΕΣ</b> .....	<b>28</b>
2.1 ΛΕΠΤΙΝΗ.....	28
2.1.1 ΒΙΟΛΟΓΙΑ.....	28
2.1.1.1 ΣΥΝΘΕΣΗ-ΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	28
2.1.1.2 ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ.....	30
2.1.2 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ .....	34
2.1.2.1 ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ .....	37
2.1.2.1.1 ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ .....	40
2.1.2.1.2 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ .....	45
2.2 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ.....	49
2.2.1 ΒΙΟΛΟΓΙΑ.....	49
2.2.2 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ .....	53
2.2.2.1 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ.....	56
2.3 ΣΧΕΣΗ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ .....	57
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	<b>60</b>
<b>3 ΥΛΙΚΟ</b> .....	<b>61</b>
3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΔΙΠΟΚΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΙΜΑΤΟΣ .....	62
3.2 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΛΕΠΤΙΝΗΣ .....	64
<b>4 ΜΕΘΟΔΟΣ</b> .....	<b>66</b>
4.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΔΙΠΟΚΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ .....	66
4.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ .....	67
4.2.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	68
4.2.2 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	69
4.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ .....	73
<b>5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>75</b>
5.1 ΕΠΙΠΕΔΑ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ .....	75
5.1.1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	77
5.1.2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΔΙΠΟΚΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	79
5.2 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ.....	81
5.2.1 ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ.....	81
5.2.2 ΣΕ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ .....	81
<b>6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	<b>84</b>
<b>7 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	<b>92</b>

# **ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ**

**ΜΜΚΠ:** Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος Πνεύμονα

**ΜΚΠ:** Μικροκυτταρικός Καρκίνος Πνεύμονα

**EGFR:** Epidermal Growth Factor Receptor

**FEV1:** Forced Expiratory Volume in 1 second

**DLCO:** Diffusing Capacity of the Lung for carbon monoxide (CO)

**kDa:** kilo Dalton

**BMI:** Body Mass Index

**TNF-α:** Tumor Necrosis Factor α

**IL:** Interleukin

**OB-R:** υποδοχέας λεπτίνης

**JAK-STAT:** Janus Kinase and Signal Transducer and Activator of Transcription

**ERK:** Extracellular signal-regulated kinases

**Bcl-2:** B-cell lymphoma 2

**Adipo-R:** υποδοχέας αδιπονεκτίνης

**RT-PCR:** Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

**NSCLC:** Non Small Cell Lung Cancer

**SCLC:** Small Cell Lung Cancer

**SqCLC:** Squamous Cell Lung Cancer

**NOS:** Non Otherwise Specified

**PS:** Performance Status

**Αφιερωμένη  
στη Βασιλική και το Μιχάλη**

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# **1 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**

Ο καρκίνος εξακολουθεί να αποτελεί τη δεύτερη αίτια θανάτου μετά τις καρδιακές παθήσεις, καθώς σχεδόν ένας στους τέσσερις ανθρώπους στις ΗΠΑ πεθαίνει από καρκίνο, σύμφωνα με το αμερικανικό Εθνικό Ινστιτούτο για τον καρκίνο. Ιδιαίτερα για τον καρκίνο του πνεύμονα και βρόγχων, για το 2010 εκτιμώνται 222.520 νέα περιστατικά που αποτελούν περίπου το 15% του συνόλου των νέων περιστατικών με καρκίνο στις ΗΠΑ [1]. Τα ποσοστά που αφορούν τη θνησιμότητα είναι ακόμη πιο δραματικά καθώς ο καρκίνος του πνεύμονα παγκοσμίως συνεχίζει να αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου από καρκίνο και στα δύο φύλα. Συγκεκριμένα στις ΗΠΑ εκτιμάται ότι κατά τη διάρκεια του 2010 απεβίωσαν από καρκίνο πνεύμονα 157.300 άνθρωποι, το 29% των αντρών και το 26% των γυναικών καρκινοπαθών [1].

Όσον αφορά στην ελληνική πραγματικότητα, σύμφωνα με τα σχετικά στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας διαπιστώνεται αυτό που ισχύει στις περισσότερες χώρες του κόσμου, ότι ο καρκίνος αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου. Στους άνδρες, η πρώτη αιτία θανάτου μεταξύ των κακοήθων νεοπλασμάτων, είναι τα νεοπλάσματα της τραχείας, των βρόγχων και των πνευμόνων, με μεγάλη διαφορά από τη δεύτερη, που είναι ο καρκίνος του προστάτη. Στις γυναίκες, τα νεοπλάσματα του αναπνευστικού συστήματος αποτελούν τη δεύτερη σε συχνότητα αιτία θανάτου από καρκίνο, διατηρώντας σταθερή αυξητική τάση (η θνησιμότητα των γυναικών από τα νεοπλάσματα του αναπνευστικού αυξήθηκε κατά 10,7% τα τελευταία 15 χρόνια). Υπολογίζεται ότι ο καρκίνος του πνεύμονα ευθύνεται για το 35% των θανάτων από καρκινικά αίτια στους άρρενες και για το 25% στις γυναίκες. Επίσης εκτιμάται ότι προκαλεί περισσότερους θανάτους από όσους όλοι μαζί οι επόμενοι 3 σε

συχνότητα καρκίνοι, του παχέος εντέρου, του μαστού και του προστάτη αδένα [2].

Η αγωνία του κλινικού ιατρού εστιάζεται ακόμα και σήμερα στην κατά το δυνατό πρωιμότερη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα. Παρά την αξιόλογη πρόοδο των τελευταίων χρόνων στη διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών με καρκίνο πνεύμονα η συνολική πρόγνωση παραμένει πτωχή. Η συνολική πενταετής επιβίωση ανέρχεται στο 15% και η πενταετής επιβίωση για το στάδιο I της νόσου στο 60%. Αυτό οφείλεται αφενός στην αδυναμία εφαρμογής ριζικής θεραπείας λόγω της μη έγκαιρης διάγνωσης της νόσου στην πλειονότητα των περιστατικών και αφετέρου στο γεγονός ότι τα κλασικά χημειοθεραπευτικά σχήματα έχουν φτάσει πλέον σε ένα θεραπευτικό πλατό.

Η καρκινογένεση στον πνεύμονα είναι μια πολυ-σταδιακή διαδικασία προοδευτικής αποδιοργάνωσης, χαρακτηριζόμενη από γεγονότα σε λανθάνουσες περιόδους ως αποτέλεσμα της έκθεσης σε περιβαλλοντικές προσβολές. Το κάπνισμα είναι ο μείζων παράγοντας κινδύνου για το 85% των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα αν και μόνο ένας στους 10 καπνιστές θα αναπτύξει καρκίνο, γεγονός που παραπέμπει σε μεμονωμένες διαφοροποιήσεις που πιθανότατα οφείλονται στο γενετικό προφίλ του ασθενούς.

Η διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα γίνεται κατά κανόνα σε προχωρημένο στάδιο της νόσου λόγω των ιδιομορφιών της ανατομίας του πνεύμονα, αφού ένας όγκος χρειάζεται συνήθως μεγάλο χρονικό διάστημα ώστε να αποκτήσει το μέγεθος που θα συνοδευτεί από συμπτώματα. Σαν αποτέλεσμα, σε ποσοστό μεγαλύτερο από 80% των ασθενών διαγιγνώσκεται ανεγχείρητη νόσος. Το διάστημα που μεσολαβεί από την εμφάνιση των αρχικών συμπτωμάτων μέχρι την αναζήτηση ιατρικής βοήθειας κυμαίνεται από λίγους μήνες έως και δύο χρόνια. Σπανιότερα, ο καρκίνος του πνεύμονα κατά τη

διάγνωση είναι ασυμπτωματικός και ανακαλύπτεται τυχαία με αφορμή μια παθολογική ακτινογραφία θώρακα.

Σημαντικός παράγοντας για το σχεδιασμό της θεραπευτικής προσέγγισης αλλά και για την εκτίμηση της πρόγνωσης του εκάστοτε ασθενούς αποτελεί εκτός από το στάδιο της νόσου και ο ιστολογικός τύπος του νεοπλασματος που διαγιγνώσκεται. Όπως γνωρίζουμε, οι δύο κύριοι τύποι καρκίνου πνεύμονα είναι ο μη-μικροκυτταρικός (ΜΜΚΠ) και ο μικροκυτταρικός (ΜΚΠ), οι ονομασίες των οποίων περιγράφουν το μέγεθος των καρκινικών κυττάρων όπως είναι ορατά με το κοινό μικροσκόπιο. Ο ΜΜΚΠ αντιπροσωπεύει περίπου το 80-85% των ιστολογικών τύπων του καρκίνου του πνεύμονα και χωρίζεται σε αρκετούς υπότυπους. Σύμφωνα με την κατάταξη κατά WHO του 2001, οι κακοήθεις επιθηλιακοί όγκοι του πνεύμονα διακρίνονται στους εξής βασικούς τύπους: α) *Πλακώδες ή επιδερμοειδές καρκίνωμα*. Παλιότερα θεωρείτο ο συχνότερος τύπος καρκίνου του πνεύμονα, αλλά τις τελευταίες δύο δεκαετίες τη θέση του έχει πάρει το αδενοκαρκίνωμα. Συνήθως αναπτύσσεται στα τοιχώματα μεγάλων βρόγχων προκαλώντας απόφραξη και σχετίζεται άμεσα με το κάπνισμα. β) *Μικροκυτταρικό (ΜΚΠ)*. Αντιπροσωπεύει πλέον λιγότερο του 20% του συνόλου των βρογχογενών καρκίνων με σταθερά πτωτική τάση. Σχετίζεται απολύτως με το κάπνισμα και χαρακτηρίζεται ως ο πιο επιθετικός τύπος καρκίνου του πνεύμονα αλλά ταυτόχρονα και ο πιο χημειο- και ακτινοευαίσθητος. Ιστολογικά σήμερα διακρίνεται σε αμιγώς ΜΚΠ και σε συνδυασμένο (συνδυασμός με πλακώδες, αδενοκαρκίνωμα ή μεγαλοκυτταρικό). γ) *Αδενοκαρκίνωμα*. Είναι ο πιο συχνός τύπος καρκίνου πνεύμονα σε πολλές χώρες και υπολογίζεται ότι φτάνει σε ποσοστό 50% επί των περιστατικών. Προτιμά το γυναικείο πληθυσμό και τους μη καπνιστές και συνήθως έχει περιφερική εντόπιση. Λιγότερο συχνοί τύποι αποτελούν το δ) *Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα*, ε) *Αδενοπλακώδες*, στ)



*Πλειομορφικό καρκίνωμα, σαρκοματοειδές ή με σαρκοματοειδή στοιχεία, ζ) Καρκινοειδές (τυπικό, άτυπο), η) Καρκίνωμα τύπου σιελογόνων αδένων και θ) Αταξινόμητο καρκίνωμα.*

Αξίζει να σημειωθεί ότι δεδομένου ότι το 70% των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα διαγιγνώσκονται σε προχωρημένο στάδιο, άρα και ανεγχείρητη νόσο, η διάγνωσή τους στηρίζεται είτε σε μικρά δείγματα βιοψιών, είτε σε κυτταρολογικές αναλύσεις υλικών. Έτσι, στην νέα αυτή κατηγοριοποίηση, για πρώτη φορά προτείνονται συγκεκριμένα κριτήρια και ορολογία βασισμένα στη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα από μικρά δείγματα βιοψίας ή κυτταρολογικό υλικό. Επιπλέον, από την τελευταία ταξινόμηση κατά WHO του 2004, οι θεραπευτικές προσεγγίσεις έχουν ήδη λάβει μια στροφή προς την εξατομίκευση της θεραπείας με βάση τον ιστολογικό υπότυπο και το μοριακό προφίλ του όγκου. (bevacizumab, pemetrexed αναστολείς EGFR). Τα δεδομένα αυτά όπως είναι φυσικό επιτάσσουν ακόμη πιο αναγκαίο τον κατά το μέγιστο δυνατό ακριβή προσδιορισμό του ιστολογικού τύπου του νεοπλασματος που καλείται να αντιμετωπίσει ο θεράπων ιατρός.

Η θεραπευτική για τον καρκίνο του πνεύμονα έχει εξελιχθεί σε μεγάλο βαθμό τα τελευταία χρόνια και αυτό κυρίως λόγω της συνειδητοποίησης ότι τα κλασικά χημειοθεραπευτικά σκευάσματα ή οι συνδυασμοί τους, παρά τη σημαντική τους προσφορά, έχουν φτάσει σε αναπόφευκτο αδιέξοδο. Συνεπώς, δικαίως βλέπουμε το ερευνητικό ενδιαφέρον να έχει στραφεί στην προσπάθεια για αναγνώριση χαρακτηριστικών, είτε σε μοριακό είτε σε κλινικό επίπεδο, που είναι δυνατόν να αποτελέσουν κριτήρια επιλογής των ασθενών, στο πλαίσιο μιας πιο στοχευμένης ή εξατομικευμένης θεραπευτικής προσέγγισης.

Η χειρουργική αντιμετώπιση αποτελεί την πιο αποτελεσματική θεραπεία για τον πρώιμου σταδίου καρκίνο του πνεύμονα, εφόσον βέβαια ο ασθενής

είναι χειρουργήσιμος. Όσον αφορά στην καταλληλότητα του ασθενή για ριζική θεραπεία (χειρουργείο και χημειο-ακτινοθεραπεία), έχουν προταθεί κλινικές κατευθυντήριες γραμμές [3] από την Ευρωπαϊκή Πνευμονολογική Κοινότητα (ERS) και από την Ευρωπαϊκή Θωρακοχειρουργική Κοινότητα (ESTS). Σύμφωνα με τις εν λόγω συστάσεις υπάρχει ένας λειτουργικός αλγόριθμος για την αξιολόγηση των υποψήφιων ασθενών για χειρουργική θεραπεία, όπου δίνεται έμφαση στην καρδιολογική εκτίμηση, στον FEV<sub>1</sub>, στη συστηματική διαχυτική ικανότητα DLCO και στη δοκιμασία κόπωσης. Αντιθέτως δεν έχει οριστεί μια συγκεκριμένη διαχωριστική γραμμή στα πλαίσια της αξιολόγηση των ασθενών πριν την εφαρμογή χημειο-ακτινοθεραπείας παραμένοντας ως μόνο αδρό κριτήριο η γενική κατάσταση του ασθενούς (Performance Status, PS).

Η εφαρμογή επιθετικού τοπικού ελέγχου με χειρουργική εξαίρεση του όγκου αποτελεί την πρώτη επιλογή για την αντιμετώπιση της νόσου αρχικού σταδίου. Για την τοπικά προχωρημένη νόσο ο συνδυασμός χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας αποτελεί την ενδεδειγμένη θεραπευτική προσέγγιση. Η συστηματική χρήση της χημειοθεραπείας έχει χρησιμοποιηθεί σε μία προσπάθεια παράτασης της ελεύθερης νόσου επιβίωσης και της συνολικής επιβίωσης σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο. Αυτές οι θεραπευτικές παρεμβάσεις έχουν προσφέρει μία μικρή ελάττωση στους δείκτες θνησιμότητας τα τελευταία χρόνια. Παρόλα αυτά, φαίνεται απίθανο να προκύψουν στο εγγύς μέλλον πρόσθετες ακόμα και μικρές βελτιώσεις στην επιβίωση μόνο με αυτές τις πρακτικές. Γι' αυτό και η αναγνώριση βιολογικών δεικτών οι οποίοι θα μπορούσαν να αποτελέσουν διαγνωστικούς, προβλεπτικούς και προγνωστικούς παράγοντες και να βοηθήσουν στον έλεγχο του καρκίνου του πνεύμονα περιλαμβάνεται στους στόχους των ερευνητών τα τελευταία χρόνια. Έχει καταστεί πλέον σαφές ότι πολλές ορμόνες και κυτταροκίνες εκφράζονται σε ένα

ευρύτατο πλαίσιο ακόμα και έκτοπα από νεοπλασματικά κύτταρα. Ανάμεσα σε αυτές, οι κυτταροκίνες του λιπώδους ιστού, οι λεγόμενες αδιποκίνες έχει φανεί ότι πιθανότατα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ογκογένεση του καρκίνου του πνεύμονα.

## **2 ΑΔΙΠΟΚΙΝΕΣ**

Οι αδιποκίνες είναι ορμόνες που παράγονται από το λιπώδη ιστό και ανακαλύφθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του ενενήντα όταν περιγράφηκε για πρώτη φορά μία εξ αυτών, η λεπτίνη. Μέχρι τότε ο λιπώδης ιστός θεωρείτο ως αποθήκη ενέργειας και μηχανικός φραγμός του ανθρωπίνου σώματος με παθητική ουσιαστικά δράση. Η ανακάλυψη του πρώτου μέλους των αδιποκινών οδήγησε στην αναγνώριση σταδιακά και των υπόλοιπων μελών της οικογένειας των αδιποκινών και στην επιβεβαίωση του λιπώδους ιστού ως βασικού ενδοκρινικού οργάνου με ενεργό ρόλο στη ρύθμιση της ενεργειακής ομοιόστασης, του μεταβολισμού καθώς και της ανοσοφλεγμονώδους διαδικασίας [4].

### **2.1 ΛΕΠΤΙΝΗ**

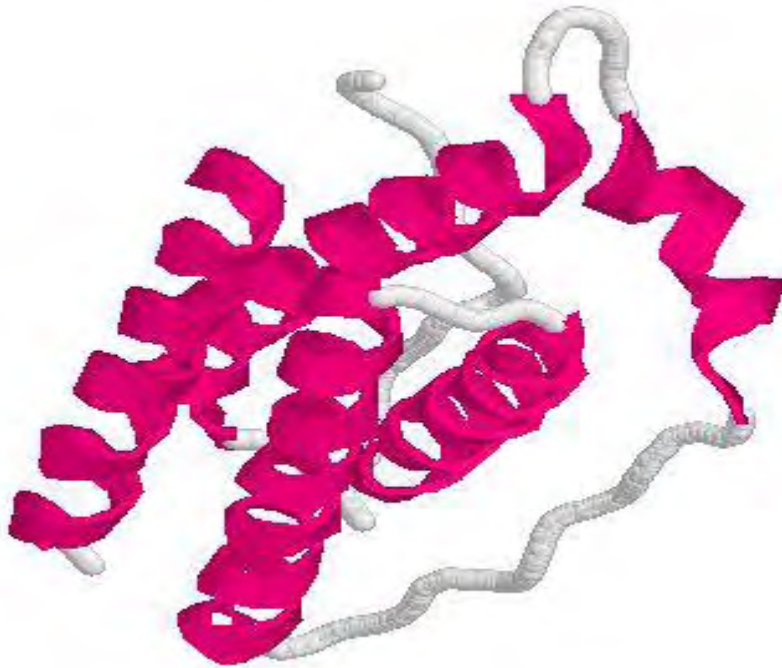
#### **2.1.1 ΒΙΟΛΟΓΙΑ**

##### **2.1.1.1 ΣΥΝΘΕΣΗ-ΠΑΡΑΓΩΓΗ**

Η λεπτίνη είναι προϊόν του γονιδίου *ob* που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7 και ανακαλύφθηκε σχετικά πρόσφατα (1994). Πρόκειται για μια πρωτεϊνική προορμόνη με μοριακό βάρος 16kDa [5], που η ακολουθία των αμινοξέων της φαίνεται ότι τη διακρίνει από τις υπόλοιπες πρωτεΐνες [6]. Η πρωτεΐνη αυτή ανήκει στην οικογένεια των κυτταροκινών με τέσσερις μακριές έλικες στη δομή της (Εικόνα 1) και το όνομα της προέρχεται από την ελληνική λέξη λεπτός.

Λόγω της προέλευσής της, η λεπτίνη ανήκει στην κατηγορία των αδιποκινών που παράγονται κατά κύριο λόγο από τα κύτταρα του λευκού λιπώδη ιστού, όπως και η αδιπονεκτίνη. Μία άλλη κατηγοριοποίηση με βάση τη

φυσιολογία της ορμόνης, την τοποθετεί ανάμεσα στους παράγοντες που ευαισθητοποιούν την ινσουλίνη, όπως είναι και η αδιπονεκτίνη και βισφατίνη.



**Εικόνα 1.** Το μόριο της λεπτίνης

Παράγεται κατά κύριο λόγο από διαφοροποιημένα αδιποκύτταρα, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι σε μικρότερες ποσότητες μπορεί να παραχθεί και από άλλους ιστούς, όπως τον πλακούντα, το βλεννογόνο του στομάχου, τους σκελετικούς μύες και το ήπαρ [7].

Στον ανθρώπινο οργανισμό ο βασικότερος παράγοντας που επηρεάζει τη συγκέντρωση της λεπτίνης στο πλάσμα είναι η μάζα του λιπώδη ιστού [8]. Τα κυκλοφορούντα επίπεδα λεπτίνης παρουσιάζουν μια ιδιαίτερα θετική συσχέτιση με το συνολικό σωματικό λίπος και σε μικρότερο βαθμό με το δείκτη μάζας σώματος (BMI) [9,10,11]. Επίσης, τα επίπεδα λεπτίνης στον ορό είναι υψηλότερα κατά 2-3 φορές στις γυναίκες σε σχέση με τους άντρες ακόμα και μετά από προσαρμογή σε σχέση με το BMI και την ηλικία [12]. Η διαφορά αυτή μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική ρύθμιση της έκφρασης της λεπτίνης από

τις γενετικές ορμόνες. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί ότι τα οιστρογόνα επηρεάζουν θετικά [13,14] ενώ η τεστοστερόνη αρνητικά τα επίπεδα της λεπτίνης [15,16]. Εκτός από τις ορμόνες αναπαραγωγής, η σύνθεση της λεπτίνης στα αδιποκύτταρα επηρεάζεται και από άλλους χημικούς παράγοντες, κυρίως από την ινσουλίνη [17], τον παράγοντα νέκρωσης όγκου α (TNF-α) [18], τα γλυκοκορτικοειδή [19] και τις προσταγλαδίνες [20].

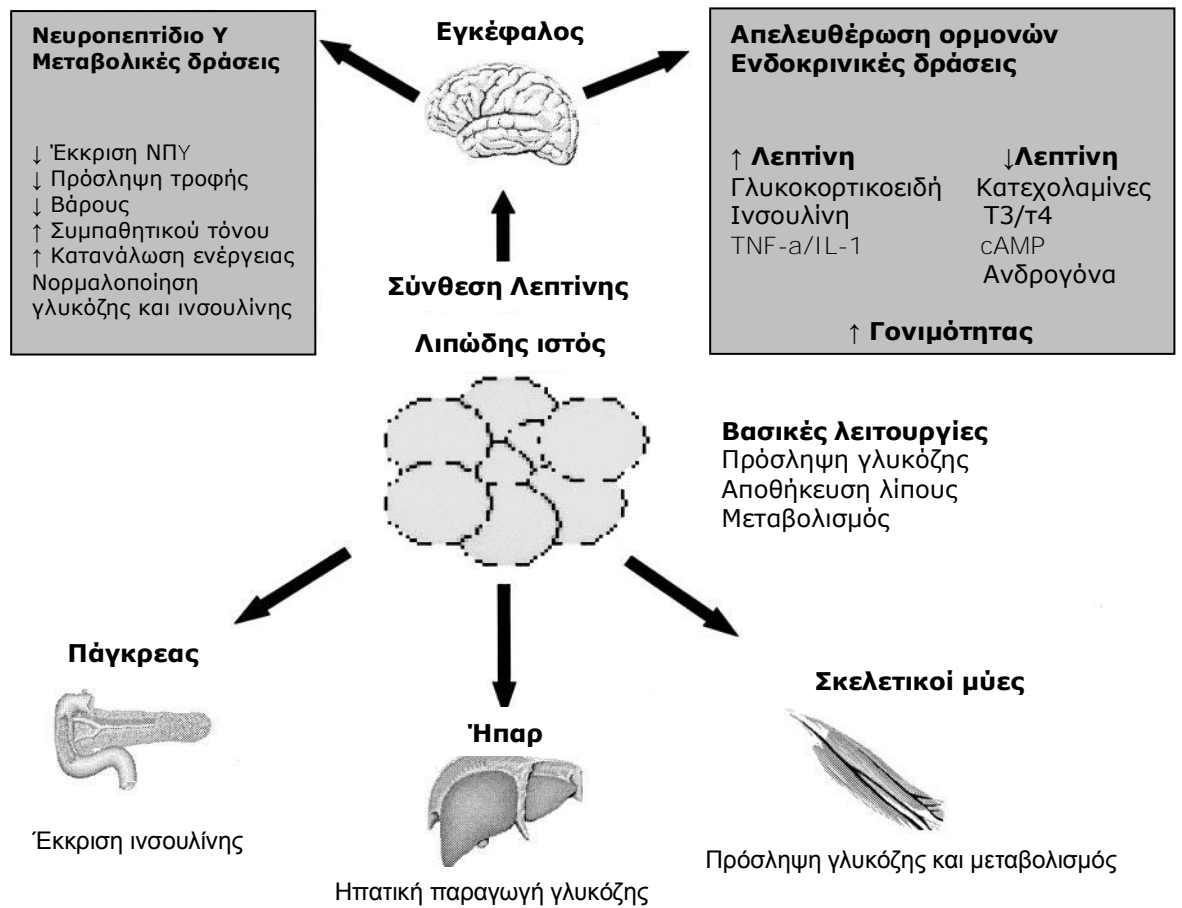
Αξίζει να αναφερθεί, ότι σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, φαίνεται ότι η λεπτίνη εκφράζεται στον άνθρωπο σε επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων, σε κυψελιδικά πνευμονοκύτταρα τύπου II καθώς και σε μακροφάγα του πνεύμονα [21].

#### **2.1.1.2 ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ**

Η λεπτίνη δρα στο κεντρικό νευρικό σύστημα, συγκεκριμένα στον υποθάλαμο, περιορίζοντας την πρόσληψη τροφής και διεγείροντας την κατανάλωση ενέργειας [22]. Έχει βρεθεί ότι τα *Ob/ob* ποντίκια που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη λεπτίνη, δεν παράγουν την εν λόγω ορμόνη παρά μετατρέπονται σε παχύσαρκα, στείρα, υπερφαγικά, υποθερμικά και διαβητικά λόγω της ακατάσχετης όρεξης για τροφή που τα διακατέχει [23]. Στους ανθρώπους, όπως συμβαίνει και με τα ποντίκια, η λεπτίνη αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της ενεργειακής ισορροπίας. Ο υποδοχέας της λεπτίνης εμφανίζεται στις υψηλότερες συγκεντρώσεις στα κέντρα του υποθαλάμου τα υπεύθυνα για την πρόσληψη τροφής [24], προσδιορίζοντας τη λεπτίνη ως το προεξάρχων μήνυμα για την πληροφόρηση του κεντρικού νευρικού συστήματος σε σχέση με την κατάσταση του σωματικού λίπους. Η θεώρηση αυτή υποστηρίζεται περαιτέρω από την παρατήρηση ότι η θεραπεία με λεπτίνη σε δυσλειτουργικά (*ob/ob*) ως προς τη λεπτίνη ποντίκια

και ανθρώπους είναι επιτυχής. Για το λόγο αυτό η λεπτίνη κυρίως θεωρήθηκε αρχικά ως θεραπεία παχυσαρκίας. Παρόλα αυτά, τα παχύσαρκα άτομα συχνά εμφανίζουν αυξημένες τιμές λεπτίνης [25] με αποτέλεσμα η χορήγηση λεπτίνης να έχει μόνο περιορισμένα αποτελέσματα [26]. Αντίθετα όμως από ότι παρατηρείται στα ποντίκια, η ανθρώπινη παχυσαρκία δε σχετίζεται με δυσλειτουργία της λεπτίνης, αλλά με την ανάπτυξη αντοχής σε αυτή [27, 28]. Για την ακρίβεια οι μεταλλάξεις στο ανθρώπινο ob γονίδιο είναι ιδιαίτερα σπάνιες [29]. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι αυτό είναι το πιθανό αποτέλεσμα μιας απευαισθητοποίησης του σήματος για τη λεπτίνη, ένα φαινόμενο που πλέον αναφέρεται συχνά ως αντίσταση στη λεπτίνη. Αυτό μπορεί να συμβεί τουλάχιστον σε δύο ξεχωριστά επίπεδα: κατά τη μεταφορά της λεπτίνης διαμέσου το αιματοεγκεφαλικού φραγμού και λόγω ανωμαλιών στην ενεργοποίηση και/ή της μεταγωγής του σήματος για τον υποδοχέα της λεπτίνης [30].

Εκτός από τη δράση της στο κεντρικό νευρικό σύστημα, η λεπτίνη έχει άμεση επίδραση και σε μια σειρά από περιφερικούς ιστούς (Εικόνα 2), υπονοώντας έναν πιο περίπλοκο άξονα δράσης από αυτόν που είχε υποθεθεί αρχικά [31].



**Εικόνα 2.** Δράσεις της λεπτίνης στον υποθάλαμο και στα περιφερικά όργανα (πάγκρεας, ήπαρ και σκελετικοί μύες).

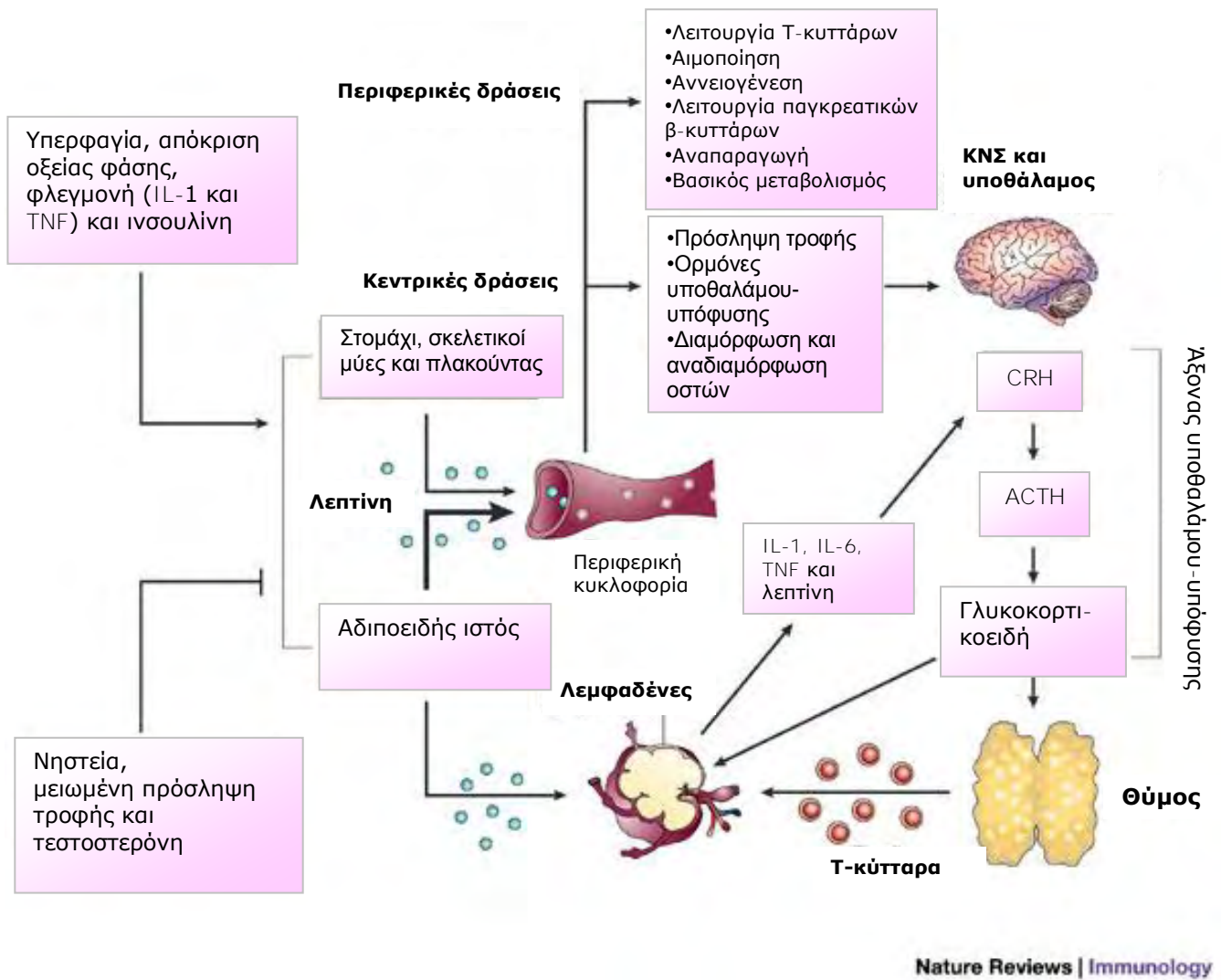
Πρόσφατα βρέθηκε ότι μείωση των συγκεντρώσεων λεπτίνης σε ανθρώπους λόγω στέρησης τροφής είναι υπεύθυνη για την προκαλούμενη λόγω αστίας καταστολή του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων [32], όπως και για τη δυσλειτουργία πολλών διαφορετικών νευροενδοκρινικών αξόνων.

Σύμφωνα με τις βιβλιογραφικές αναφορές, πέραν της μεταβολικής της δράσης, η λεπτίνη πιθανότατα εμπλέκεται και σε ποικίλες άλλες φυσιολογικές διαδικασίες, περιλαμβανομένου της συγγενούς και επίκτητης ανοσίας. Συγκεκριμένα φαίνεται ότι δύναται να ενισχύσει την έκφραση πολλών προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως του TNF- $\alpha$ , της IL-6 και της IL-12, ενώ



αυξάνει τη χημειοταξία και τη λειτουργία των κυττάρων φυσικών φονέων (NK) [33, 34]. Η λεπτίνη ενισχύει την απόκριση των Τ βοηθητικών κυττάρων 1 (Th1) και καταστέλλει τα μονοπάτια των Τ βοηθητικών κυττάρων 2 (Th2), ενώ μπορεί να ασκήσει άμεσες επιδράσεις στον πολλαπλασιασμό των CD4+ Τ λεμφοκυττάρων και στη φαγοκυττάρωση των μακροφάγων [34, 35, 36]. Επίσης, έχει φανεί ότι η λεπτίνη έχει τη δυνατότητα να διεγείρει την αυξητική δραστηριότητα των ανθρώπινων μονοκυττάρων *in vitro* και να ενισχύει την έκφραση διάφορων δεικτών ενεργοποίησης τους, όπως οι CD25 και CD38 [33

Η πλειοτροπική δράση της λεπτίνης επιβεβαιώνεται και από τη μελέτη της βιολογικής της δράσης σε άλλους ιστούς (Εικόνα 3). Έχει παρατηρηθεί λοιπόν ότι αυξάνει τη δραστηριότητα του αυτόνομου νευρικού συστήματος, με πιθανές επιπτώσεις στη λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και στην ομοιόσταση της αρτηριακής πίεσεως [37, 38, 39]. Επιπρόσθετα, έχουν προταθεί ο μεσολαβητικός της ρόλος στην επανεπιθηλιοποίηση και την επούλωση του τραύματος, στις οστικές διεργασίες και στη διαμόρφωση του σκελετού καθώς και στη γονιμότητα [40, 41, 42]. Σημαντική είναι η συμμετοχή της λεπτίνης και σε διεργασίες που έχουν περιγραφεί στη διαδικασία της καρκινογένεσης, μια δραστηριότητα που θα αναλυθεί εκτενώς στην αντίστοιχη ενότητα.

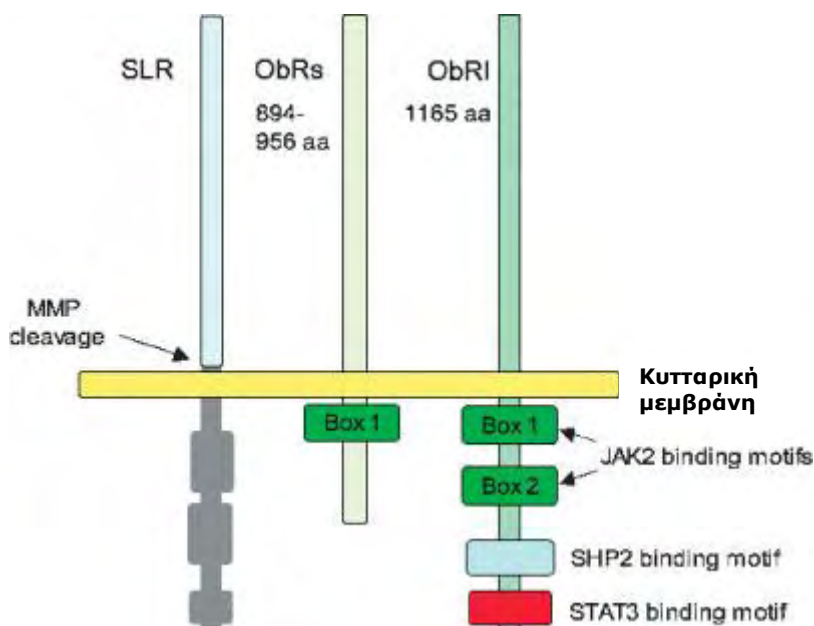


**Εικόνα 3.** Η πλειοτροπική φύση της λεπτίνης

### 2.1.2.2 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ

Η λεπτίνη εκδηλώνει τη δράση της μέσω συγκεκριμένων υποδοχέων [43]. Έχουν ανιχνευθεί διαφορετικά ισομερή του υποδοχέα της λεπτίνης: Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re και Ob-Rf, στα οποία το εξωκυττάριο και το διαμεμβρανικό τμήμα είναι κοινά, ενώ το ενδοκυττάριο ποικίλει και χαρακτηρίζει τον κάθε τύπο υποδοχέα [23, 44]. Τα ισομερή διακρίνονται βάσει του μήκους του κυτταροπλασματικού τμήματός τους σε τέσσερα κοντά (Ob-R<sub>a</sub>,

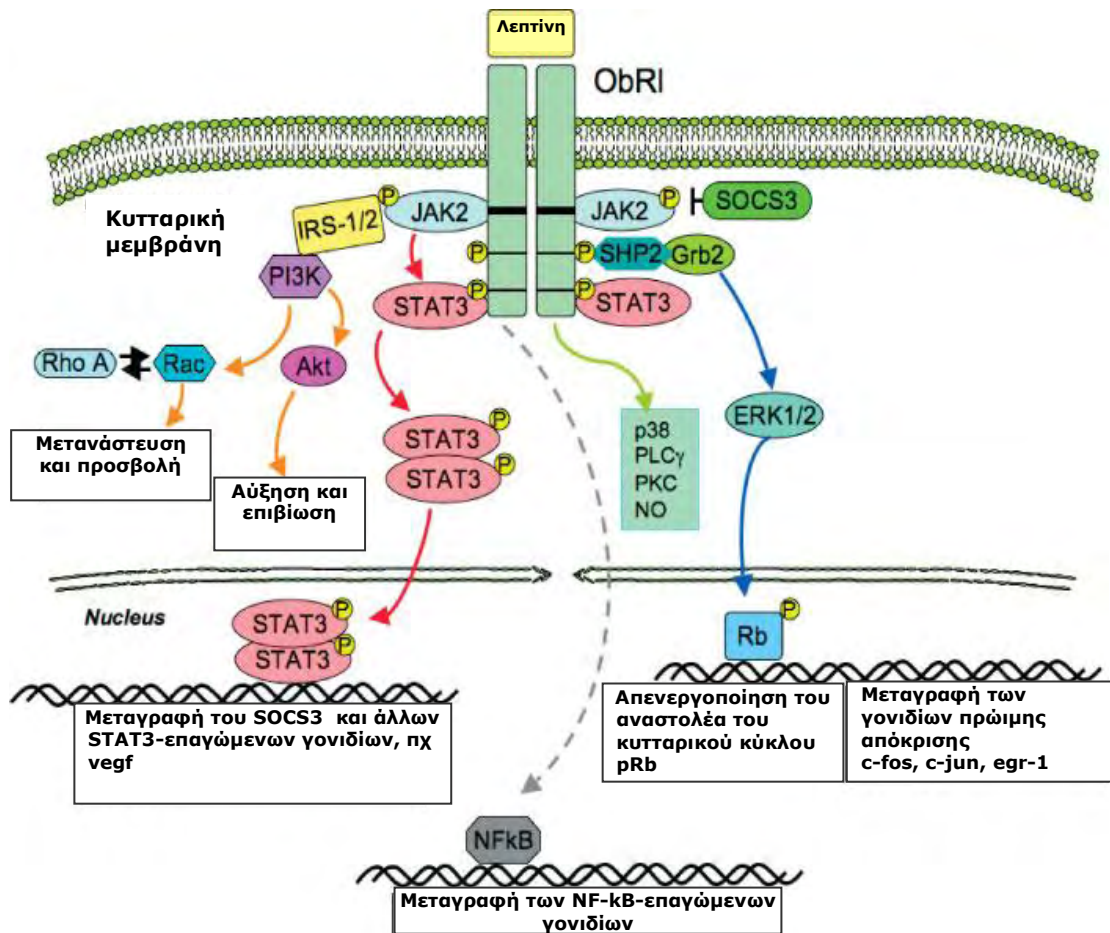
Ob-R<sub>c</sub>, Ob-R<sub>d</sub> and Ob-R<sub>f</sub>) και ένα μακρύ (Ob-R<sub>b</sub>) ισομερές, ενώ το Ob-R<sub>e</sub> αποτελεί μια διαλυτή διαμεμβρανική μορφή [45] (Εικόνα 4). Ο υποδοχέας της λεπτίνης ανήκει στην οικογένεια κυτταροκινών κλάσης I [46] και εκφράζεται ευρέως στο ανθρώπινο σώμα [47], υποδηλώνοντας ένα ευρύτερο ρόλο της πρωτεΐνης αυτής, ο οποίος δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί ακόμα.



**Εικόνα 4.** Σχηματική απεικόνιση των διαφορετικών δομών των ισομερών του υποδοχέα της λεπτίνης. SLR: διαλυτή μορφή, Ob-Rs: βραχεία μορφή, Ob-RI: μακρά μορφή.

Μεταξύ των υποδοχέων μόνο η μακρά μορφή Ob-R<sub>b</sub> διαθέτει ένα ανέπαφο ενδοκυττάριο τμήμα και έχει τη δυνατότητα να ενεργοποιεί το ενδοκυττάριο μονοπάτι JAK-STAT μέσω της ενεργοποίησης του STAT3 και του ERK1/2 (ενδοκυττάρια ρυθμιστική κινάση) [48] (Εικόνα 5). Συγκεκριμένα, η μακρά μορφή του υποδοχέα Ob-R<sub>b</sub> αποτελείται από 1162 αμινοξέα και είναι το μόνο ισομερές του υποδοχέα της λεπτίνης με αποδεδειγμένη δυνατότητα σήμανσης. Η κυκλοφορούμενη λεπτίνη περνάει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και συνδέεται με τον υποδοχέα της στον υποθάλαμο όπου ενεργοποιεί το JAK-STAT3 μονοπάτι [49]. Νευρωνική αποδέυση του Ob-R<sub>b</sub> οδηγεί σε

παχυσαρκία, γεγονός που υποδεικνύει ότι η δυνατότητα της λεπτίνης να μειώνει το σωματικό βάρος έχει κεντρικό χαρακτήρα [50].



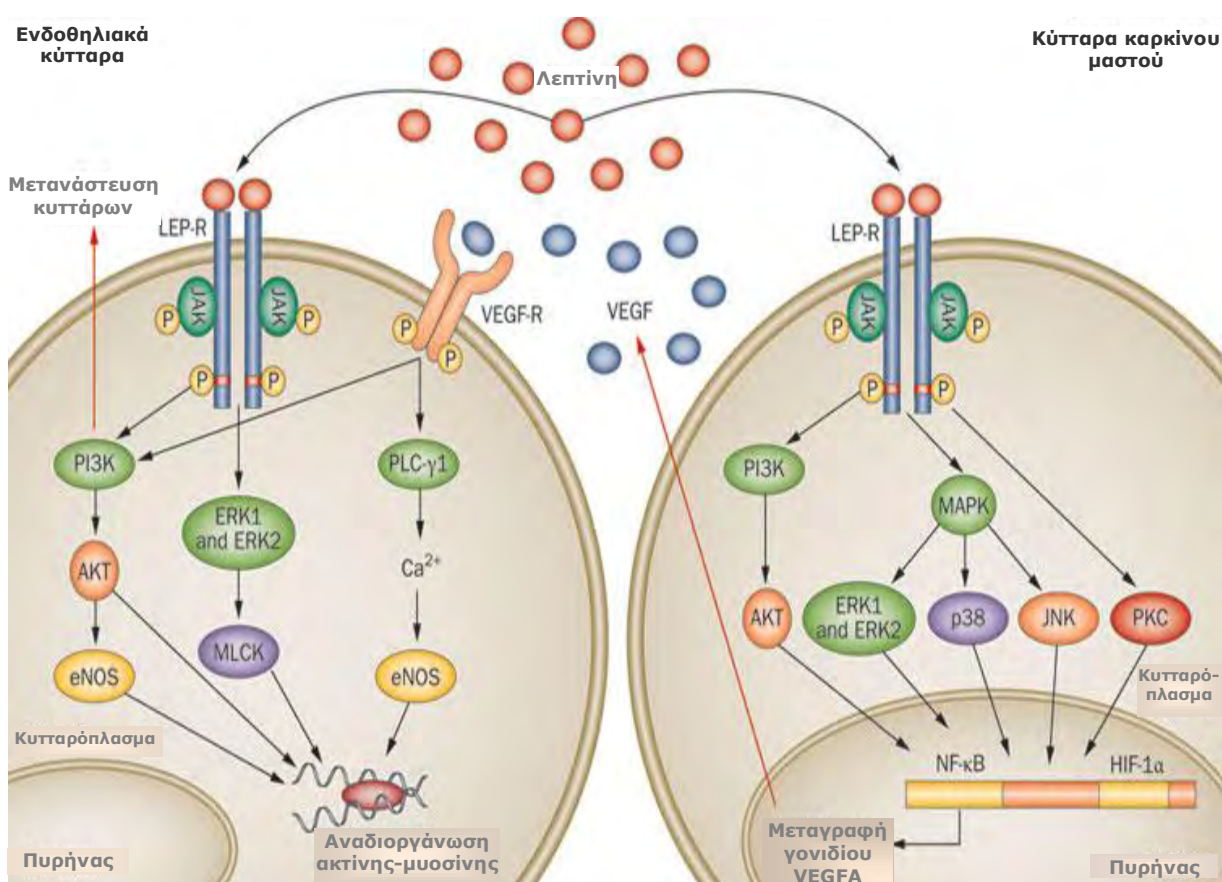
**Εικόνα 5.** Σηματοδότηση υποδοχέα λεπτίνης. Ο ObR1 διεγείρει ένα ευρύ φάσμα ενδοκυττάρων μονοπατιών σηματοδότησης. Η σύνδεση της λεπτίνης με τον ObR1 οδηγεί σε διαμορφωτικές αλλαγές και ολιγομερισμό του υποδοχέα. Τα γεγονότα αυτά διεγείρουν την τυροσινική φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση του JAK2 ο οποίος σχετίζεται δομικά με τον υποδοχέα. Ο JAK2 φωσφορυλιώνει το ενδοκυττάριο τμήμα του ObR1, ειδικά τις τυροσίνες εντός των συνδεδετικών περιοχών με το SHP2 και STAT3. Η ένταξη του SHP2 οδηγεί στη φωσφορυλίωση της τυροσίνης του, στη σύνδεση με το GRB2 και στην ενεργοποίηση του ERK1/2 καταρράκτη. Αυξημένη δραστηριότητα του ERK1/2 αδρανοποιεί τον αναστολέα του κυτταρικού κύκλου και διεγείρει τη μεταγραφή της άμεσης πρώιμης γονιδιακής απόκρισης (c-fos, c-jun, egr-1). Παράλληλα, η σύνδεση του STAT3 στον ObR1 επάγει τυροσινική φωσφορυλίωση του STAT3, διμερισμό, πυρηνική μετατόπιση και εγκαθίδρυση γονιδίων-στόχων όπου περιλαμβάνονται τα γονίδια των *socs3* και *vegf*. Η επαγωγή του JAK2 μπορεί να διεγείρει το PI-3K, πιθανόν μέσω της προσέλκυσης και φωσφορυλίωσης των δομικών πρωτεϊνών IRS-1/2. Ενεργοποίηση του PI-3K μπορεί να αυξήσει την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή μέσω των Rac/Rho μονοπατιών και να διεγείρει το μεγαλύτερο μονοπάτι αύξησης/επιβίωσης Akt. Ο ObR1 ενεργοποιεί, μέσω αδιευκρίνιστων μέχρι στιγμής μηχανισμών, πολλές ακόμα αποκρίσεις, για παράδειγμα PLC-gamma, PKC και p38 κινάσες, νιτρικό οξείδιο (NO) και NFκappaB.

## 2.1.2 ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Τις τελευταίες δεκαετίες καθίσταται προφανές ότι πολλά ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα ανταποκρίνονται σε ένα ευρύ φάσμα από ορμονικά σήματα, ενώ αποτελεί γεγονός ότι και τα ίδια τα κύτταρα εκφράζουν πολλές ορμόνες οι οποίες δύνανται να παίξουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της εξέλιξης και της προόδου του καρκίνου. Επιπρόσθετα, έχει γίνει σαφές ότι ο αδιποειδής ή λιπώδης ιστός είναι μια πλούσια πηγή πολλών ενδοκρινικών σημάτων και ότι πολλά από αυτά έχουν διεγερτικές επιδράσεις στα καρκινικά κύτταρα [51].

Η λεπτίνη έχει πολλές εν δυνάμει δράσεις στα καρκινικά κύτταρα, υπονοώντας ότι είναι ένας σημαντικός παράγοντας της καρκινογένεσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η έκφραση της λεπτίνης μπορεί να ενισχυθεί κάτω από συνθήκες υποξίας, που συνήθως συμβαίνουν σε συμπαγείς όγκους [52, 53]. Η υποξία και οι χημικοί παράγοντες της κυτταρικής υποξίας μπορούν να ενεργοποιήσουν τον υποκινητή του γονιδίου της λεπτίνης μέσω του παράγοντα HIF-1 (hypoxia-induced factor-1) στα ανθρώπινα αδιποκύτταρα και ινοβλάστες [52, 53]. Τα στοιχεία αυτά συνιστούν πιθανό ρόλο της λεπτίνης στην αναδιαμόρφωση των αγγείων [54]. Πράγματι, έχει φανεί ότι η λεπτίνη ρυθμίζει τη νεοαγγειογένεση από μόνης της καθώς και σε συνεργασία με τον αγγειακό ενδοθηλιακό παράγοντα (VEGF) και τον αυξητικό παράγοντα των ινοβλαστών (FGF) 2 [55, 56]. Ο ρόλος της λεπτίνης στη νεοαγγείωση υποστηρίζεται επιπλέον και από την παρατήρηση ότι η ορμόνη αυτή μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα και την ενεργότητα ενζύμων που εμπλέκονται στην αγγειογένεση, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) 2 και 9 [57, 58]. Επιπροσθέτως, εκτός από την προαγγειογενετική δράση, η λεπτίνη μπορεί να ενισχύσει την

ενδοθηλιακή κυτταρική αύξηση [55, 56] και να καταστείλει την απόπτωση μέσω μηχανισμού εξαρτημένου από το Bcl-2 [59]. Επιπλέον της συμμετοχής της στη λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων, έχει φανεί ότι η λεπτίνη δρα ως μιτογόνος, τροποποιητικός παράγοντας ή ως μεταναστευτικός παράγοντας για πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων, περιλαμβανομένου κύτταρα λείων μυικών ινών [60], φυσιολογικά και νεοπλασματικά κύτταρα παχέως εντέρου [61, 62], καθώς και φυσιολογικά και καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα μαστού [63, 64] (Εικόνα 6).



**Εικόνα 6.** Η λεπτίνη ως νεοαγγειογενετικός και μεταναστευτικός παράγοντας ενδοθηλιακών κυττάρων.

Τόσο η λεπτίνη όσο και η έκφραση των υποδοχέων της έχουν αναφερθεί σε διάφορους τύπους καρκίνου. Φαίνεται ότι δρα με αυτοκρινή και/ή παρακρινή τρόπο στην εμφάνιση και πρόοδο των όγκων, γεγονός που επιδεικνύει πιθανή κλινική επίπτωση της λεπτίνης στον καρκίνο [65, 66]. Η αναγνώριση της

λεπτίνης ως προϊόν του γονιδίου της παχυσαρκίας (MacDougald και συνεργάτες 1995) και η απόδειξη ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα της σχετίζονται θετικά με το δείκτη μάζας σώματος, γρήγορα συνοδεύτηκαν από προσπάθειες συσχέτισης των επιπέδων της στο πλάσμα ή στον ορό με το κίνδυνο ανάπτυξη καρκίνου του μαστού. Η λεπτίνη έχει μελετηθεί σε μεγαλύτερο βαθμό στον καρκίνο του μαστού σε σχέση με τα υπόλοιπα νεοπλάσματα, με αντιφατικά όμως ακόμη αποτελέσματα. Η πλειονότητα των μελετών μέχρι σήμερα περιλάμβανε είτε σχετικά μικρό αριθμό ασθενών, είτε δεν υπήρχε διαχωρισμός προ- και μετεμμηνοπαυσιακής φάσης των ασθενών, παράγοντας σημαντικός μια και τα επίπεδα της λεπτίνης βρίσκονται σε συνάρτηση με το ορμονικό προφίλ της γυναίκας ασθενούς [64].

Παρόλα αυτά, η πιθανότητα της συνάφειας της σηματοδότησης της λεπτίνης με την καρκινογένεση στον καρκίνο του μαστού ενισχύεται από το εύρημα της έκφρασης του mRNA του υποδοχέα της ObR και της ίδιας της πρωτεΐνης σε βιοψίες από καρκίνο του μαστού [48, 67]. Επίσης, έχει αποδειχτεί ότι τόσο ο ObRL όσο και άλλα ισομερή του υποδοχέα ObR υπερεκφράζονται στον καρκινικό συγκριτικά με τον υγιή ιστό και τους καλοήθεις όγκους του μαστού [68]. Επιπλέον, σε μελέτη των Revillion και συνεργατών εκτιμήθηκε η έκφραση της λεπτίνης και των υποδοχέων της (ObRa και ObRb) σε 322 δείγματα από καρκίνο μαστού. Οι υποδοχείς ανιχνεύτηκαν σε όλα τα δείγματα και η πρωτεΐνη σε 318 από τα 322. Το σημαντικότερο δε εύρημα ήταν ότι οι ασθενείς με αυξημένη έκφραση του ObRb εμφάνιζαν μεγαλύτερη ελεύθερης νόσου επιβίωση, ενώ το υψηλό κλάσμα ObRb/ObRa συσχετίστηκε με μικρότερη ελεύθερης νόσου επιβίωση και η πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση επιβεβαίωσε τη θετική προγνωστική αξία του ObRa [69].

Οι κλινικές μελέτες για τη λεπτίνη στον καρκίνο του προστάτη απέφεραν ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Αυξημένα επίπεδα λεπτίνης συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου προστάτη [70]. Επιπλέον, υψηλές συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης συσχετίστηκαν με μεγάλο μέγεθος όγκου και/ή μεταστατική νόσο από την αρχή της διάγνωσης, ακόμα και μετά από προσαρμογή για το δείκτη μάζας σώματος και τα επίπεδα της τεστοστερόνης [71]. Επίσης, *in vitro* μελέτες ανέδειξαν ότι η λεπτίνη ενίσχυσε τον πολλαπλασιασμό κυττάρων από καρκινικές σειρές προστάτη και περιόρισε την απόπτωσή τους [72].

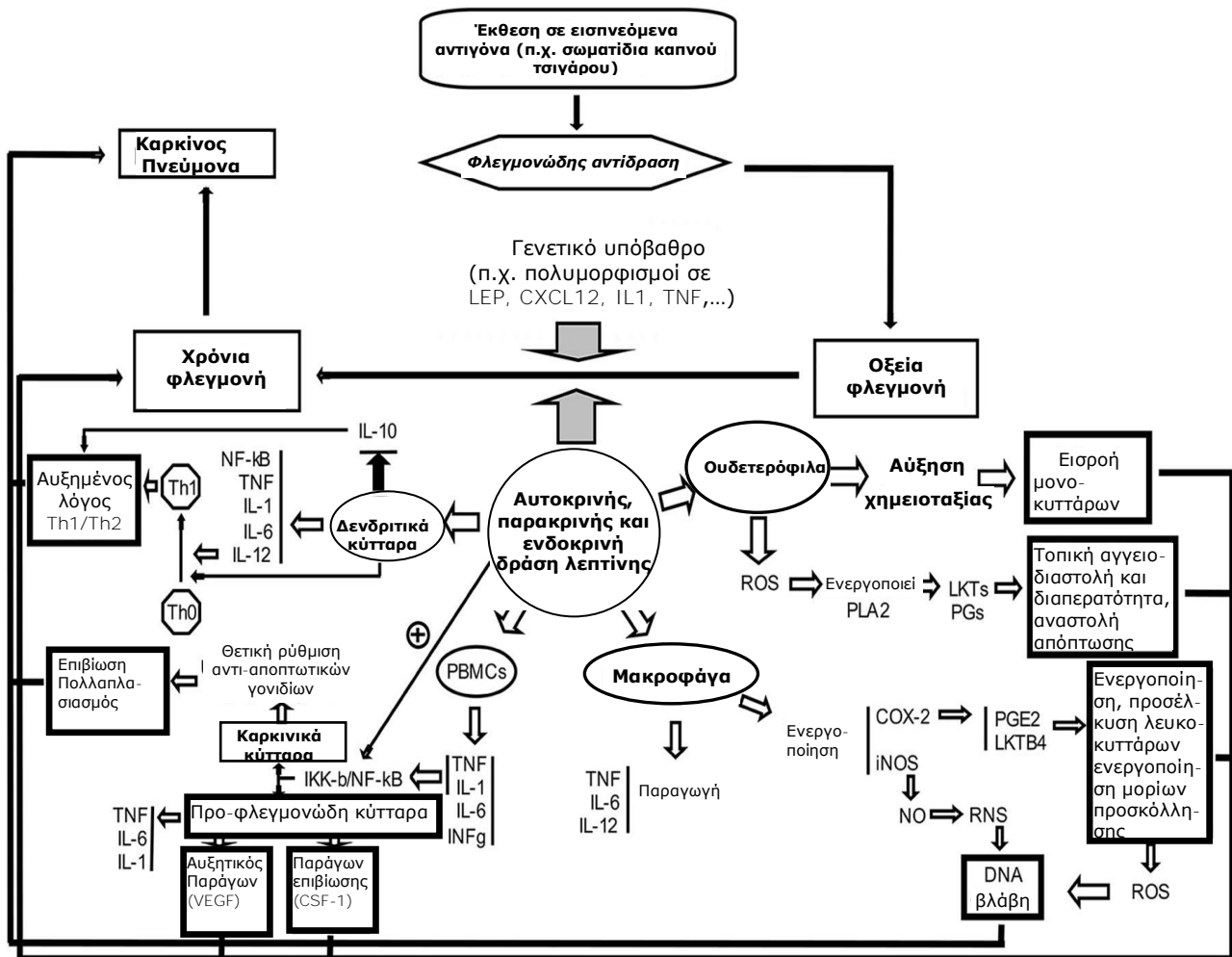
Τα ευρήματα των μελετών που αφορούν τα κυκλοφορούντα επίπεδα της λεπτίνης στον καρκίνο του γαστρεντερικού δεν έχουν οδηγήσει μέχρι στιγμής σε σαφή συμπεράσματα. Η σχετική βιβλιογραφία αναφέρει μελέτες με μειωμένα επίπεδα λεπτίνης σε ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς ανεξάρτητα από τον εντοπισμό της πρωτοπαθούς εστίας και μάλιστα χωρίς συσχέτιση των επιπέδων με την απώλεια βάρους των ασθενών [73]. Τα επίπεδα ήταν μειωμένα ακόμα και σε ασθενείς που δε χαρακτηρίζονταν από απώλεια βάρους και παρουσίαζαν παρόμοιο BMI με τους υγιείς [74]. Από την άλλη πλευρά έχει βρεθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα της σχετίζονται με διπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του εντέρου στους άνδρες, αλλά όχι στις γυναίκες [75], ενώ σε μία άλλη μελέτη δε βρέθηκε διαφορά στις τιμές μεταξύ ασθενών με καρκίνο εντέρου και υγιών [76].

#### **2.1.2.1 ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**

Σε σχέση με τα άλλα νεοπλάσματα, οι μελέτες που αφορούν την πιθανή συσχέτιση της λεπτίνης με τον καρκίνο του πνεύμονα, είναι σχετικά περιορισμένες παρά την ύπαρξη αρκετών μελετών που υποστηρίζουν ότι η



ορμόνη αυτή έχει ενεργό ρόλο στην καρκινογένεση του πνεύμονα με ποικίλους μηχανισμούς (Εικόνα 7).



**Εικόνα 7.** Ο διαμεσολαβητικός ανοσοφλεγμονώδης ρόλος της λεπτίνης στην ανάπτυξη του καρκίνου του πνεύμονα. Μετά την έκθεση σε εισπνεόμενα αντιγόνα (πχ σωματίδια καπνού) ακολουθεί οξεία φλεγμονή που φυσιολογικά είναι αυτοπεριοριζόμενη. Παρόλα αυτά, ανάλογα από την έκταση, τη διάρκεια της έκθεσης στα προφλεγμονώδη αντιγόνα και στο προσωπικό γενετικό υπόβαθρο (πολυμορφισμοί γονιδίων που εκφράζουν προφλεγμονώδη μόρια), η φλεγμονώδη αντίδραση μπορεί να διαρκέσει περισσότερο και/ή να αυξηθεί. Η λεπτίνη μπορεί να έχει κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη διατήρηση της χρόνιας φλεγμονής μέσω αυτοκρινών, παρακρινών και ενδοκρινών μηχανισμών. Υπάρχει μια ευρεία σειρά δράσεων της λεπτίνης στα ανοσιακά κύτταρα. Διεγείρει και ενεργοποιεί ουδετερόφιλα, μακροφάγα, μονοκύτταρα περιφερικού αίματος, δενδριτικά κύτταρα και T κύτταρα, των οποίων τα προϊόντα τελικά μπορεί να επάγουν χρόνια φλεγμονή και καρκινογένεση στον πνεύμονα.

Th0: naive T cell, Th1: T helper 1, Th2: T helper 2, NF-B: nuclear factor B, TNF : tumor necrosis factor, VEGF: vascular endothelial growth factor, PLA2: phospholipase A2, LKTs: leukotrienes, PGs: prostaglandins, IFNg: interferon-g, COX-2: cyclooxygenase 2, iNOSQ inducible nitric oxide synthase, NO: nitric oxide, CSF: colony stimulating factor, ROS: reactive oxygen species, RNS: reactive nitrogen species, PBMCs: peripheral blood mononuclear cells.

Η πιο ενδιαφέρουσα ίσως εξ αυτών των Ribeiro και συνεργατών, που δημοσιεύτηκε το 2006 [77], αφορά τον λειτουργικό πολυμορφισμό (LEP-2548 G/A) του γονιδίου της λεπτίνης ο οποίος συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΜΜΚΠ και με την πρώιμη εμφάνιση της νόσου. Βρέθηκε λοιπόν αυξημένος κίνδυνος για μη μεταστατικό καρκίνο του πνεύμονα στους ομοζυγώτες AA καθώς και πρωιμότερη εμφάνιση της νόσου στα άτομα με φαινότυπο AA. Το γεγονός αυτό συνιστά ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός, που αντιπροσωπεύει μια αυξημένη έκθεση των ατόμων σε υψηλότερα επίπεδα έκφρασης της λεπτίνης καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους, ενδέχεται να επηρεάσει την πυροδότηση του καρκίνου στον πνεύμονα. Ο ΜΜΚΠ συνήθως διασπείρεται αργότερα και έχει μια αργή κλινική πορεία. Οι φορείς όμως του πολυμορφισμού φαίνεται να επιταχύνουν την πορεία ή την εγκατάσταση του ΜΜΚΠ εξαιτίας της έκθεσης στη μιτογόνο και φλεγμονώδη δράση της λεπτίνης.

Όσο αφορά στις κλινικές μελέτες στον καρκίνο του πνεύμονα, το δεδομένο ότι η λεπτίνη συμμετέχει σημαντικά στην ομοιόσταση και στο μεταβολισμό, οδήγησε την πλειονότητα των ερευνητών σε μια προσπάθεια συσχέτισης της πρωτεΐνης με την καχεξία που οφείλεται στον καρκίνο.

Μία από τις πρώτες μελέτες της λεπτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα είναι των Aleman και συνεργατών. Η προσέγγιση της πρωτεΐνης εδώ έγινε υπό το πρίσμα της πιθανής ένταξης της στους παράγοντες της οξείας φάσεως καθώς και ως πιθανού δείκτη θρέψης σε ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ. Συμπεριλήφθηκαν 76 ασθενείς με πρόσφατα διαγνωσμένο ανεγχείρητο ΜΜΚΠ και 30 υγιείς εθελοντές, στους οποίους μετρήθηκαν μια σειρά από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως IL-6, TNF- $\alpha$ , sTNFRII, sIL-2R and IL-12, η αντιφλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-10, άλλοι παράγοντες οξείας φάσεως, όπως  $\alpha$ 1 αντιθρυψίνη, φερριτίνη, CRP και αριθμός αιμοπεταλίων και IFN- $\gamma$ . Οι

ερευνητές διαπίστωσαν ότι παραμένει αδιευκρίνιστο το αν η λεπτίνη λειτουργεί ως πρωτεΐνη οξείας φάσης οδηγώντας σε ανορεξία και υποσιτισμό, αλλά σημειώνουν τη συσχέτιση με την επιβίωση των ασθενών. Σύμφωνα με τις καμπύλες Kaplan Meyer, οι ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης-στα πλαίσια ενός απισχνασμένου προτύπου-εμφάνιζαν και μικρότερη επιβίωση [78].

Το ίδιο σκεπτικό ακολούθησε μια ακόμη μικρή μελέτη με 20 ασθενείς που ασχολήθηκε με τα επίπεδα της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης ως εκφραστές συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης σε προχωρημένο καρκίνο πνεύμονα με συνυπάρχουσα απώλεια βάρους. Οι τιμές της πρωτεΐνης ήταν και εδώ μικρότερες στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Τα αποτελέσματα της μελέτης οδήγησαν τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι και οι δύο αδιπονεκτίνες συσχετίζονται με τη συνολική μάζα του λίπους των ασθενών και παράγονται φυσιολογικά. Επομένως, τόσο η αδιπονεκτίνη όσο και η λεπτίνη δε συμμετέχουν στη διαδικασία μη φυσιολογικού μεταβολισμού λίπους στους ασθενείς με απώλεια βάρους, άρα και στο σύνδρομο καχεξίας που παρατηρείται στους πάσχοντες από καρκίνο, ούτε εμπλέκονται άμεσα στη διαδικασία της συστηματικής φλεγμονής που παρατηρείται σε αυτούς τους ασθενείς [79].

Ο πιθανός διαγνωστικός και προγνωστικός ρόλος της λεπτίνης ως προφλεγμονώδη κυτταροκίνη στον καρκίνο του πνεύμονα αποτέλεσε το σκοπό μιας ακόμα μελέτης που διενεργήθηκε σε ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ [80]. Εκτός από τα επίπεδα της λεπτίνης, μετρήθηκαν IL-6, TNF-alpha και CRP στον ορό 28 ασθενών πριν και μετά από δύο κύκλους χημειοθεραπείας με σισπλατίνη και βινορελμπίνη, καθώς και σε 15 υγιείς. Παρά την προχωρημένη νόσο, η πλειοψηφία των ασθενών παρουσίαζε καλή γενική κατάσταση και απουσία ή μικρή απώλεια βάρους (<10%). Οι τιμές της λεπτίνης και της IL-6 ήταν χαμηλότερες στους ασθενείς σε αντίθεση με τις άλλες κυτταροκίνες, ενώ

αξίζει να σημειωθεί ότι όλοι οι παράγοντες ήταν ανεξάρτητοι από το βαθμό απώλειας βάρους. Παρότι δε βρέθηκε συσχέτιση της λεπτίνης με τα χαρακτηριστικά των ασθενών και της νόσου τους, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωσή της μετά τη χορήγηση χημειοθεραπείας, ανεξάρτητα με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία, χωρίς όμως να μπορεί να αποδοθεί στη λεπτίνη προγνωστική αξία.

Ιδιαίτερη αναφορά αξίζει η ερευνητική προσπάθεια της Carpagnano και συνεργατών [81], όπου για πρώτη φορά έχουμε ταυτόχρονα μέτρηση επιπέδων λεπτίνης στον ορό, στα ούρα, στα πτύελα, στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα και στο συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα ασθενών με ΜΜΚΠ. Σημαντικό εύρημα είναι η ανίχνευση της λεπτίνης σε όλα τα υλικά που μελετήθηκαν, γεγονός που ενισχύει την πεποίθηση για την πιθανή συμμετοχή της στην καρκινογένεση του πνεύμονα. Βέβαια, οι αυξημένες τιμές των ασθενών σε σχέση με τους υγιείς έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των προηγούμενων μελετών, γεγονός που υπογραμμίζει την ανάγκη για περαιτέρω μελέτης της λεπτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα για να αποσαφηνιστεί ο πιθανός ρόλος της.

Η συσχέτιση αδιποκινών με τη συστηματική φλεγμονή και την απώλεια βάρους σε ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ αποτέλεσε το αντικείμενο μιας καλοσχεδιασμένης κλινικής μελέτης με επαρκή αριθμό ασθενών [82]. Δυστυχώς, τα αποτελέσματα δεν απέβησαν διαφωτιστικά σχετικά με τη λεπτίνη και τη δυνατότητα χρησιμοποίησής της ως βιοδείκτη στο ΜΜΚΠ. Αν και οι τιμές της λεπτίνης ήταν μικρότερες στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς, η σύγκρισή τους δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι πιθανότατα η λεπτίνη δε συμμετέχει στη συστηματική φλεγμονή του προχωρημένου ΜΜΚΠ, όπως είχαν επισημάνει και προαναφερθείσες μελέτες. Η κοινή αυτή κατάληξη εγείρει σκέψεις για το

πιθανό μοντέλο δράσης της λεπτίνης μακριά από τις αρχικές εκτιμήσεις περί προφλεγμονώδης κυτταροκίνης και παράγοντα καχεξίας.

Για πρώτη φορά σε μια μελέτη αναγνωρίζεται το ενδεχόμενο να αποδοθεί στη λεπτίνη η ιδιότητα του παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη ΜΜΚΠ [83]. Πρόκειται για μια ελληνική μελέτη των Τερζίδη και συνεργατών, η οποία περιέλαβε 66 ασθενείς με ΜΜΚΠ και 132 υγείς αντίστοιχης ηλικίας και φύλου (άντρες). Οι ερευνητές για την τελική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έλαβαν υπόψιν τους εκτός από το BMI, την απώλεια βάρους και το κάπνισμα, επιπλέον την κατανάλωση αλκοόλ και καφέ, το κοινωνικό επίπεδο, το ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη, την κατανάλωση κρέατος και λαχανικών. Τα επίπεδα της λεπτίνης βρέθηκαν οριακά αυξημένα στην ομάδα των ασθενών χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά. Η πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης όμως ανέδειξε τα υψηλά επίπεδα λεπτίνης ως παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης ΜΜΚΠ ανεξάρτητα από την κεντρικού τύπου παχυσαρκία, ακόμα και μετά τον έλεγχο ως προς το BMI και την απώλεια βάρους που μπορεί να εμφάνισαν οι ασθενείς τους τελευταίους δύο μήνες πριν τη διάγνωση. Η μελέτη αυτή λοιπόν προτείνει ότι τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης ενδέχεται να προωθούν την ανάπτυξη του όγκου κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης στον ΜΜΚΠ.

#### **2.1.2.2 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ**

Η πρώτη μελέτη που ασχολήθηκε με τους υποδοχείς της λεπτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα ήταν των Tsuchiya και συνεργατών κατά την οποία ανιχνεύθηκε το mRNA του υποδοχέα της λεπτίνης σε ανθρώπινο υγιή πνευμονικό ιστό καθώς και στην καρκινική σειρά SQ-5 πλακώδους καρκίνου

του πνεύμονα [84]. Συγκεκριμένα, ανιχνεύθηκαν τα εξόνια 3 και 20 που κωδικοποιούν το ενδοκυττάριο και το εξωκυττάριο τμήμα αντίστοιχα του υποδοχέα της λεπτίνης, τόσο στα δείγματα υγιούς πνευμονικού ιστού που ελήφθησαν κατόπιν λοβεκτομής σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα, όσο και σε ανθρώπινη κυτταρική σειρά πλακώδους καρκίνου του πνεύμονα. Η σύγχρονη ταυτοποίηση των δύο εξονίων αναγνώρισε την έκφραση του μακρού ισομερούς του υποδοχέα, τον OB-Rb. Επίσης διαπιστώθηκε, ότι η χορήγηση ανασυνδυασμένης λεπτίνης διέγειρε τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων της υπό μελέτης καρκινικής σειράς μέσω της αύξησης της ενεργότητας ενζύμων, όπως η MAP κινάση, που εμπλέκονται στην κυτταρική αύξηση.

Αρκετά χρόνια αργότερα, η έκφραση και η κλινική σημασία τόσο της λεπτίνης όσο και του υποδοχέα της αποτέλεσε αντικείμενο μιας αναδρομικής μελέτης σε ασθενείς με ΜΜΚΠ [85]. Στην περίπτωση της μελέτης αυτής η έκφραση του υποδοχέα εκτιμήθηκε με ανοσοϊστοχημεία και συγκεκριμένα μετρήθηκε ανοσοϊστοχημικά η πρωτεΐνη και ο υποδοχέας σε δείγματα καρκινικού και παρακείμενου μη προσβεβλημένου ιστού από 100 ασθενείς που χειρουργήθηκαν για ΜΜΚΠ. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι ο υποδοχέας της λεπτίνης ανιχνεύτηκε στο 62% των δειγμάτων του πάσχοντος ιστού ενώ στον υγιή ιστό μόνο στο 31% των περιπτώσεων.

Αναφορικά με την έρευνα που έχει λάβει μέρος σε άλλα νεοπλάσματα, οι υποδοχείς της λεπτίνης, όπως και η ίδια η αδιποκίνη, έχει απασχολήσει κατά καιρούς διάφορους μελετητές. Η αναγνώριση της έκφρασης των υποδοχέων σε διάφορους καρκινικούς ιστούς όπως μαστού, ήπατος και εντέρου, οδήγησε σε υποθέσεις για το ρόλο της λεπτίνης στην ανάπτυξη του όγκου και στις φλεγμονώδεις και ανοσιακές αποκρίσεις που συμβαίνουν στο μικροπεριβάλλον του. Σκοπός τους η προσέγγιση της πιθανής κλινικής συσχέτισης των

υποδοχέων για την εκτίμηση της βαρύτητας της νόσου και της πιθανής προγνωστικής τους αξίας.

Μια τέτοια σημαντική μελέτη επεξεργάστηκε δείγματα από 171 ασθενείς που χειρουργήθηκαν για καρκίνο του εντέρου [86]. Η έκφραση του υποδοχέα ObRb αξιολογήθηκε σε καρκινικό ιστό, σε παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό εντέρου καθώς και σε καλλιέργειες κυττάρων με ανοσοϊστοχημεία, με Western blotting και με RT-PCR. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι ο υποδοχέας υπερεκφραζόταν σε μια υποκατηγορία ασθενών οι οποίοι έμοιαζαν να είχαν καλύτερη πρόγνωση, ενώ η υπερέκφρασή του στον καρκινικό ιστό φάνηκε να σχετίζεται με την ελεύθερη νόσου επιβίωση των ασθενών.

Αρκετές είναι οι μελέτες που αναφέρονται στην παρουσία και τον πιθανό ρόλο των υποδοχέων της λεπτίνης στον καρκίνο του μαστού. Μία από τις μελέτες αυτές ανίχνευσε τη μεταγραφική έκφραση των υποδοχέων OBRL και OBRS και της λεπτίνης σε καρκινικό ιστό 91 ασθενών με καρκίνο μαστού με RT-PCR και τα επίπεδα της αδιποκίνης σε 67 από τις ασθενείς αυτές πριν από το χειρουργείο [87]. Βρέθηκε λοιπόν, ότι οι ασθενείς που εμφάνιζαν αυξημένη μεταγραφική έκφραση και των δύο υποδοχέων της λεπτίνης -αλλά όχι του ενός από τους δύο - και ταυτόχρονα εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό ή της μεταγραφικής της έκφρασης στον ιστό συνοδεύονταν από πτωχή πρόγνωση. Επίσης, μια ακόμη μελέτη στον καρκίνο του μαστού διεπίστωσε αυξημένη έκφραση του υποδοχέα της λεπτίνης και της ίδιας της πρωτεΐνης σε δείγματα καρκινικού ιστού σε σχέση με τον παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό αλλά και με ιστό από καλοήθεις βλάβες [88]. Μάλιστα οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η έκφραση του υποδοχέα συσχετιζόταν με τη λεμφαδενική διόγκωση καθώς και με το μέγεθος του όγκου. Η έκφραση της λεπτίνης και των υποδοχέων της αποτέλεσαν αντικείμενο ακόμη μιας μελέτης που επεξεργάστηκε

δείγματα από 322 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και αναφέρθηκε και νωρίτερα [69]. Όπως προειπώθηκε, οι ασθενείς με αυξημένη έκφραση του ObRb εμφάνιζαν μεγαλύτερη ελεύθερης νόσου επιβίωση, ενώ το υψηλό κλάσμα ObRb/ObRa συσχετίστηκε με μικρότερη ελεύθερης νόσου επιβίωση και η πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση επιβεβαίωσε τη θετική προγνωστική αξία του ObRa.

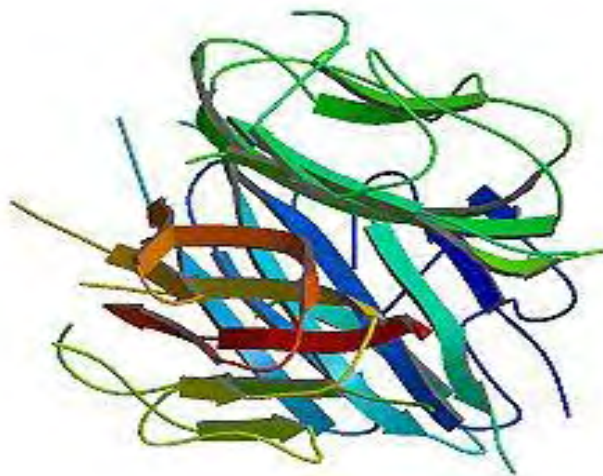
Τέλος, η έκφραση του εν λόγω υποδοχέα διερευνήθηκε και σε περιπτώσεις όγκων του εγκεφάλου [89]. Ο υποδοχέας ανιχνεύτηκε στο 60.9% των δειγμάτων από καρκινικό ιστό αλλά σε κανένα από τα δείγματα του παρακείμενου μη προσβεβλημένου ιστού, ενώ βρέθηκε σημαντική συσχέτιση της έκφρασης λεπτίνης-υποδοχέα με το βαθμό της κακοήθειας.



## 2.2 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

### 2.2.1 ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Η αδιπονεκτίνη είναι μία πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 30kDa, προϊόν του γονιδίου apM1 και παράγεται κατά κύριο λόγο από το λιπώδη ιστό [90]. Το γονίδιο αυτό εδράζει στο χρωμόσωμα 3q27 [91], μια περιοχή που έχει αναγνωριστεί ως ενδεικτική για το μεταβολικό σύνδρομο και το σακχαρώδη διαβήτη τύπου II στους Καυκάσιους [92]. Στον ανθρώπινο οργανισμό συναντάται σε πλήρους μήκους μορφή και σε σφαιρική μορφή (230- και 147-άμινο οξικά κατάλοιπα, αντιστοίχως) (Εικόνα 8). Η πρώτη αντιπροσωπεύει σχεδόν όλη την αδιπονεκτίνη του πλάσματος, ενώ η δεύτερη προκύπτει από την πρωτεολυτική απόσπαση της C-τελικής περιοχής της μακράς μορφής. Έχει μια N-τελική περιοχή που μοιάζει σε μεγάλο βαθμό δομικά με το κολλαγόνο VIII, X και το συμπλήρωμα C1q και μία C-τελική σφαιρική περιοχή προσδιορισμού που μοιάζει με την τριμερή τοπολογία του TNF-α [93].



**Εικόνα 8.** Το μόριο της αδιπονεκτίνης

Η πρωτεΐνη αυτή βρίσκεται σε αφθονία στην κυκλοφορία, με συγκεντρώσεις στο πλάσμα περίπου στα 10 μg/ml σε υγιείς ανθρώπους, που αποτελεί το 0,01% του συνόλου των πρωτεϊνών του πλάσματος [94].

Σχετικά πρόσφατα αναγνωρίστηκαν δύο υποδοχείς για την αδιπονεκτίνη, ο AdipoR1 για τη σφαιρική μορφή της πρωτεΐνης και ο AdipoR2 για την μακρά μορφή [95]. Ο υποδοχέας AdipoR1 έχει υψηλή συγγένεια με τη σφαιρική και χαμηλή με τη μακρά μορφή της πρωτεΐνης. Εκφράζεται ευρέως, σε μεγάλη αναλογία στους σκελετικούς μύες αλλά και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και σε άλλους ιστούς. Ο AdipoR2 εκφράζεται πρωτίστως στο ήπαρ και έχει διάμεση συγγένεια και με τις δύο μορφές της αδιπονεκτίνης [96, 97]. Και οι δύο υποδοχείς εκφράζονται σημαντικά στα β κύτταρα του παγκρέατος, σε επίπεδα όμοια του ήπατος για τον AdipoR2 και σε ακόμα υψηλότερα από τους μύες για τον AdipoR1 [98].

Η έκφραση των AdipoR1/R2 σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με τη συγκέντρωση ινσουλίνης στο πλάσμα *in vivo* κάτω από φυσιολογικές (π.χ. αύξηση στη νηστεία και με μείωση με τη σίτιση) αλλά και κάτω από παθολογικές συνθήκες [99]. Μειωμένη έκφραση και αρνητική ρύθμιση των υποδοχέων της αδιπονεκτίνης έχει αναφερθεί στους σκελετικούς μύες και στο λιπώδη ιστό σε δυσλειτουργικά ως προς τη λεπτίνη *ob/ob* [96] και *db/db* [100] ποντίκια. Το εύρημα αυτό συνιστά την πιθανότητα εμπλοκής της λεπτίνης στη ρύθμιση των υποδοχέων της αδιπονεκτίνης.

Η αδιπονεκτίνη είναι ένας ρυθμιστής της ενεργειακής ομοιόστασης (Εικόνα 9) και παίζει ρόλο στην αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρείται στην παχυσαρκία και στις σχετιζόμενες επιπλοκές [101, 102]. Η μακρά μορφή της πρωτεΐνης και όχι η σφαιρική ρυθμίζει αρνητικά τα γονίδια που είναι

υπεύθυνα για τη γλυκονεογένεση μέσω της 5' -AMP κινάσης στο ήπαρ [103]. Έχει υποτεθεί ότι παίζει ρόλο στην αναδιαμόρφωση των αγγείων. Συγκεκριμένα, υφίσταται αρνητική ρύθμιση στις παθήσεις τις σχετιζόμενες με την παχυσαρκία, όπως τη στεφανιαία νόσο στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου II [104] και η υπερέκφρασή της έχει φανεί ότι ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση στα αγγεία και μειώνει τις αθηρωματικές πλάκες σε ερευνητικό μοντέλο σε ποντίκια [105, 106]. Επίσης έχει βρεθεί ότι μέσα στο αγγειακό τοίχωμα η αδιπνεκτίνη εμποδίζει την προσκόλληση των μονοκυττάρων μειώνοντας την έκφραση των μορίων που συμμετέχουν στην προσκόλληση, εμποδίζει το μετασχηματισμό των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα εμποδίζοντας την έκφραση των εκκαθαριστικών υποδοχέων και μειώνοντας τον πολλαπλασιασμό των μεταναστευτικών λείων μυικών κυττάρων σε απάντηση στους αυξητικούς παράγοντες. Επιπλέον, οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής του νιτρικού οξειδίου (NO) στα ενδοθηλιακά κύτταρα και διεγείρει την αγγειογένεση. Αυτές οι επιδράσεις πραγματοποιούνται μέσω αυξημένης φωσφορυλίωσης των υποδοχέων ινσουλίνης, ενεργοποίησης της AMP κινάσης και διαμόρφωσης του NF- $\beta$  μονοπατιού [107, 108].

### Αυξημένα επίπεδα αδιπονεκτίνης

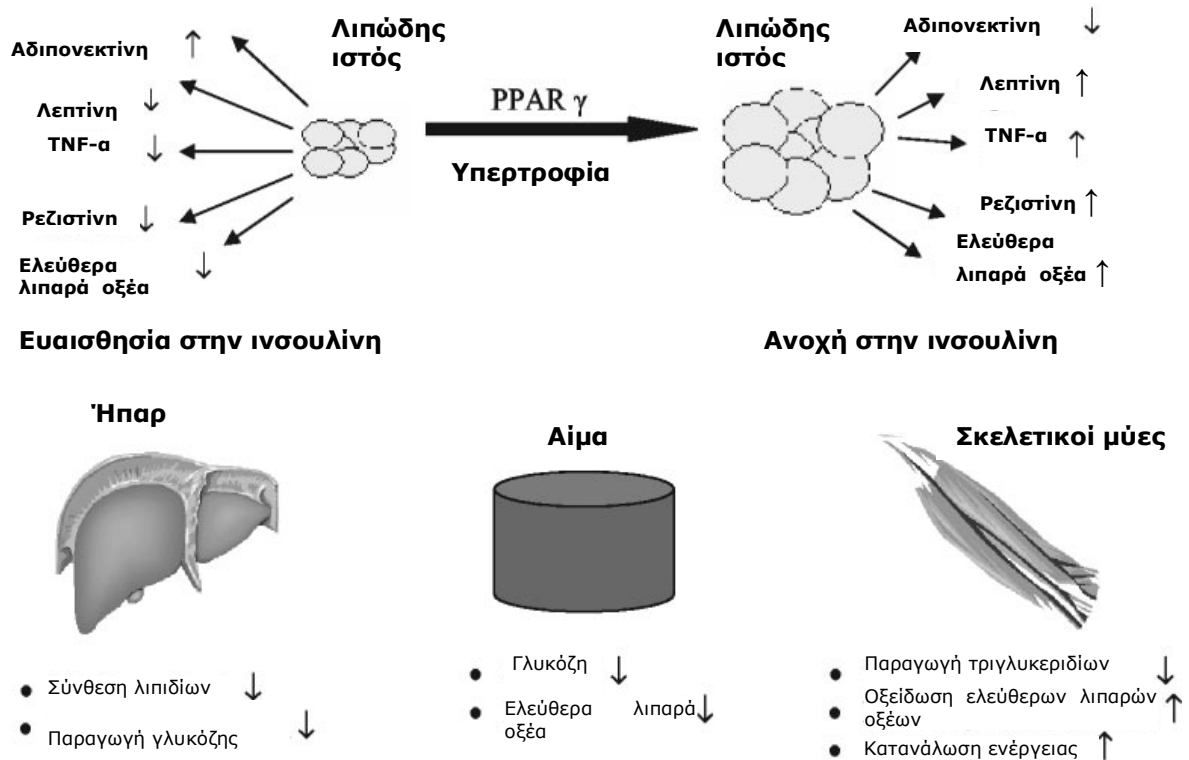
- Νευρογενής ανορεξία
- Διαβήτης τύπου 1
- Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

### Μειωμένα επίπεδα αδιπονεκτίνης

- Διαβήτης τύπου 2
- Στεφανιαία νόσος

### Φυσιολογικά

### Παχυσαρκία



**Εικόνα 9.** Δράσεις της αδιπονεκτίνης στον αδιποειδή ιστό και στα περιφερικά όργανα (ήπαρ, αίμα και σκελετικοί μύες).

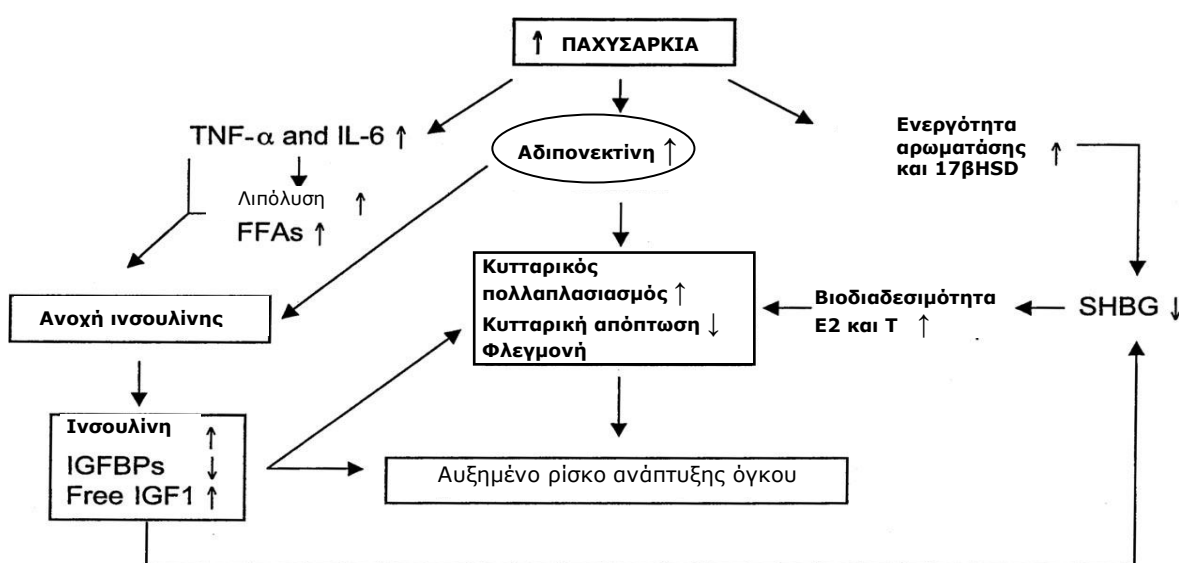
Τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με το γλυκαιμικό φορτίο με δόσοεξαρτώμενο τρόπο [109]. Είναι μειωμένα στην παχυσαρκία, στο σακχαρώδη διαβήτη II και σε συγγενή λιποδιατροφικά σύνδρομα και έχουν αντίστροφη συσχέτιση με παραμέτρους κεντρικής και ολικής παχυσαρκίας, ανεξάρτητα από την ηλικία, την εμμηνόπαυση και τις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης [110, 111]. Η αδιπονεκτίνη εμφανίζεται σε

υψηλότερες συγκεντρώσεις στις γυναίκες, συγκριτικά με τους άντρες, ανεξάρτητα από τη συνολική μάζα και την κατανομή του σωματικού λίπους, πιθανότατα ως αποτέλεσμα της διαφοράς στις συγκεντρώσεις των κυκλοφορούντων οιστρογόνων ή ανδρογόνων [112, 113]. Ο χρόνιος περιορισμός θερμίδων που οδηγεί στην απώλεια βάρους έχει σαν συνέπεια την αύξηση των συγκεντρώσεων της αδιπνεκτίνης [106, 114]. Παρόλα αυτά, τα επίπεδα της αδιπνεκτίνης στο πλάσμα σχετίζονται στενότερα με την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τα επίπεδα της ινσουλίνης νηστείας από ότι με την ποσότητα του λίπους. Έτσι, οι χαμηλές τιμές αδιπνεκτίνης (προ και μετά προσαρμογής βάσει του σωματικού λίπους) προηγούνται της μείωσης της ευαισθησίας στην ινσουλίνη [115]. Επιπλέον της ισχυρής και σταθερής αντίστροφης συσχέτισης μεταξύ αδιπνεκτίνης και αντίστασης στην ινσουλίνη, η αδιπνεκτίνη έχει συνδεθεί με διάφορους φλεγμονώδεις δείκτες, όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη και το ινωδογόνο [116, 117].

### **2.2.2 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ**

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα διάφορων μελετών που έχουν δείξει ότι η αδιπνεκτίνη μειώνει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων *in vitro*, ενώ σε μία σχετικά πρόσφατη επεμβατική μελέτη βρέθηκε ότι η χορήγηση αδιπνεκτίνης σε ποντίκια μειώνει την αύξηση του καρκίνου του στομάχου και των μεταστάσεων [118], προσφέροντας μηχανιστικό έρεισμα στην υπόθεση ότι η αδιπνεκτίνη πιθανόν να παίζει ρόλο στην καρκινογένεση. Επιπλέον, έχει φανεί ότι η αδιπνεκτίνη δρώντας μέσω των υποδοχέων της εμποδίζει τη νεοαγγειογένεση όπως και την κυτταρική αύξηση, τη μετανάστευση και επιβίωση των καρκινικών κυττάρων του ενδομητρίου [119]

(Εικόνα 10). Ανάλογη δράση της αδιπονεκτίνης έχει περιγραφεί σε μυελοκύτταρα λευχαιμίας [120] και σε διάφορες κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού [121, 122], όπου παρατηρήθηκε καταστολή της αύξησης και επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, καθώς και αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού τόσο σε εξαρτώμενες όσο και σε μη εξαρτώμενες από τα ανδρογόνα κυτταρικές σειρές καρκίνου του προστάτη [122].

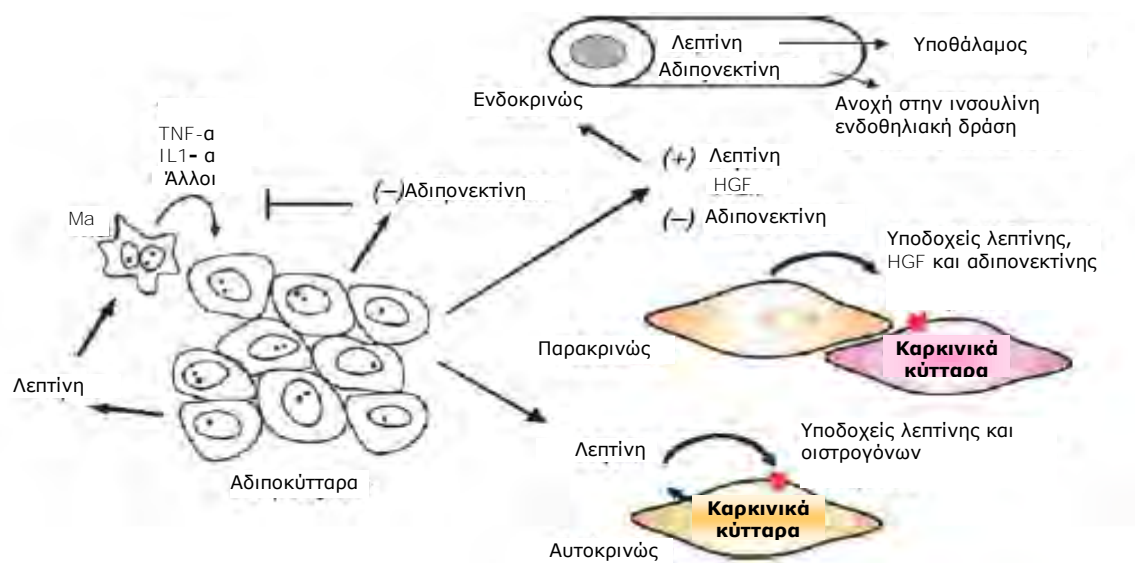


**Εικόνα 10.** Μια περίληψη των παραγόντων που συμβάλλουν στην αύξηση του κινδύνου για νεοπλάσματα σχετιζόμενα με παχυσαρκία, περιλαμβανομένου και των χαμηλών επιπέδων της αδιπονεκτίνης. TNF-α: tumor necrosis factor-α, IL-6: interleukin-6, IGFBPs: insulin-like growth factor binding proteins, IGF-1: insulin-like growth factor 1, SHBG: sex hormone-binding globulin, 17HSD: 17--hydroxysteroid dehydrogenase, E2: estradiol, T: testosterone, FFA: free fatty acid.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, σε αρκετές καρκινικές σειρές εκφράζονται υποδοχείς της αδιπονεκτίνης, γεγονός που συνιστά πιθανό την άμεση δράση της πρωτεΐνης στα κύτταρα αυτά μέσω των υποδοχέων της. Οι υποδοχείς της εκφράζονται όχι μόνο από κυτταρικές σειρές του καρκίνου του προστάτη [123, 124, 125] και του ηπατοκυτταρικού καρκίνου [120], αλλά και του μαστού [126, 127, 128, 129], από καρκινικές σειρές εντέρου καθώς και από καρκινικά κύτταρα ενδομητρίου [130, 131]. Παρότι δεν έχει διευκρινιστεί αν η παρουσία

των υποδοχέων αυτών στα καρκινικά κύτταρα έχει λειτουργική συνάφεια, πρώιμες μελέτες έχουν δείξει ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων από την αδιπονεκτίνη μειώνει τον πολλαπλασιασμό των νεοπλασματικών κυττάρων στον καρκίνο του μαστού in vitro [126].

Οι μέχρι τώρα μελέτες που αφορούν τα επίπεδα της πρωτεΐνης σε σχέση με τα διάφορα νεοπλάσματα, προσφέρουν ενδιαφέροντα στοιχεία, αν και κατά περιπτώσεις αντικρουόμενα, για τον πιθανό ρόλο της αδιποκίνης αυτής στην ανάπτυξη και την εξέλιξη διαφόρων τύπων καρκίνου. Χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ανεξάρτητα από το BMI, τη λεπτίνη και τον παράγοντα IGF-1 (Insulin Growth Factor-1) [128, 132] (Εικόνα 11) ενώ άλλες μελέτες κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα ανεξάρτητα και από τη φάση της εμμηνόπαυσης [133, 134].



**Εικόνα 11.** Στην παχυσαρκία και τον καρκίνο του μαστού, αδιποκίνες (λεπτίνη, αδιπονεκτίνη και HGF) κυκλοφορούν στο πλάσμα και αλληλεπιδρούν με το προκαρκινικό ή νεοπλασματικό επιθήλιο του μαστού. Ενδοκρινείς παρακρινείς και αυτοκρινείς σχέσεις μεσολαβούν ανάμεσα σε λεπτίνη και κυτταρικό μικροπεριβάλλον για την υποστήριξη της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων μέσω της ενεργοποίησης των υποδοχέων λεπτίνης και οιστρογόνων. Υπάρχει μια παρακρινής σχέση μεταξύ των αδιποκυττάρων που παράγουν HGF και των γειτονικών μαστικών κυττάρων για τη διέγερση της αύξησης. Η αδιπονεκτίνη εξαγει μια άμεση ανασταλτική δράση στην αύξηση των καρκινικών κυττάρων, εμποδίζει την έκκριση λεπτίνης από τον περιβάλλον μαστικό αδιποειδή ιστό και αποτρέπει τα μακροφάγα από την παραγωγή φλεγμονωδών

κυττοκινών (TNF-a και IL-1b). HGF: hepatocyte growth factor, TNF-a: tumor necrosis factor-a, IL-1b: interleukin-1b, Ma: macrophage.

Ανάλογη σχέση περιγράφεται και σε άλλους καρκίνους, όπου τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης βρέθηκαν αντιστρόφως ανάλογα του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου [135], αλλά και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του εντέρου για τους άντρες [136]. Οι ερευνητές της τελευταίας μελέτης βρήκαν στη συνέχεια των ερευνών τους ότι οι υποδοχείς της αδιπονεκτίνης εκφράζονται σε μεγαλύτερο βαθμό στο νεοπλασματικό σε σχέση με τον υγιή ιστό των υπό εξέταση ασθενών με καρκίνο του εντέρου. Επίσης και στον καρκίνο του προστάτη, ο μειωμένος κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου συσχετίστηκε με χαμηλά επίπεδα αδιπονεκτίνης, ανεξάρτητα μάλιστα από BMI, ηλικία και άλλους γνωστούς παράγοντες κινδύνου [137]. Τέλος, η αδιπονεκτίνη ενδέχεται να παίζει ρόλο και στα νεοπλάσματα του στομάχου, των νεφρών και στη λευχαιμία [138,139].

### **2.2.2.1 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**

Παρά την ύπαρξη πληθώρας βιβλιογραφικών αναφορών σχετικά με την πιθανή κλινική σημασία της αδιπονεκτίνης στα αλλά νεοπλάσματα, η σχετική αναφορά στον καρκίνο του πνεύμονα είναι μέχρι στιγμής φειδωλή. Συγκεκριμένα, από τον μικρό αριθμό κλινικών μελετών που έχουν εξετάσει τη συσχέτιση των επιπέδων της αδιπονεκτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα συγκριτικά με υγιείς [79, 82, 83, 140], η πλειονότητα δεν αναγνώρισε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την αδιπονεκτίνη ανάμεσα στις δύο υπό εξέταση ομάδες [82, 83, 140]. Η μόνη μελέτη που βρήκε διαφορά αναφέρει χαμηλότερα επίπεδα της ορμόνης στους ασθενείς, οι οποίοι βέβαια ήταν 20 στον αριθμό, εμφάνιζαν απώλεια βάρους και χαμηλότερο BMI σε σχέση με τους

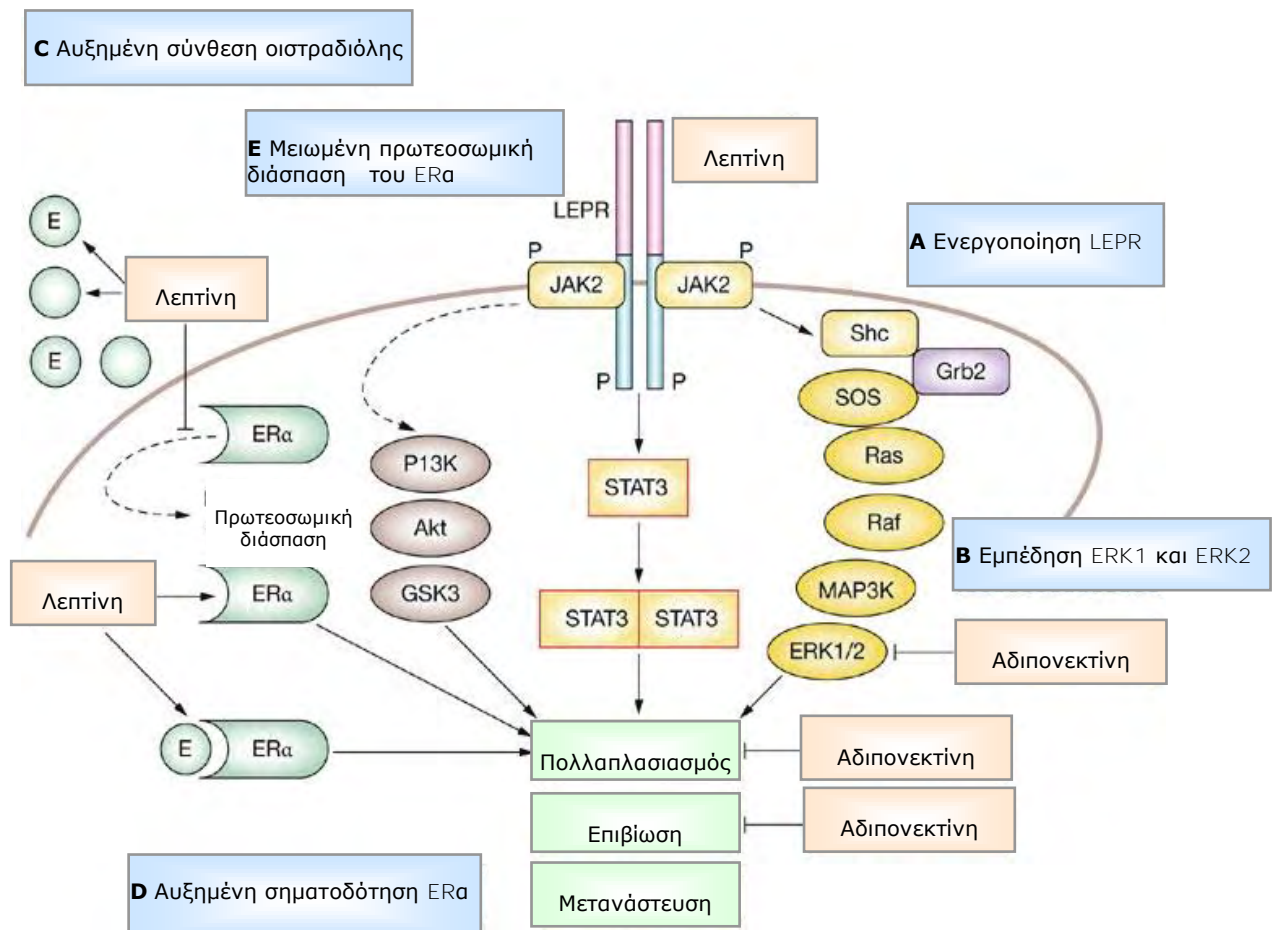


υγιείς [79]. Αξίζει να αναφερθεί ότι σε μία από τις προαναφερόμενες μελέτες [140] εκτός από τα κυκλοφορούντα επίπεδα, μελετήθηκαν και οι υποδοχείς της αδιπονεκτίνης AdipoR1 και AdipoR2. Στη μελέτη αυτή παρόλο που δε βρέθηκε συσχέτιση των επιπέδων της αδιπονεκτίνης με τον καρκίνο του πνεύμονα, οι υποδοχείς της υπερεκφράζονταν στον καρκινικό ιστό σε σχέση με τον παρακείμενο μη προσβεβλημένο, εύρημα που εύλογα ενισχύει την άποψη ότι η αδιπονεκτίνη μπορεί να συμμετέχει άμεσα στην καρκινογένεση και στην εξέλιξη της νόσου στον καρκίνο του πνεύμονα.

### **2.3 ΣΧΕΣΗ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ**

Η ενδεδειγμένη μελέτη του αδιποειδή ιστού και των παραγώγων του τα τελευταία χρόνια οδήγησε τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι οι αδιποκίνες εμφανίζουν κλινικό ενδιαφέρον στα πλαίσια μελέτης αρκετών παθήσεων, μεταξύ αυτών και των νεοπλασιών. Η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη αποτελούν από τις πιο συχνά μελετημένες αδιποκίνες και μάλιστα σε πολλές μελέτες συνυπάρχουν στους υπό εξέταση παράγοντες και δικαιολογημένα αφού από παθοφυσιολογικής άποψης συμμετέχουν σε αρκετές κοινές διεργασίες η κάθε μία με το δικό της ρόλο. Όπως έχει φανεί από ένα πλήθος μελετών-ανασκοπήσεων, οι δύο αυτές αδιποκίνες-κυτταροκίνες όχι μόνο συμμετέχουν σε κοινές φυσιολογικές και παθοφυσιολογικές διεργασίες, αλλά έχουν και αντίθετο ρόλο. Όσον αφορά στον καρκίνο σύμφωνα με τις υπάρχουσες ενδείξεις στη λεπτίνη έχει αποδοθεί μέχρι στιγμής ο «κακός» ρόλος ενώ τον «καλό» ρόλο κερδίζει η αδιπονεκτίνη. Σύμφωνα λοιπόν με τα ευρήματα των σχετικών μελετών, κάποιες εκ των οποίων αναφέρθηκαν και νωρίτερα [59], η λεπτίνη πιθανότατα συμμετέχει στην καρκινογένεση προάγοντας τη νεοαγγειογένεση, καταστέλλοντας την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και ενισχύοντας τον

πολλαπλασιασμό τους [64, 141]. Αντιθέτως, η αδιπονεκτίνη φαίνεται να διαδραματίζει μάλλον προστατευτικό ρόλο για τον οργανισμό στα πλαίσια της καρκινογένεσης, ανταγωνιζόμενη τη λεπτίνη στις προαναφερθείσες διεργασίες [94, 119] (Εικόνα 12).



**Εικόνα 12.** Αντίθετες δράσεις λεπτίνης-αδιπονεκτίνης στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού.

Η σχέση αυτή ανάμεσα στις δυο αδιπονεκτίνες οδήγησε εύλογα κάποιους ερευνητές να αξιολογήσουν εκτός από τα επίπεδα τους στο αίμα και το μεταξύ τους λόγο, λεπτίνη/αδιπονεκτίνη, σε μια προσπάθεια διερεύνησης της πιθανής κλινικής του σημασίας στο εκάστοτε υπό μελέτη νεόπλασμα. Ο λόγος λοιπόν όντως βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικός σε ασθενείς με καρκίνο του εντέρου, όπου βρέθηκε να είναι οχτώ φορές μεγαλύτερος στους ασθενείς σε

σχέση με τους υγιείς και μάλιστα αποτελούσε ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη [142]. Μία ακόμη μελέτη που περιέλαβε ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου διαπίστωσε ότι οι υψηλές τιμές του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου, ανεξάρτητα από την παρουσία παχυσαρκίας, υπέρτασης και σακχαρώδους διαβήτη τύπου II [143].

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **3 ΥΛΙΚΟ**

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν 80 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας κατά τα έτη 2008 και 2009, με κυτταρολογική ή ιστολογική επιβεβαίωση καρκίνου πνεύμονα, οι οποίοι δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία. Επίσης σαράντα υγιείς εθελοντές παρόμοιας ηλικίας, φύλου και BMI με τους ασθενείς δέχτηκαν να συμμετάσχουν και να απαρτίσουν την ομάδα ελέγχου της μελέτης.

Για τη μέτρηση της μεταγραφικής έκφρασης των υποδοχέων της λεπτίνης (ORBL, ORBS) χρησιμοποιήθηκαν 9 καρκινικές κυτταρικές σειρές ΜΜΚΠ και υλικό από 21 ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο πνεύμονα, οι οποίοι νοσηλεύθηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας το διάστημα Απρίλιος 2007 – Νοέμβριος 2008 και στη συνέχεια υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση για τη νόσο τους. Οι καρκινικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη ήταν οι εξής: οι CALU-1, CALU-6, GILI, ONET, SK-LU-1 που περιλάμβαναν κύτταρα από αδενικαρκίνωμα πνεύμονα, η NCIH441 θηλοειδούς καρκίνου πνεύμονα, η NCIH661 και η NCIH460 με κύτταρα από καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα και η NCIH596 αδenoπλακώδους καρκίνου πνεύμονα.

Η Επιτροπή Ηθικών ζητημάτων του νοσοκομείου έλαβε γνώση και ενέκρινε τη μελέτη, ενώ όλοι οι συμμετέχοντες, υγιείς και ασθενείς ενημερώθηκαν για τη μελέτη και κατόπιν συμπλήρωσαν έντυπο συγκατάθεσης.

### **3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΣ ΜΕ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΔΙΠΟΚΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΙΜΑΤΟΣ**

Οι ασθενείς είχαν μέση ηλικία  $62,9 \pm 9,2$  έτη. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών εμφανίζονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 1. Η σταδιοποίηση κατά TNM, το Performance status κατά ECOG, το ύψος και το βάρος τους είχε καταγραφεί κατά την εισαγωγή τους και ο Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI) υπολογίστηκε σε  $\text{kg}/\text{m}^2$ . Ως απώλεια βάρους ορίστηκε η απώλεια πάνω από 5% του προ διάγνωσης βάρους σώματος που έλαβε χώρα τους προηγούμενους 3 μήνες. Από τους 80 ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα, οι 61 διεγνώσθησαν με ΜΜΚΠ (NSCLC), εκ τους οποίους 30 έπασχαν από πλακώδες (SqCLC), 25 από αδενοκαρκίνωμα και 6 από μη αλλιώς προσδιορισμένο (NOS) μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα. Οι υπόλοιποι 19 ασθενείς διεγνώσθησαν με ΜΚΠ (SCLC). Έντεκα ασθενείς (14%) κατηγοριοποιήθηκαν ως σταδίου I, 14 ασθενείς (17%) ήταν σταδίου II, οι 26 (33%) σταδίου III και στους υπόλοιπους 29 ασθενείς (36%) διεπιστώθηκε νόσος σταδίου IV. Παρόλα αυτά, όλοι οι ασθενείς ήταν σε καλή γενική κατάσταση, 60 είχαν PS=0 και 20 PS=1, ενώ μόνο στους 17 από τους 80 ασθενείς διαπιστώθηκε απώλεια βάρους.

Οι ασθενείς αντιμετωπίστηκαν ανάλογα με το στάδιο της νόσου τους. Συγκεκριμένα, 32 ασθενείς υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση, εκ των οποίων ένας έλαβε νεοεπικουρική και 18 ασθενείς επικουρική χημειοθεραπεία με πλατινούχο συνδυασμό. Από του υπόλοιπους ασθενείς που δεν είχαν ένδειξη για χειρουργείο οι 45 έλαβαν χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής με πλατινούχο συνδυασμό, 16 από τους οποίους υπεβλήθησαν και σε συνεδρίες ακτινοθεραπείας, και 3 έλαβαν μόνο βέλτιστη υποστηρικτική φροντίδα. Αξιολογήθηκε η ανταπόκριση στη θεραπεία μόνο για τους ασθενείς με τοπικά εκτεταμένη ή εκτεταμένη νόσο ( $n=45$ ) που έλαβαν χημειοθεραπεία, με ή χωρίς

ακτινοθεραπεία. Για τον καθορισμό της ανταπόκρισης στη θεραπεία χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια RECIST. Ως εκ τούτου οι ασθενείς με μερική ανταπόκριση (n=16) ή πλήρη ανταπόκριση (n=5) μετά το πέρας της πρώτης γραμμής χημειοθεραπείας κατηγοριοποιήθηκαν ως ανταποκρινόμενοι, ενώ οι ασθενείς με σταθερή νόσο (n=10) ή πρόοδο νόσου (n=14) καταχωρήθηκαν στους μη ανταποκρινόμενους. Όλοι οι ασθενείς παρακολουθούνταν τακτικά με την απαιτούμενη κλινική και απεικονιστική αξιολόγηση.

**Πίνακας 1.** Χαρακτηριστικά ασθενών με μέτρηση επιπέδων αδιποκινών στον ορό αίματος

<b>Χαρακτηριστικά</b>		<b>n=80</b>
<b>Ηλικία</b> (έτη)	62.9 ± 9.2 (μέση)	
	≤65	48
	>65	32
<b>Φύλο</b>	Γυναίκες	11
	Άντρες	69
<b>Κάπνισμα</b>	Καπνιστές	52
	Πρώην	23
	Μη	5
<b>ECOG-PS</b>	0	60
	1	20
	2	0
<b>Απώλεια βάρους</b>	≤5	63
	>5	17
<b>Ιστολογικός τύπος</b>	Αδενοκαρκίνωμα	25
	Πλακώδες	30
	NOS ΜΜΚΠ	6
	ΜΚΠ	19
<b>Στάδιο</b>	I/II/III/IV	11/14/26/29
-ΜΜΚΠ	11/12/18/20	
-ΜΚΠ	0/2/8/9	
<b>TNM</b>	T1-2/T3-4	42/38
	N0-1/N2-3	50/30
	M0/M1	51/29

### **3.2 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΛΕΠΤΙΝΗΣ**

Από τους χειρουργημένους ασθενείς οι 18 ήταν άντρες και 3 γυναίκες, διάμεσης ηλικίας 62 ετών, (40-79), 13 καπνιστές, 5 πρώην καπνιστές και 3 μη καπνιστές, σε καλή βιολογική κατάσταση (19 ασθενείς με ECOG Performance Status (PS)=0 και PS=1 οι υπόλοιποι 2 ασθενείς). Σύμφωνα με την προεγχειρητική σταδιοποίηση (cTNM): 9 ασθενείς ήταν σταδίου I και 12 ασθενείς σταδίου II. Όσον αφορά τον ιστολογικό τύπο σε 12 ασθενείς διαγνώσθηκε αδενοκαρκίνωμα και σε 9 πλακώδες. Μετά από προεγχειρητικό έλεγχο ακολούθησε χειρουργική αντιμετώπιση κατά την οποία πραγματοποιήθηκαν 16 λοβεκτομές, και 5 πνευμονεκτομές και η χειρουργική αφαίρεση χαρακτηρίστηκε ως πλήρης (complete resection-R0) σε όλες τις περιπτώσεις.

Οι ασθενείς εκτιμήθηκαν κατά μέσο όρο σε 1 μήνα (από 20 έως 50 ημέρες) και τα κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά τους, όπως διαμορφώθηκαν μετά το χειρουργείο, αναγράφονται αναλυτικά στον Πίνακα 2. Επίσης 13 από τους 21 ασθενείς υποβλήθηκαν σε επικουρική (adjuvant) χημειοθεραπεία. Στη συνέχεια οι ασθενείς παρακολούθηθηκαν ανά τακτά χρονικά διαστήματα στα εξωτερικά ιατρεία, με την ανάλογη επανασταδιοποίηση. Η διάμεση παρακολούθηση ήταν 20 μήνες (από 4 έως 36 μήνες).



**Πίνακας 2.** Κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά ασθενών που υπεβλήθησαν σε χειρουργείο και στους οποίους αξιολογήθηκαν οι υποδοχείς λεπτίνης.

**α.** Ιστολογικός τύπος, **ΑΔ:**Αδενοκαρκίνωμα, **ΠΛ:**Πλακώδες, **β.** Παθολογοανατομική σταδιοποίηση

<b>Ασθενείς</b>	<b>Ηλικία</b>	<b>Φύλο</b>	<b>Τύπος<sup>α</sup></b>	<b>pT NM<sup>β</sup></b>	<b>ρΣτάδιο<sup>β</sup></b>	<b>Διαφοροποίηση</b>
<b>1</b>	56	♀	ΑΔ	1 1 0	IIA	Χαμηλή
<b>2</b>	65	♂	ΑΔ	3 0 0	IIB	Μέτρια
<b>3</b>	48	♀	ΑΔ	1 0 0	IA	Μέτρια
<b>4</b>	55	♂	ΑΔ	4 2 0	IIIB	Μέτρια
<b>5</b>	60	♂	ΑΔ	2 1 0	IIB	Χαμηλή
<b>6</b>	65	♂	ΑΔ	3 0 0	IIB	Χαμηλή
<b>7</b>	74	♂	ΑΔ	2 0 0	IB	Χαμηλή
<b>8</b>	48	♂	ΑΔ	3 1 0	IIIA	Χαμηλή
<b>9</b>	71	♂	ΑΔ	2 2 0	IIIA	Χαμηλή
<b>10</b>	61	♂	ΠΚ	2 0 0	IB	Χαμηλή
<b>11</b>	67	♂	ΠΚ	1 0 0	IA	Μέτρια
<b>12</b>	79	♂	ΠΚ	2 0 0	IB	Μέτρια
<b>13</b>	79	♂	ΠΚ	2 0 0	IB	Χαμηλή
<b>14</b>	62	♂	ΠΚ	2 0 0	IB	Χαμηλή
<b>15</b>	59	♂	ΠΚ	2 1 0	IIB	Μέτρια
<b>16</b>	58	♂	ΠΚ	2 0 0	IB	Μέτρια
<b>17</b>	76	♀	ΠΚ	2 0 0	IB	Μέτρια
<b>18</b>	40	♂	ΠΚ	3 1 0	IIIA	Χαμηλή
<b>19</b>	75	♀	ΑΔ	2 0 0	IB	Μέτρια
<b>20</b>	74	♂	ΑΔ	2 1 0	IIB	Μέτρια
<b>21</b>	59	♂	ΑΔ	4 0 1	IV	Χαμηλή

## **4 ΜΕΘΟΔΟΣ**

### **4.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΔΙΠΟΚΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ**

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων των αδιποκινών ζητήθηκε από τους ασθενείς και τους υγιείς να προσέλθουν, αφού παρέμειναν νηστικοί για διάστημα τουλάχιστον 12 ωρών, να ξαπλώσουν για τουλάχιστον είκοσι λεπτά και να γίνει αιμοληψία από περιφερική φλέβα κατά τις πρωινές ώρες μεταξύ 8.00 με 9.00 πμ. Τα δείγματα του ορού αίματος αμέσως μετά τη συλλογή τους φυγοκεντρήθηκαν και αποθηκεύτηκαν στους  $-70^{\circ}\text{C}$  για την μετέπειτα ανάλυσή τους.

Η μέτρηση των επιπέδων στον ορό αίματος για τη λεπτίνη και την αδιπονεκτίνη έγινε με τη μέθοδο RIA (Radioimmunoassay). Για τη μέτρηση της ολικής λεπτίνης χρησιμοποιήθηκε ανθρώπινο διαγνωστικό RIA kit (KIPMR44) παραγόμενο από τη Diasource Europe SA (Belgium) και για τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης χρησιμοποιήθηκε ανθρώπινο διαγνωστικό RIA kit (LINCO Research, USA).

Το kit για τη λεπτίνη είναι κατάλληλο για ανθρώπινη λεπτίνη, ενώ δεν έχει βρεθεί διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με άλλες πρωτεΐνες, όπως η ινσουλίνη και ο IGF-1. Η ευαισθησία της δοκιμασίας λεπτίνης είναι  $0,1\text{ng/ml}$ , με εύρος φυγόκεντρου  $0-64\text{ ng/ml}$  και ενδοαναλυτική και διαεκτελεστική διακύμανση λιγότερο από 5% και 7,6% αντιστοίχως. Το kit την αδιπονεκτίνη έχει ευαισθησία της τάξεως του  $1\text{ng/ml}$  και εύρος ανάλυσης  $1-200\text{ ng/ml}$ , ενώ η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με συγκεκριμένες πρωτεΐνες αδρανοποίησης C1q είναι μικρότερη από 0.01%. Η ενδοαναλυτική και διαεκτελεστική διακύμανση είναι μικρότερη από 6.21% και 9.25% αντιστοίχως.

Επιπλέον, και τα δύο RIA kit (λεπτίνης και αδιπονεκτίνης) είναι φυγοκεντρημένα βάσει των ισχύων διεθνών προτύπων. Το ραδιοφάρμακο που χρησιμοποιήθηκε και για όλα τα kit είναι το  $^{125}\text{I}$ iodine (I-125, χρόνος ημίσειας ζωής T1/2 60 μέρες, 35.5 keV ακτινοβολίες γ, 27-32 keV ακτίνες χ, μη βήτα ακτινοβολία).

Όλα τα δείγματα της δοκιμασίας έτρεξαν διπλά για κάθε βιολογική παράμετρο. Σε περίπτωση που υπήρχε διαφορά στα διπλότυπα αποτελέσματα ενός δείγματος της τάξεως άνω του 5%, το δείγμα της δοκιμασίας επαναλαμβανόταν, ενώ η συναποδοτική διακύμανση της διαδικασίας ήταν 2.9% για τη λεπτίνη και 3.7% για την αδιπονεκτίνη. Χρησιμοποιήθηκε ένας αυτόματος υπολογιστής γάμμα (τύπος: Cobra II/5010, εταιρεία: Packard, ΗΠΑ) για τη μέτρηση της ραδιοενεργότητας και τη μέτρηση των αποτελεσμάτων.

#### **4.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ**

Η μελέτη της μεταγραφικής έκφρασης των υποδοχέων της λεπτίνης πραγματοποιήθηκε σε καρκινικές σειρές, και σε καρκινικό και παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό ασθενών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική εξαίρεση του όγκου. Στα δείγματα έγινε εκχύλιση RNA και στη συνέχεια σύνθεση cDNA και στη συνέχεια RT-PCR για τα γονίδια ORBL, ORBS και β2 μικροσφαιρίνη (β2m).

Ελήφθη καρκινικός ιστός και παρακείμενος μη προσβεβλημένος ιστός σε απόσταση από 2 έως 11 cm από τα μακροσκοπικά όρια του όγκου σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω στη μέθοδο.

#### 4.2.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Μετά την αφαίρεση του λοβού/πνεύμονα, ειδικός παθολογοανατόμος συνέλλεγε τομές πάχους 10μm από το νεοπλασματικό κομμάτι του ιστού και από παρακείμενο τμήμα ιστού που δεν έφερε ένδειξη νόσου. Εν συνεχεία, τα τμήματα του ιστού τοποθετούνταν σε διάλυμα (RLSR, RNA Later Stabilization Reagent, QiagenCat 74126), που παρείχε προστασία στο RNA από τις RNAσες του περιβάλλοντος και διατηρούνταν για 24h σε θερμοκρασία 4°C. Έπειτα, μεταφέρονταν σε νέο καθαρό σωληνάριο και αποθηκεύονταν στους -80°C, μέχρι να χρησιμοποιηθούν για εκχύλιση RNA. Σε κάθε βήμα της διαδικασίας, όλα τα αντικείμενα που έρχονταν σε επαφή με το δείγμα καθαρίζονταν με διάλυμα RNaseZap (AmbionCat 9782) που προστατεύει από τη δράση RNAσών.

Οι διαθέσιμες καρκινικές σειρές καλλιεργήθηκαν σε φλάσκες 75cm<sup>2</sup> (Corning, Cat 430641), ώστε να αποκτηθεί ένας ικανοποιητικός αριθμός κυττάρων. Τις πρώτες μέρες καλλιέργειας οι καρκινικές σειρές αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό μέσο 10%FBS-RPMIc, που αποτελείται από 10% εμβρυϊκό ορό βοδιού (FBS, Gibco, 10108-157) και πλήρες θρεπτικό μέσο (RPMI, Gibco, Cat 52400-041 με 1%PSG 10,000U/ml GibcoCat 10378-016, 1% MEMaminoacids GibcoCat 11140-035 και 0.1% 2ME (50mM) Gibco, Cat 31350-010) σε συνθήκες 37°C, 5%CO<sub>2</sub> και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε θρεπτικό μέσο 10%FBS-IDc (IMDM, GibcoCat 21980-065 αντί RPMI) σε συνθήκες 37°C, 8%CO<sub>2</sub>.

Το πάγωμα των κυττάρων έγινε σε υλικό που αποτελείται από 80% πλήρες θρεπτικό μέσο (SF-IDc), 10% εμβρυϊκό ορό βοδιού (FBS, Gibco, 10108-157) και 10% DMSO (Dimethylsulphoxide, SigmaCatD-5879). Στη συνέχεια τα κύτταρα τοποθετούνταν σε ειδικό δοχείο με ισοπροπανόλη και μεταφέρονταν

στους  $-80^{\circ}\text{C}$ , όπου και παρέμεναν για τουλάχιστον 24h. Μετά αποθηκεύονταν για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε βαθειά κατάψυξη σε δοχείο υγρού αζώτου.

Εναλλακτικά, τα κύτταρα μπορούσαν να καθαριστούν με 1xPBS και να καταψυχθούν σαν ίζημα με άμεση ψύξη σε υγρό άζωτο ή σε διάλυμα RLТ (Lysisreagent, Qiagen, Cat 1015762) με 1% 2-mercaptethanol 14.3M (2ME, Sigma, M-6250) ώστε να χρησιμοποιηθούν για εκχύλιση RNA.

#### **4.2.2 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ**

Στο στάδιο της εκχύλισης RNA χρησιμοποιήθηκε η τεχνολογία RNeasy της Qiagen (Cat 74126) (Εικόνα 13). Όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε RLТ (Lysisreagent) και έγινε ομογενοποίηση του δείγματος με ισχυρή ανακίνηση του σωληναρίου για 30" και εισαγωγή του 5 φορές μέσα από σύριγγα 21G (BD, Cat 308027). Ακολουθεί προσθήκη διαλύματος αιθανόλης 70% (Ethanol, ScharlauCat ET0016) και μεταφορά όλης της ποσότητας σε μικροκλώνες RNeasy. Για περαιτέρω καθαρισμό του δείγματος από επιμόλυνση γονιδιωματικού DNA, χρησιμοποιήθηκε το RNase-freeDNaseSet της Qiagen (Cat 79254). Ακολούθησαν διαδοχικές φυγοκεντρήσεις καθαρισμού με τη χρήση των διαλυμάτων του πακέτου RNeasy, RW1 και RPE, όπως περιγράφεται στο πρωτόκολλο της Qiagen. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας, ακολούθησε ποσοτικοποίηση κάθε δείγματος με φωτομέτρηση, ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης και προσαρμογή της συγκέντρωσης στα 100ng/μl (Εικόνα 13). Τα δείγματα αποθηκεύθηκαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Η φωτομέτρηση έγινε σε φωτόμετρο (BioPhotometer, Eppendorf) με RNase- DNasefree κυψελίδες (Eppendorf, UVette) και αραιώση δείγματος 1:20.

Στην ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε 1,5% αγαρόζη (Agarose, InvitrogenCat 15510-027) με 5μg/ml βρωμιούχοαιθίδιο (BioradCat 15585-011). Τα δείγματα ελέγχθηκαν για την παρουσία γονιδιωματικού DNA και η ποσοτικοποίηση επαληθεύθηκε με τη χρήση πρότυπου RNA (controltemplate RNA Ambion, 500ng/μl). Έγιναν 4 διαδοχικές αραιώσεις του RNA γνωστής ποσότητας και διαδοχικές αραιώσεις του αγνώστου δείγματος. Με βάση την ένταση των ζωνών του 18sRNA υπολογίστηκε η συγκέντρωση ως εξής: τα 0,6μl δείγματος αντιστοιχούσαν σε 312.5ng RNA, άρα η συγκέντρωση του δείγματος ήταν  $312.5/0,6=520\text{ng}/\mu\text{l}$ .

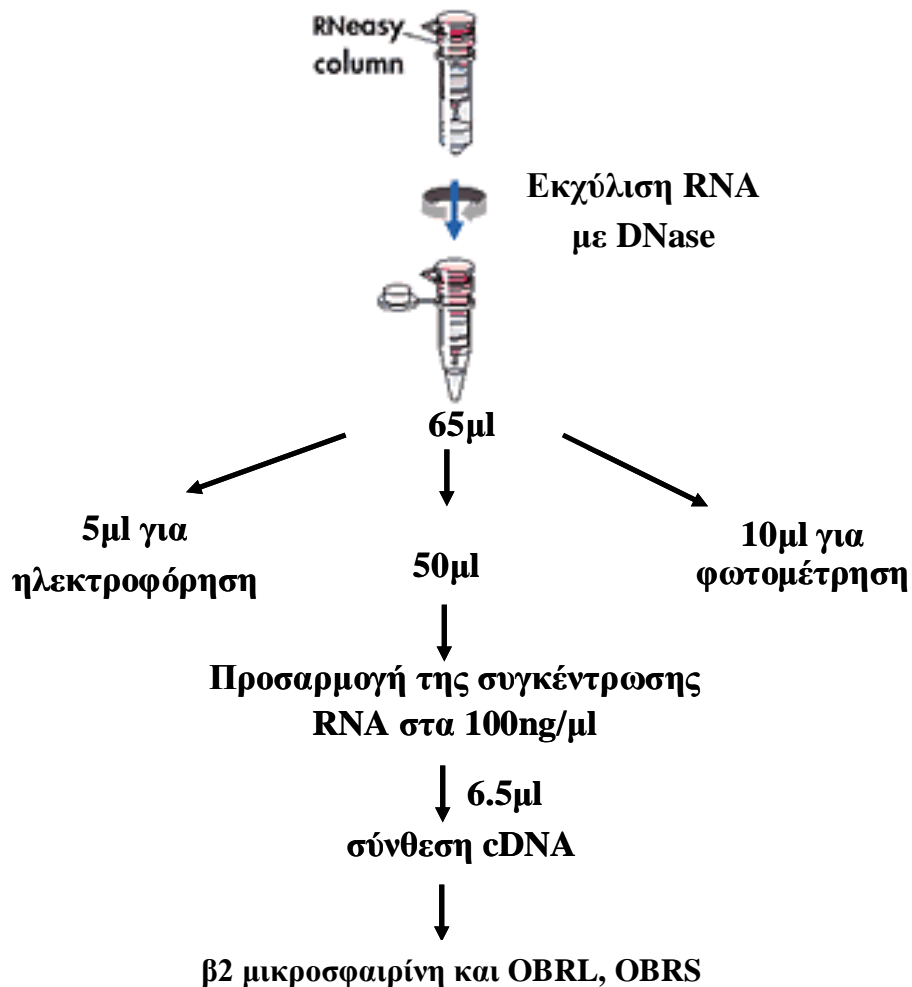
Προκειμένου να μετατραπούν τα μόρια mRNA σε συμπληρωματικά μόρια DNA (*complementaryDNA, cDNA*), απαιτείται η αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το πακέτο της Qiagen (OmniscriptRTkit , Cat 205111) που περιλάμβανε: 10xRTbuffer, διάλυμα dNTPs, OmniscriptRT και H<sub>2</sub>O ελεύθερο DNAσών και RNAσών. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν τυχαία εξαμερή (RandomPrimersp[dN]<sub>6</sub>, Roche, Cat 11034731001) και αναστολέας των RNAσών (RNAsin 2,500U, 40U/μl, PromegaCatN2111).Ο όγκος του κάθε αντιδραστηρίου ανά δείγμα φαίνεται στον Πίνακα 3.

Στην αντίδραση χρησιμοποιήθηκαν 650ng RNA. Προκειμένου να λάβει χώρα η αντίδραση, χρησιμοποιήθηκαν σωληνάρια PCR στα οποία προστέθηκαν αρχικά 3.5 μl νερό με 4 μl τυχαία εξαμερή και 6.5 μlRNA. Τα σωληνάρια τοποθετήθηκαν στους 72°C για 2 λεπτά και στη συνέχεια προστέθηκαν 11 μl μείγματος αντιδραστηρίων, όπως φαίνεται στον Πίνακα 3. Τα δείγματα επωάστηκαν στους 42°C για 90 λεπτά και στη συνέχεια για 10 λεπτά στους 65°C, ώστε να επέλθει αδρανοποίηση των ενζύμων. Έπειτα, τα δείγματα μεταφέρθηκαν αμέσως σε πάγο και προστέθηκαν 80 μlH<sub>2</sub>O ελεύθερου DNAσών

και RNAσών (UltraPureWater,GibcoCat 10977-035). Τα δείγματα cDNA αποθηκεύθηκαν στους -20°C.

**Πίνακας 3.** Ποσότητες αντιδραστηρίων για σύνθεση cDNA

<b>Αντιδραστήριο</b>	<b>Όγκος ανά δείγμα (μl) hexamers</b>
10xRT buffer	2.5
<i>dNTP mix (500μM)</i>	2.5
Stock oligodT <sub>15</sub> (10μM)	-
RNAsin (10 Units)	0.31
Omniscript RT (4 Units)	1.25
RNase-free H <sub>2</sub> O	4.44
<b>Όγκος MasterMix</b>	<b>11</b>
Random hexamers	4
RNase-free H <sub>2</sub> O	3.5
δείγμα RNA	6.5
<b>Συνολικός όγκος</b>	<b>25</b>



**Εικόνα 13.** Πορεία της επεξεργασίας των δειγμάτων. Μετά την εκχύλιση RNA ακολούθησε ποσοτικοποίηση του δείγματος και προσαρμογή της συγκέντρωσης στα 100ng/µl. Από αυτό, 650ng χρησιμοποιήθηκαν για σύνθεση cDNA.

Για τη μελέτη της έκφρασης των OBRL και OBRS αναλύθηκαν cDNA δειγμάτων με PCR πραγματικού χρόνου χρησιμοποιώντας ως γονίδιο αναφοράς τη β2m.

Για την RTPCR χρησιμοποιήθηκε το προϊόν της Invitrogen Platinum SYBRGreen qPCRSupermix- UDG (Cat 11733-038). Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε σωληνάρια 0.1ml (Corbett Reasearch, Cat 3001-002) και σε κυκλοποιητή RotorGene RG-6000 (Corbett Reasearch).



Οι συνθήκες για το γονίδιο της OBRL ήταν 95°C για 10' ακολουθούμενοι από 50 κύκλους σε 95°C για 15" και 60°C για 60" . Για το γονίδιο της OBRS οι συνθήκες ήταν 50°C για 2', 95°C για 2', και 50 κύκλοι στους 95°C για 45", 60°C για 45" και 72 °C για 45". Για τη β2m οι συνθήκες ήταν 50°C για 2', 95°C για 2', και 40 κύκλοι στους 95°C για 15", και 60°C για 60". Η μέτρηση του φθορισμού έγινε στο τέλος κάθε κύκλου

Διπλά δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για κάθε γονίδιο και υπολογίστηκε ο μέσος όρος των δύο μετρήσεων για κάθε δείγμα. Σε όλους τους ασθενείς η σχετική έκφραση προσδιορίστηκε συγκρίνοντας την έκφραση του κάθε υποδοχέα στον καρκινικό ιστό ως προς τον αυτόλογο παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό.

Η ανάλυση της σχετικής έκφρασης έγινε με τη χρήση του μαθηματικού τύπου  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

### **4.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού MedCalc, Version 9.6.4.0. Ο προσδιορισμός της κατανομής των δεδομένων μας ανέδειξε ότι οι περισσότερες μεταβλητές δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή, όπως αξιολογήθηκε βάσει της Kolmogorov-Smirnov δοκιμασίας. Ως εκ τούτου, όλες οι μεταβλητές εκφράστηκαν ως διάμεσες τιμές (min-max). Όλες οι δοκιμασίες ήταν two-sided.

Όλες οι συγκρίσεις των επιπέδων των αδιποκινών στον ορό μεταξύ των ομάδων επιτελέστηκαν με τη χρήση μη παραμετρικής δοκιμασίας όπως το Mann Whitney U και Kruskal-Wallis με μια απαραίτητη post hoc δοκιμασία (Bonferroni). Όταν τα δεδομένα είχαν κανονική κατανομή, πραγματοποιήθηκε

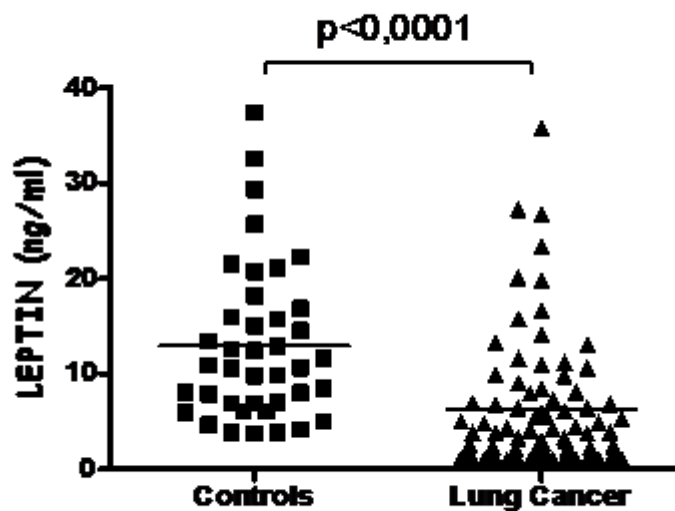
ασύζευκτο t-test ή ανάλυση μιας κατεύθυνσης διακυμάνσεων (ANOVA). Οι συντελεστές Pearson's ή Spearman's χρησιμοποιήθηκαν για συσχετίσεις ποσοτικών δεδομένων όταν αυτό ήταν απαραίτητο. Ανάλυση με logistic regression έγινε για την εκτίμηση των odd ratio και των CIs για τη συσχέτιση με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία. Στατιστικώς σημαντικό ορίστηκε η τιμή του  $p < 0.05$ .

Οι καμπύλες επιβίωσης απεικονίστηκαν με τη μέθοδο Kaplan -Meyer και οι log rank δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν για τις διαφορές στην επιβίωση. Η ανάλυση της επιβίωσης με συμμεταβλητές έγινε με Cox regression με σκοπό να διακριθούν ποιες παράμετροι εμφάνισαν ανεξάρτητη προγνωστική αξία στην επιβίωση.

## 5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

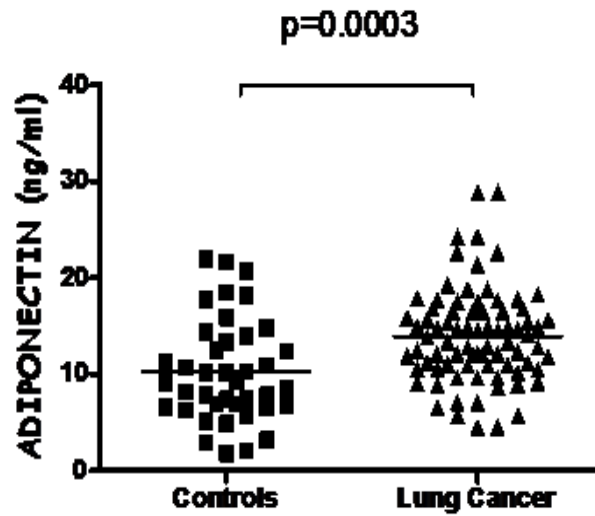
### 5.1 ΕΠΙΠΕΔΑ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ

Τα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό κατά τη διάγνωση ήταν σημαντικά μειωμένα στους ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες [3.87 (0.60-35.80) ng/ml έναντι 10.76 (3.76-37.43) ng/ml,  $p < 0.0001$ , Εικόνα 14].



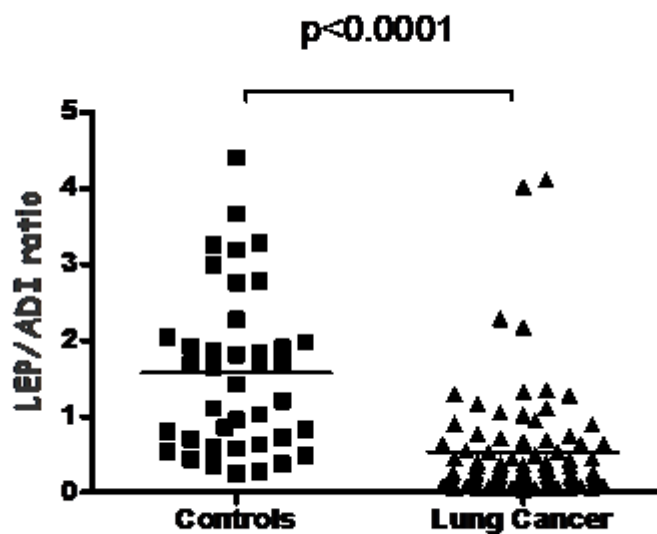
**Εικόνα 14.** Επίπεδα λεπτίνης σε υγιείς και ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα. Οι οριζόντιες γραμμές αντιστοιχούν στις διάμεσες τιμές.

Στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε και στις προ θεραπείας τιμές των επιπέδων αδιπονεκτίνης στους ασθενείς καθώς βρέθηκαν αυξημένες σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [13.65(4.50-28.90) ng/ml έναντι 9.25(1.80-22.00) ng/ml,  $p = 0.0003$ , Εικόνα 15].



**Εικόνα 15.** Επίπεδα αδιπονεκτίνης σε υγιείς και ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα. Οι οριζόντιες γραμμές αντιστοιχούν στις διάμεσες τιμές.

Επιπρόσθετα, αξιολογήθηκε ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στις δύο ομάδες και βρέθηκε στατιστικώς σημαντικά μειωμένος στην ομάδα των ασθενών [0.27 (0.05-4.12) έναντι 1.54 (0.25-4.41),  $p < 0.0001$ , Εικόνα 16].



**Εικόνα 16.** Λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης σε υγιείς και ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα. Οι οριζόντιες γραμμές αντιστοιχούν στις διάμεσες τιμές.

### **5.1.1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ**

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων υπεβλήθησαν σε περαιτέρω ανάλυση με σκοπό την αξιολόγηση πιθανών συσχετίσεων με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών και τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα αυτών απεικονίζονται στον Πίνακα 4.

Σύμφωνα την στατιστική ανάλυση των δεδομένων, δεν ανευρέθηκε συσχέτιση της λεπτίνης, της αδιπονεκτίνης και του λόγου τους με την ηλικία και το BMI των ασθενών, αλλά ούτε και με την κλινική κατάσταση (PS ECOG), την απώλεια βάρους, τον ιστολογικό τύπο, το στάδιο της νόσου και με την TNM κατάταξη.

Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα των αδιποκινών και στο λόγο τους κατά τη διάγνωση μεταξύ των ασθενών που ανταποκρίθηκαν ( $n=21$ ) και αυτών που δεν ανταποκρίθηκαν ( $n=24$ ) στη θεραπεία (λεπτίνη  $p=0.68$ , αδιπονεκτίνη  $p=0.95$ , λεπτίνη/αδιπονεκτίνη  $p=0.62$ ). Τέλος, η logistic regression ανάλυση δεν ανέδειξε συσχετίσεις των προ-θεραπείας επιπέδων των αδιποκινών με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

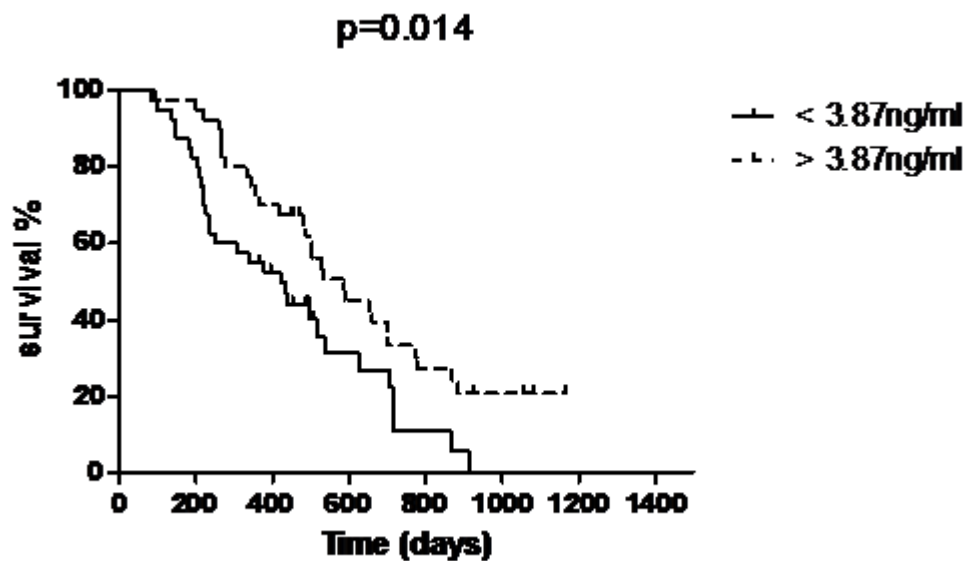
**Πίνακας 4.** Επίπεδα αδικοκινών σε σχέση με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ασθενών με καρκίνο πνεύμονα.

Χαρακτηριστικά ασθενών	N	Leptin		Adiponectin		Leptin/ Adiponectin ratio		
		Median	p	Median	p	Median	p	
<b>Ηλικία</b>	<b>≤65</b>	48	3.30 (0.60-35.80)	0.570	13.65 (4.50-24.30)	0.920	0.26 (0.04-4.02)	0.480
	<b>&gt;65</b>	32	4.60 (0.80-26.75)		13.69 (6.50-28.90)		0.34 (0.05-4.12)	
<b>Απώλεια βάρους</b>	<b>≤5%</b>	63	3.80 (0.60-35.80)	0.390	14.57 (4.50-28.90)	0.650	0.26 (0.04-4.12)	0.330
	<b>&gt;5%</b>	17	5.90 (1.00-27.27)		12.10 (4.50-21.40)		0.45 (0.05-2.29)	
<b>ECOG-PS</b>	<b>0</b>	60	3.87 (0.60-35.80)	0.960	14.39 (4.50-28.90)	0.108	0.27 (0.05-4.02)	0.660
	<b>1</b>	20	3.82 (0.80-26.75)		12.55 (4.50-19.20)		0.32 (0.04-4.12)	
<b>Ιστολογικός τύπος</b>	<b>ΑδενοCa</b>	25	5.40 (1.00-23.40)		12.10 (4.50-28.90)	0.778	0.39 (0.05-2.18)	0.300
	<b>Πλακώδες</b>	30	2.11 (0.60-35.80)	0.350	13.65 (4.50-22.60)		0.18 (0.05-4.12)	
	<b>ΜΚΠ</b>	19	4.09 (0.80-14.10)		12.50 (7.10-17.90)		0.39 (0.04-1.28)	
<b>T</b>	<b>T1-2</b>	42	3.78 (0.80-35.80)	0.690	14.05 (4.50-24.30)	0.460	0.26 (0.05-4.02)	0.850
	<b>T3-4</b>	38	4.01 (0.60-27.27)		13.40 (4.50-28.90)		0.31 (0.04-4.12)	

<b>N</b>	<b>N0-1</b>	50	3.02 (0.60-35.80)	0.720	13.65 (4.50-24.30)	0.791	0.25 (0.05-4.12)	0.95
	<b>N2-3</b>	30	4.88 (0.80-27.27)		13.99 (4.50-28.90)		0.34 (0.04-2.29)	
<b>M</b>	<b>M0</b>	51	4.09 (0.60-35.80)	0.390	14.57 (4.5-24.30)	0.880	0.30 (0.05-4.02)	0.390
	<b>M1</b>	29	3.82 (0.80-26.75)		12.80 (4.50-28.90)		0.22 (0.04-4.12)	
<b>Στάδιο</b>	<b>I</b>	11	6.40 (0.80-35.80)		14.20 (4.50-24.30)		0.37 (0.15-4.02)	
	<b>II</b>	14	2.90 (1.12-23.40)	0.570	14.59 (7.10-17.90)	0.860	0.26 (0.14-1.33)	0.610
	<b>III</b>	26	5.17 (0.60-27.27)		13.99 (9.10-28.90)		0.34 (0.05-2.29)	
	<b>IV</b>	29	3.82 (0.80-26.75)		12.80 (4.50-28.90)		0.22 (0.04-4.12)	

### 5.1.2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΔΙΠΟΚΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Σύμφωνα με την μονοπαραγοντική ανάλυση (Univariate Cox regression analysis), μόνο τα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό συσχετίστηκαν σημαντικά με τη συνολική επιβίωση των ασθενών με καρκίνο πνεύμονα. Η ομάδα των ασθενών χωρίστηκε σε δύο υποομάδες όσον αφορά στην επιβίωσή τους, με βάση τη διάμεση τιμή 3.87 ng/ml του επιπέδου λεπτίνης στον ορό. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με επίπεδα λεπτίνης ορού μικρότερα της προαναφερθείσας διάμεσης τιμής φάνηκε ότι συνοδεύονταν και από μικρότερη διάμεση επιβίωση σε σχέση με τους ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης (422 ημέρες έναντι 587 ημέρες,  $p=0.014$  Log Rank Test, Εικόνα 17).



**Εικόνα 17.** Επίπεδα λεπτίνης ασθενών σε σχέση με την επιβίωσή τους.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα που εξαχθήκαν από τα πολυπαραγοντικά πρότυπα μελέτης (multiple logistic regression models) μετά από προσαρμογή για γνωστούς προγνωστικούς παράγοντες (ηλικία, απώλεια βάρους, ECOG PS, ιστολογικός τύπος και στάδιο νόσου) ανέδειξαν τα επίπεδα λεπτίνης του ορού ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα ( $p=0.024$ , HR 0.452 CI 95% 0.232-0.899).

Επίσης, τόσο η απώλεια βάρους και το στάδιο της νόσου αποδείχθηκαν ως επιπρόσθετοι ανεξάρτητοι παράγοντες για τη συνολική επιβίωση των ασθενών της μελέτης με καρκίνο του πνεύμονα (απώλεια βάρους:  $p=0.035$ , HR 2.357 CI 95% 1.067-5.208, στάδιο:  $p=0.035$  HR 1.536 CI 95% 1.031-2.287).

Από την άλλη πλευρά, η ανάλυση των τιμών της αδιπονεκτίνης δεν έδειξε κάποια συσχέτιση με τη συνολική επιβίωση των ασθενών ( $p=0.09$ ).



Τέλος, παρατηρήθηκε μια τάση για καλύτερη επιβίωση στους ασθενείς με τιμές του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης υψηλότερες από 0.27 αλλά η διαφορά δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική ( $p=0.079$ , Log Rank Test).

## **5.2 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ**

### **5.2.1 ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ**

Η μεταγραφική έκφραση και των δύο υποδοχέων της λεπτίνης ανιχνεύτηκε και στις 9 καρκινικές σειρές που μελετήθηκαν (CALU-1, CALU-6, GILI, ONET, NCIH596 NCIH460, NCIH661, NCIH441, SK-LU-1).

### **5.2.2 ΣΕ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ**

Η έκφραση και των δύο υποδοχέων της λεπτίνης (OBRL, OBRS) ανιχνεύτηκαν σε όλα δείγματα τόσο του καρκινικού ιστού όσο και του παρακείμενου μη προσβεβλημένου ιστού (Πίνακας 5). Σε όλες τις περιπτώσεις η σχετική μεταγραφική έκφραση τόσο του OBRL (Εικόνα 18) όσο και του OBRS (Εικόνα 19) στον καρκινικό ιστό ήταν χαμηλότερη από ότι στον αυτόλογο παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό.

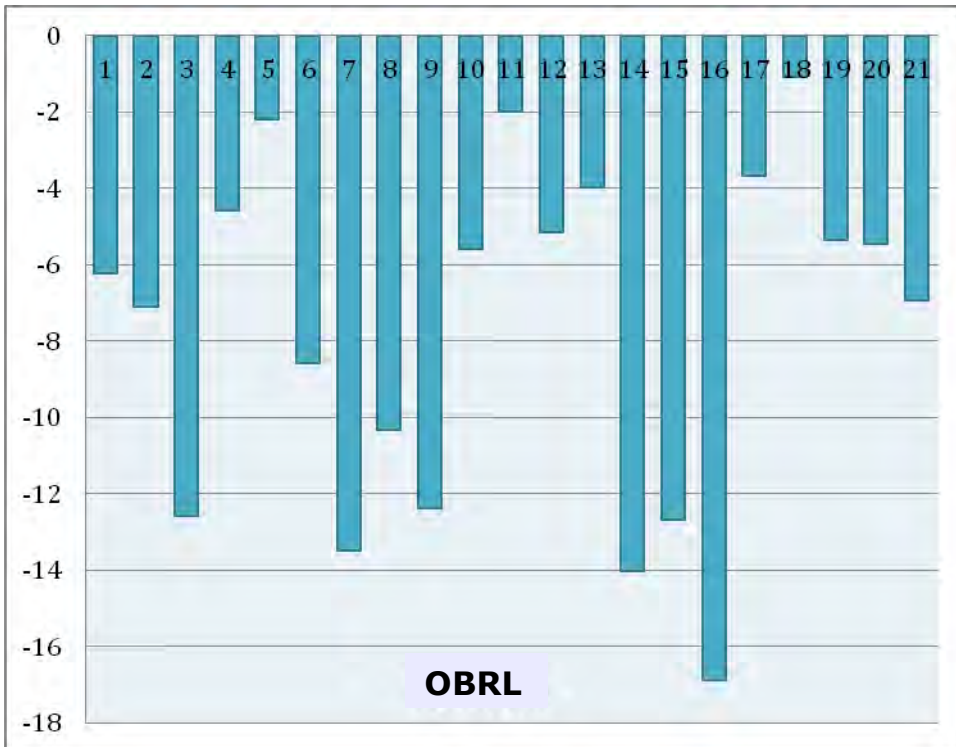
Για τον υποδοχέα OBRL η σχετική έκφραση στον καρκινικό ιστό ήταν κατά 6 φορές μικρότερη έναντι του παρακείμενου μη προσβεβλημένου ιστού [-6.23 (-16.88, -1.07)] ενώ για τον υποδοχέα OBRS ήταν κατά 7 φορές μικρότερη [-6.75 (-29.59, -1.79)].

Έγινε συσχέτιση της έκφρασης των δύο υποδοχέων της λεπτίνης με διάφορες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους όπως την ηλικία, το φύλο, την καπνιστική συνήθεια, το pT, το pN, το pstage (σύμφωνα με την σταδιοποίηση

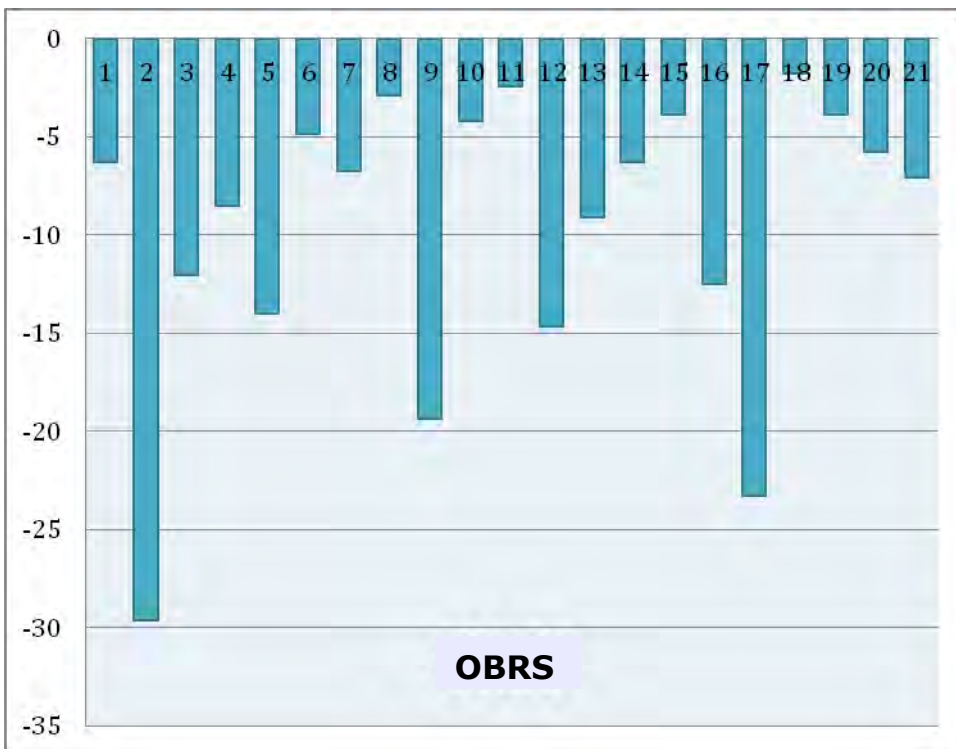
TNM), το βαθμός διαφοροποίησης και τον ιστολογικό τύπο καθώς και την επιβίωση των ασθενών χωρίς να βρεθεί κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά.

**Πίνακας 5.** Χαρακτηριστικά ασθενών και η σχετική έκφραση των υποδοχέων λεπτίνης  
ΑΔ: Αδενοκαρκίνωμα ΠΛ:Πλακώδες καρκίνος

<b>Ασθενείς</b>	<b>Ηλικία</b>	<b>Τύπος</b>	<b>ORBL</b>	<b>ORBS</b>
<b>1</b>	56	ΑΔ	-6,23	-6,29
<b>2</b>	65	ΑΔ	-7,11	-29,59
<b>3</b>	48	ΑΔ	-12,59	-12,00
<b>4</b>	55	ΑΔ	-4,58	-8,52
<b>5</b>	60	ΑΔ	-2,19	-13,97
<b>6</b>	65	ΑΔ	-8,56	-4,82
<b>7</b>	74	ΑΔ	-13,48	-6,75
<b>8</b>	48	ΑΔ	-10,32	-2,87
<b>9</b>	71	ΑΔ	-12,38	-19,36
<b>10</b>	61	ΠΚ	-5,58	-4,21
<b>11</b>	67	ΠΚ	-1,97	-2,45
<b>12</b>	79	ΠΚ	-5,15	-14,67
<b>13</b>	79	ΠΚ	-3,97	-9,09
<b>14</b>	62	ΠΚ	-14,02	-6,27
<b>15</b>	59	ΠΚ	-12,67	-3,88
<b>16</b>	58	ΠΚ	-16,88	-12,51
<b>17</b>	76	ΠΚ	-3,67	-23,26
<b>18</b>	40	ΠΚ	-1,07	-1,79
<b>19</b>	75	ΑΔ	-5,35	-3,87
<b>20</b>	74	ΑΔ	-5,45	-5,72
<b>21</b>	59	ΑΔ	-6,92	-7,03



**Εικόνα 18.** Κάθε στήλη απεικονίζει την έκφραση του υποδοχέα OBRL για τον εκάστοτε ασθενή.



**Εικόνα 19.** Κάθε στήλη απεικονίζει την έκφραση του υποδοχέα OBRS για τον εκάστοτε ασθενή.

## **6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η πιθανή διαγνωστική και προγνωστική αξία της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα. Οι μετρήσεις ανέδειξαν διαφορές στα επίπεδα της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης στον ορό ασθενών με καρκίνο πνεύμονα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, η δε λεπτίνη βρέθηκε σε μικρότερες, ενώ η αδιπονεκτίνη σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στον ορό των ασθενών. Επιπρόσθετα, τα χαμηλά επίπεδα λεπτίνης σχετίστηκαν με χειρότερη πρόγνωση ενώ αναδείχθηκε η πιθανή ανεξάρτητη προγνωστική αξία της για την επιβίωση των ασθενών με καρκίνο πνεύμονα. Τα επίπεδα των αδιποκινών δε συσχετίστηκαν με κάποια από τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους, γεγονός συμβαδίζει με τα ευρήματα της πλειονότητας των λοιπών μελετών. Οι μόνες συσχετίσεις που έχουν αναφερθεί στον καρκίνο του πνεύμονα είναι των υψηλών επιπέδων λεπτίνης με το γυναικείο φύλο και το αυξημένο BMI, των υψηλών επιπέδων αδιπονεκτίνης με την προχωρημένη ηλικία [82] και των χαμηλών επιπέδων της αδιπονεκτίνης με το προχωρημένο στάδιο [139]. Επίσης, αναφέρεται συσχέτιση της απώλειας βάρους με τα χαμηλά επίπεδα λεπτίνης [78].

Αναγνωρίστηκαν μειωμένα κυκλοφορούντα επίπεδα λεπτίνης στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Τα μέχρι σήμερα ευρήματα των αντίστοιχων μελετών φαίνεται να είναι αντικρουόμενα. Δύο από τις μελέτες δε βρήκαν συσχέτιση των επιπέδων της λεπτίνης με τον καρκίνο του πνεύμονα [82, 83]. Συγκεκριμένα, οι Καραπαναγιώτου και συνεργάτες [82] παρότι περιέλαβαν ικανό αριθμό ασθενών, ήταν μόνο ασθενείς προχωρημένου σταδίου ΜΜΚΠ και μάλιστα μεγαλύτερης ηλικίας, κυρίως άντρες και με χαμηλότερο BMI από τους υγιείς (101). Η ετερογένεια αυτή των δύο υπό εξέταση ομάδων ίσως να έπαιξε ρόλο και στην απουσία στατιστικώς σημαντικών αποτελεσμάτων στην

εν λόγω μελέτη. Στη μελέτη των Τερζίδη και συνεργατών [83], παρότι οι δυο ομάδες ήταν εναρμονισμένες σε σχέση με το φύλο και την ηλικία, εν τούτοις και εκεί οι ασθενείς παρουσίαζαν χαμηλότερο BMI, απώλεια βάρους το τελευταίο δίμηνο και η πλειονότητά τους ήταν προχωρημένου σταδίου (57 από τους 66 σταδίου IIIβ και IV). Οι υπόλοιπες τρεις από τις έξι μελέτες συμφωνούν με τα ευρήματά μας και αναφέρουν χαμηλότερα επίπεδα της ορμόνης στην ομάδα των ασθενών [78, 79, 80]. Αντιθέτως, υπάρχει μια μελέτη σε μικρό αριθμό ασθενών (20 ασθενείς) στην οποία διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα λεπτίνης σε ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα [81]. Αν και η μελέτη αυτή, όπως αναφέρθηκε και αρχικά, αξιολόγησε ευρέως τα επίπεδα της λεπτίνης σε διάφορα βιολογικά υλικά (αίμα, βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, ούρα κ.α.), εν τούτοις αδυνατεί να πείσει για τη βαρύτητα των ευρημάτων της. Οι ερευνητές υποστήριξαν ότι ήταν αναμενόμενο οι προηγούμενες από αυτή μελέτες να αναφέρουν χαμηλές τιμές λεπτίνης γιατί οι μετρήσεις έγιναν σε ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ και μειωμένο BMI. Όμως, στη μελέτη αυτή της Carpagano δεν αναφέρεται να έχει γίνει έλεγχος των ασθενών που συμπεριελήφθησαν ως προς το BMI τους. Από την άλλη πλευρά, σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσας μελέτης, δε βρέθηκε συσχέτιση του BMI των ασθενών ούτε με το στάδιο της νόσου αλλά ούτε και με τα επίπεδα των αδιποκινών που μετρήθηκαν. Μάλιστα, επί της ουσίας καμία μελέτη μέχρι στιγμής δεν έχει βρει συσχέτιση των επιπέδων της λεπτίνης με το BMI ασθενών που πάσχουν από καρκίνο του πνεύμονα και δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί αν το BMI συσχετίζεται με τη νόσο. Επιπρόσθετα, υπάρχει αντιστοιχία των τιμών BMI στις δύο υπό εξέταση ομάδες μας (ασθενείς και υγιείς) και οι ασθενείς ήταν εξίσου κατανεμημένοι ως προς το στάδιο της νόσου, δηλαδή υπήρχε ικανός αριθμός ασθενών πρώιμου και προχωρημένου

σταδίου. Οπότε, θα μπορούσε να ειπωθεί, ότι αποδυναμώνεται η θεώρηση ότι χαμηλές τιμές λεπτίνης αποδίδονται σε ασθενείς με χαμηλό BMI και προχωρημένο στάδιο ΜΜΚΠ.

Επίσης, ένα ενδιαφέρον εύρημα της παρούσας μελέτης ήταν η αναγνώριση ότι τα επίπεδα της λεπτίνης φάνηκαν να σχετίζονται με τη συνολική επιβίωση των ασθενών με καρκίνο πνεύμονα. Συγκεκριμένα, χαμηλά επίπεδα λεπτίνης κατά τη διάγνωση συνδυάζονταν με μικρότερη επιβίωση. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα μιας ακόμη μελέτης στον καρκίνο του πνεύμονα, στην οποία επίσης οι ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης εμφάνιζαν μικρότερη επιβίωση [78].

Επιπρόσθετα, η περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων μας, ανέδειξε τη λεπτίνη του ορού ως πιθανό ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για τους πάσχοντες από καρκίνο πνεύμονα. Το εύρημα αυτό είναι ιδιαίτερης βαρύτητας ως προς την προσαρμογή της θεραπευτικής προσέγγισης ανάλογα με την πρόγνωση του εκάστοτε ασθενή. Για το λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη της λεπτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα ώστε να διευκρινιστεί η κλινική της σημασία σχετικά με την πρόγνωση στους ασθενείς αυτούς. Η επιβεβαίωση της προγνωστικής αξίας της λεπτίνης θα άνοιγε νέες προοπτικές για την αποτελεσματικότερη σχεδίαση του θεραπευτικού πλάνου. Ασθενείς με πτωχή πρόγνωση θα μπορούσαν να υποβληθούν σε επιθετικότερο θεραπευτικό σχήμα ώστε να αποφεύγεται η αποτυχία της καθιερωμένης προσέγγισης.

Σε μία προσπάθεια να εξηγηθεί ο πιθανός ρόλος της λεπτίνης στην ανάπτυξη και την πρόοδο του καρκίνου του πνεύμονα, οδηγηθήκαμε στην υπόθεση ότι η αλληλεπίδραση λεπτίνης-καρκίνου πνεύμονα πιθανότατα διέρχεται από διάφορες φάσεις. Παρότι δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ

λεπτίνης και σταδίου νόσου, ενδέχεται στα αρχικά στάδια της νόσου η λεπτίνη να διαδραματίζει ρόλο αντιφλεγμονώδους παράγοντα. Αντιθέτως, στην εγκατεστημένη νεοπλασματική νόσο πιθανόν να εμπλέκεται στην εξέλιξη του όγκου μέσω της διαδικασίας του οξειδωτικού στρες [144], ρυθμίζοντας τη νεοαγγειογένεση [55] ή μέσω της καταστολής της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων [59]. Επίσης, τα χαμηλά κυκλοφορούντα επίπεδα της λεπτίνης στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα θα μπορούσαν να αποδοθούν σε πιθανή σύνδεση της πρωτεΐνης με τους υποδοχείς της στην περιοχή του όγκου. Στην ίδια φιλοσοφία υπάγονται και τα ευρήματα από μια μελέτη που συμπεριέλαβε δείγματα από βιοψίες πασχόντων από καρκίνο εντέρου κατά την οποία παρατηρήθηκε σταδιακή έκφραση της λεπτίνης στην ακολουθία ιστού από υγιή-αδένωμα-αδενοκαρκίνωμα εντέρου. Έτσι η έκφραση της λεπτίνης φάνηκε να ακολουθεί την εξέλιξη της καρκινογένεσης στον εντερικό ιστό.

Παρά το γεγονός ότι δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί ο ρόλος της λεπτίνης στο μοριακό μηχανισμό της καρκινογένεσης, αρκετές είναι οι μελέτες που έχουν προσπαθήσει να εντοπίσουν πιθανή συσχέτιση της έκφρασης της ορμόνης ή/και των υποδοχέων της με την κλινική έκβαση ασθενών που πάσχουν από διάφορους τύπους νεοπλασμάτων. Ήδη κάποιες δημοσιευμένες μελέτες αναγνωρίζουν την έκφραση των υποδοχέων της λεπτίνης ως προγνωστικό παράγοντα της ελεύθερης νόσου επιβίωσης ασθενών με καρκίνο εντέρου [86] και καρκίνο του μαστού [69] και της συνολικής επιβίωσης στο χαμηλής διαφοροποίησης αδενοκαρκίνωμα στομάχου [145] και στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο [66]. Ως εκ τούτου η ανίχνευση όχι μόνο των κυκλοφορούντων επιπέδων αλλά και της έκφρασης των υποδοχέων της λεπτίνης ενδεχομένως να προσφέρει μία νέα οπτική όσον αφορά στο ρόλο της στην ανάπτυξη και του καρκίνου του πνεύμονα.

Στο πλαίσιο αυτό η παρούσα μελέτη επιχείρησε να ανιχνεύσει πιθανή συσχέτιση της έκφρασης των υποδοχέων της λεπτίνης σε ιστό από ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα που υποβλήθηκαν σε χειρουργείο για τη νόσο τους. Από τη μελέτη της έκφρασης των υποδοχέων της λεπτίνης βρέθηκε ότι οι υποδοχείς εκφράζονται τόσο στις καρκινικές κυτταρικές σειρές όσο και στον καρκινικό ιστό αλλά και στον παρακείμενο μη προσβεβλημένο πνευμονικό ιστό. Η έκφραση μάλιστα των υποδοχέων της λεπτίνης ήταν μικρότερη στον καρκινικό ιστό σε σχέση με τον αυτόλογο παρακείμενο μη προσβεβλημένο ιστό. Το γεγονός αυτό εστιάζει το ενδιαφέρον στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Όπως γνωρίζουμε από τη φυσιολογία της λεπτίνης, η αδιποκίνη αυτή δρα μέσω των υποδοχέων της και επιφέρει τις όποιες επιδράσεις της στους ιστούς στους οποίους αυτοί εκφράζονται, μέσω της σύνδεσής της με τους υποδοχείς της. Πιθανότατα η λεπτίνη να παίζει ρόλο στην καρκινογένεση του πνεύμονα δρώντας κυρίως στο μικροπεριβάλλον του όγκου και όχι στον ίδιο τον όγκο, με συνέπεια να ανιχνεύονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση οι υποδοχείς της στον παρακείμενο ιστό, ή ακόμα ενδέχεται οι υποδοχείς στον καρκινικό ιστό να είναι κυρίως μεταλλαγμένοι και επομένως να μην ανιχνεύονται. Παρότι η αρχική μας υπόθεση στηριζόταν στη θεώρηση ότι οι υποδοχείς της λεπτίνης θα ανιχνεύονταν σε μεγαλύτερο βαθμό στον καρκινικό ιστό, εν τούτοις η ιδέα να δρα η λεπτίνη κυρίως στο μικροπεριβάλλον του όγκου είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα. Κι αυτό γιατί είναι ήδη γνωστό ότι η λεπτίνη έχει τη δυνατότητα να δρα αυτοκρινώς, ενδοκρινώς αλλά και παρακρινώς στα πλαίσια μιας φλεγμονής όπως αναλύθηκε στο γενικό μέρος. Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι μια ακόμα μελέτη που ασχολήθηκε με την ανίχνευση των υποδοχέων της λεπτίνης σε ασθενείς με ΜΜΚΠ κατέληξε σε αντίθετα από εμάς αποτελέσματα [85]. Ο μόνος αντίλογος στην περίπτωση αυτή είναι ως προς τις διαφορετικές



μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν. Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε η μεταγραφική έκφραση των υποδοχέων OBRb και OBRI ενώ ο Χu και οι συνεργάτες του ανίχνευσαν τον υποδοχέα OBRb ανοσοϊστοχημικά. Όπου και να βρίσκεται η επιστημονική αλήθεια επί του θέματος, το βέβαιο είναι ότι η διευκρίνιση του μοριακού προφίλ του καρκίνου του πνεύμονα χρήζει εκτενέστερης μελέτης με μεγάλο αριθμό δειγμάτων ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για το ρόλο της λεπτίνης και των υποδοχέων της.

Σχετικά με την αδιπονεκτίνη, στη μελέτη μας οι ασθενείς παρουσίαζαν υψηλότερα κυκλοφορούντα επίπεδα της ορμόνης. Οι βιβλιογραφικές αναφορές παραπέμπουν σε μελέτες που αφορούν κυρίως τη σχέση της με παθήσεις και νεοπλάσματα που συνδέονται με την παχυσαρκία. Τα μέχρι τώρα ευρήματα από τις λίγες μελέτες που έχουν ανακοινωθεί δεν είναι ιδιαίτερα διαφωτιστικά για την κλινική σημασία της στον καρκίνο του πνεύμονα. Παρόλα αυτά αξίζει να αναφερθεί ότι οι υποδοχείς της αδιπονεκτίνης έχουν ανιχνευθεί σε ιστό καρκίνου πνεύμονα [140], γεγονός που καθιστά ισχυρή την πιθανότητα εμπλοκής της στην καρκινογένεσή του και ενδεχομένως να περιλαμβάνει ακόμα και άμεση δραστηριότητα στην περιοχή του όγκου.

Το εύρημα της παρούσας μελέτης των αυξημένων επιπέδων της αδιπονεκτίνης στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα φαίνεται να συνάδει με την παθοφυσιολογία της ορμόνης. Πράγματι έχει φανεί ότι η αδιπονεκτίνη πιθανότατα παίζει ένα προστατευτικό ρόλο στη διαδικασία της καρκινογένεσης και λειτουργεί ανταγωνιστικά κατά κάποιο τρόπο σε σχέση με τη λεπτίνη.

Η σχέση αυτή μεταξύ λεπτίνης και αδιπονεκτίνης έχει ήδη προβληματίσει αρκετούς ερευνητές γι αυτό και κάποιοι εξ αυτών μελέτησαν παράλληλα και τις δύο αδιποκίνες. Τελευταία μάλιστα εμφανίζεται στη βιβλιογραφία ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με ενδιαφέροντα ευρήματα. Ο λόγος

λεπτίνης/αδιπονεκτίνης αποτέλεσε ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα [142] σε μια μελέτη στον καρκίνο του εντέρου ενώ σε αντίστοιχη μελέτη που αφορούσε ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου ο λόγος ήταν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου [143]. Στην παρούσα μελέτη ο λόγος των δύο αδιποκινών ήταν σημαντικά μικρότερος στην ομάδα των ασθενών και επιπλέον παρατηρήθηκε μια τάση για καλύτερη επιβίωση στους ασθενείς με υψηλότερες τιμές του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης. Τα στοιχεία αυτά ενισχύουν την άποψη ότι η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη δρουν ανταγωνιστικά στην καρκινογένεση και υπογραμμίζουν τη σημασία του λόγου τους ως πιθανό δείκτη παρακολούθησης των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα.

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Τα επίπεδα της λεπτίνης βρέθηκαν υψηλότερα ενώ της αδιπονεκτίνης χαμηλότερα στον ορό ασθενών με καρκίνο πνεύμονα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Επίσης τα χαμηλά επίπεδα της λεπτίνης συσχετίστηκαν με μικρότερη επιβίωση των ασθενών. Αναδεικνύεται η πιθανή διαγνωστική αξία των αδιποκινών καθώς και η πιθανή προγνωστική αξία της λεπτίνης στον καρκίνο του πνεύμονα.

Η ανάγκη ανάδειξης νεότερων και πιο αξιόπιστων βιοδεικτών καθίσταται απολύτως απαραίτητη για την έγκυρη διάγνωση και παρακολούθηση του καρκίνου του πνεύμονα. Η συνειδητοποίηση ότι τα θεραπευτικά μέσα έχουν φτάσει τα τελευταία χρόνια σε θεραπευτικό πλατό κάνει ακόμα πιο ανυπόμονη την επιστημονική κοινότητα για την εύρεση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Η εξατομίκευση της θεραπείας είναι πλέον στις άμεσες προτεραιότητες στον καρκίνο του πνεύμονα. Οι αδιποκίνες και ιδιαίτερα η λεπτίνη φαίνεται να τραβάει το ενδιαφέρον τόσο ως προγνωστικός όσο και ως διαγνωστικός

δείκτης. Μένει λοιπόν το μέλλον να μας καταδείξει τον ρόλο των αδιποκινών στην καρκινογένεση του πνεύμονα ενώ είναι απαραίτητες μεγάλες και προσεκτικά σχεδιασμένες μελέτες για την ανάδειξη της πιθανής διαγνωστικής και προγνωστικής αξίας τους. Δεν αποκλείεται φυσικά το ενδεχόμενο να αποτελέσουν οι αδιποκίνες και θεραπευτικό στόχο ή μέσο, κάτι που ήδη ερευνάται σε πρώιμο στάδιο.

## **7 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

---

- 1 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300.
- 2 Lung cancer statistics in Greece. Last accessed in September 2013 <http://www.oecd.org/statistics/>.
- 3 Brunelli A, Charloux A, Bolliger CT, et al. ERS/ESTS clinical guidelines on fitness for radical therapy in lung cancer patients (surgery and chemo-radiotherapy). *Eur Respir J* 2009; 34: 17-41.
- 4 Trayhurn P. The biology of obesity. *Proc Nutr Soc* 2005; 64: 31-8.
- 5 Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 22: 763-70.
- 6 Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-32.
- 7 Baratta M. Leptin—from a signal of adiposity to a hormone mediator in peripheral tissues. *Med Sci Monit* 2002; 8: RA282-92.
- 8 Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1: 1155-61.
- 9 Frederich RC, Lollmann B, Hamann A, et al. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. *J Clin Invest* 1995; 96: 1658-63.
- 10 Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 382: 250-2.

- 
- 11 Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3419–23.
- 12 Ostlund RE Jr, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3909-13.
- 13 Casabiell X, Pineiro V, Peino R, et al. Gender differences in both spontaneous and stimulated leptin secretion by human omental adipose tissue in vitro: Dexamethasone and estradiol stimulate leptin release in women, but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2149–55.
- 14 Castracane VD, Kraemer RR, Franken MA, Kraemer GR, Gimpel T. Serum leptin concentration in women: Effect of age, obesity, and estrogen administration. *Fertil Steril* 1998;70:472–7.
- 15 Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: Dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2904–10.
- 16 Jockenhovel F, Blum WF, Vogel E, et al. Testosterone substitution normalizes elevated serum leptin levels in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2510–3.
- 17 Cusin I, Sainsbury A, Doyle P, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. The ob gene and insulin. A relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes* 1995;44:1467–70.
- 18 Zhang HH, Kumar S, Barnett AH, Eggo MC. Tumour necrosis factor- $\alpha$  exerts dual effects on human adipose leptin synthesis and release. *Mol Cell Endocrinol* 2000;159:79–88.

- 
- 19 De Vos P, Saladin R, Auwerx J, Staels B. Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. *J Biol Chem* 1995; 270: 15958–61.
- 20 Fain JN, Leffler CW, Bahouth SW. Eicosanoids as endogenous regulators of leptin release and lipolysis by mouse adipose tissue in primary culture. *J Lipid Res* 2000; 41: 1689–94.
- 21 Vernooij JH, Drummen NE, van Suylen RJ, et al. Enhanced pulmonary leptin expression in patients with severe COPD and asymptomatic smokers. *Thorax* 2009; 64: 26–32.
- 22 Webber J. Energy balance in obesity. *Proc Nutr Soc* 2003; 62: 539–43.
- 23 Huang L, Li C. Leptin: A multifunctional hormone. *Cell Res* 2000; 10: 81–92.
- 24 Funahashi H, Yada T, Suzuki R, Shioda S. Distribution, function, and properties of leptin receptors in the brain. *Int Rev Cytol* 2003; 224: 1–27.
- 25 Rosicka M, Krsek M, Matoulek M, et al. Serum ghrelin levels in obese patients: the relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptor levels. *Physiol Res* 2003; 52: 61–6.
- 26 Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, et al. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA* 1999; 282: 1568–75.
- 27 Bjorbaek C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59: 305–31.
- 28 Correia ML, Haynes WG. Obesity-related hypertension: Is there a role for selective leptin resistance? *Curr Hypertens Rep* 2004; 6: 230–35.
- 29 Chagnon YC, Rankinen T, Snyder EE, Weisnagel SJ, Perusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: The 2002 update. *Obes Res* 2003; 11: 313–67.

- 
- 30 El-Haschimi K, Pierroz DD, Hileman SM, Bjorback C, Flier JS. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Clin Invest* 2000; 105: 1827–32.
- 31 Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 1407–33.
- 32 Veniant MM, LeBel CP. Leptin: from animals to humans. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 811–8.
- 33 Matarese G, Moschos S, Mantzoros CS. Leptin in immunology. *J Immunol* 2005; 174: 3137–42.
- 34 Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 772–83.
- 35 La Cava A, Alviggi C, Matarese G. Unraveling the multiple roles of leptin in inflammation and autoimmunity. *J Mol Med* 2004; 82: 4–11.
- 36 Otero M, Lago R, Lago F, et al. Leptin, from fat to inflammation: old questions and new insights. *FEBS Lett* 2005; 579: 295–301.
- 37 Cao GY, Considine RV, Lynn RB. Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat. *Am J Physiol* 1997; 273: 448–52.
- 38 Dunbar JC, Hu Y, Lu H. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. *Diabetes* 1997; 46: 2040–43.
- 39 Fruhbeck G. Peripheral actions of leptin and its involvement in disease. *Nutr Rev* 2002; 60: 47–55.
- 40 Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, Kolb N, Pfeilschifter J. Leptin enhances wound re-epithelialization and constitutes a direct function of leptin in skin repair. *J Clin Invest* 2000; 106: 501–9.

- 
- 41 Gordeladze JO, Reseland JE. A unified model for the action of leptin on bone turnover. *J Cell Biochem* 2003; 88: 706-12.
- 42 Keisler DH, Daniel JA, Morrison CD. The role of leptin in nutritional status and reproductive function. *J Reprod Fertil Suppl* 1999; 54: 425-35.
- 43 Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 83: 1263-71.
- 44 Wallace AM. Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 244-52.
- 45 Otero M, Lago R, Gomez R, et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology* (Oxford) 2006; 45: 944-50.
- 46 Tsiotra PC, Pappa V, Raphis SA, Tsigos C. Expression of the long and short leptin receptor isoforms in peripheral blood mononuclear cells: implications for leptin's actions. *Metabolism* 2000; 49: 1537-41.
- 47 Trayhurn P, Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV. Leptin: fundamental aspects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 22-8.
- 48 Garofalo C, Surmacz E. Leptin and cancer. *J Cell Physiol* 2006; 207: 12-22.
- 49 Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyckerman S, Vandekerckhove J, Tavernier J. The ins and outs of leptin receptor activation. *FEBS Lett* 2003; 546: 45-50.
- 50 Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science* 1996; 274: 1185-8.
- 51 Vona-Davis L and Rose DP. Adipokines as endocrine, paracrine, and autocrine factors in breast cancer risk and progression. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14: 189-206.



- 
- 52 Ambrosini G, Nath AK, Sierra-Honigmann MR, Flores-Riveros J. Transcriptional activation of the human leptin gene in response to hypoxia. Involvement of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 2002; 277: 34601–9.
- 53 Grosfeld A, Andre J, Hauguel-De Mouzon S, Berra E, Pouyssegur J, Guerremillo M. Hypoxia-inducible factor 1 transactivates the human leptin gene promoter. *J Biol Chem* 2002; 277: 42953–7.
- 54 Stenmark KR, Gerasimovskaya E, Nemenoff RA, Das M. Hypoxic activation of adventitial fibroblasts: Role in vascular remodeling. *Chest* 2002; 122(6 Suppl): 326–34.
- 55 Bouloumie A, Drexler HC, Lafontan M, Busse R. Leptin, the product of Ob gene, promotes angiogenesis. *Circ Res* 1998; 83: 1059–66.
- 56 Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, et al.. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683–6.
- 57 Park HY, Kwon HM, Lim HJ, et al. Potential role of leptin in angiogenesis: Leptin induces endothelial cell proliferation and expression of matrix metalloproteinases in vivo and in vitro. *Exp Mol Med* 2001; 33: 95–102.
- 58 Kume K, Satomura K, Nishisho S, et al. Potential role of leptin in endochondral ossification. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 159–69.
- 59 Artwohl M, Roden M, Holzenbein T, Freudenthaler A, Waldhausl W, Baumgartner-Parzer SM. Modulation by leptin of proliferation and apoptosis in vascular endothelial cells. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 577–80.
- 60 Oda A, Taniguchi T, Yokoyama M. Leptin stimulates rat aortic smooth muscle cell proliferation and migration. *Kobe J Med Sci* 2001; 47: 141–50.
- 61 Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2001; 121: 79–90.

- 
- 62 Liu Z, Uesaka T, Watanabe H, Kato N. High fat diet enhances colonic cell proliferation and carcinogenesis in rats by elevating serum leptin. *Int J Oncol* 2001; 19: 1009–14.
- 63 Dieudonne MN, Machinal-Quelin F, Serazin-Leroy V, Leneveu MC, Pecquery R, Giudicelli Y. Leptin mediates a proliferative response in human MCF7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 622–8.
- 64 Laud K, Gourdou I, Pessemesse L, Peyrat JP, Djiane J. Identification of leptin receptors in human breast cancer: Functional activity in the T47-D breast cancer cell line. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 188: 219–26.
- 65 Cascio S, Bartella V, Auriemma A, et al. Mechanism of leptin expression in breast cancer cells: role of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Oncogene* 2008; 27: 540–7.
- 66 Wang SN, Yeh YT, Yang SF, Chai CY, Lee KT. Potential role of leptin expression in hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol* 2006; 59: 930–4.
- 67 Garofalo C, Koda M, Cascio S, et al. Increased expression of leptin and the leptin receptor as a marker of breast cancer progression: possible role of obesity-related stimuli. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1447-53.
- 68 Ishikawa M, Kitayama J, Nagawa H. Enhanced expression of leptin and leptin receptor (OB-R) in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4325-31.
- 69 Revillion F, Charlier M, Lhotellier V, et al. Messenger RNA expression of leptin and leptin receptors and their prognostic value in 322 human primary breast cancers. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2088-94.
- 70 Stattin P, Soderberg S, Hallmans G, et al. Leptin is associated with increased prostate cancer risk: A nested case-referent study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1341-5.

- 
- 71 Chang S, Hursting SD, Contois JH, et al. Leptin and prostate cancer. *Prostate* 2001; 46: 62-7.
- 72 Somasundar P, Yu A, Vona-Davis L, McFadden DW. Differential responses of leptin on cancer in vitro. *J Surg Res* 2002; 113: 50-5.
- 73 Bolukbas FF, Kilic H, Bolukbas C, et al. Serum leptin concentration and advanced gastrointestinal cancers: a case controlled study. *BMC Cancer* 2004; 4: 29.
- 74 Arpaci F, Yilmaz MI, Ozet A, et al. Low serum leptin level in colon cancer patients without significant weight loss. *Tumori* 2002; 88: 147-9.
- 75 Stattin P, Palmqvist R, Soderberg S, et al. Plasma leptin and colorectal cancer risk: A prospective study in Northern Sweden. *Oncol Rep* 2003; 10: 2015-21.
- 76 Tessitore L, Vizio B, Jenkins O, et al. Leptin expression in colorectal and breast cancer patients. *Int J Mol Med* 2000; 5: 421-6.
- 77 Ribeiro R, Araujo AP, Coelho A, et al. A functional polymorphism in the promoter region of leptin gene increases susceptibility for non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 1188-93.
- 78 Alemán MR, Santolaria F, Batista N, et al. Leptin role in advanced lung cancer. A mediator of the acute phase response or a marker of the status of nutrition? *Cytokine* 2002; 19: 21-6.
- 79 Jamieson NB, Brown DJ, Wallace MA, McMillan DC. Adiponectin and the systemic inflammatory response in weight-losing patients with non-small cell lung cancer. *Cytokine* 2004; 27: 90-2.
- 80 Tas F, Duranyildiz D, Argon A, et al. Serum levels of leptin and proinflammatory cytokines in advanced-stage non-small cell lung cancer. *Med Oncol* 2005; 22: 353-8.

- 
- 81 Carpagnano GE, Spanevello A, Curci C, et al. IL-2, TNF-alpha, and leptin: local versus systemic concentrations in NSCLC patients. *Oncol Res* 2007; 6: 375-81.
- 82 Karapanagiotou EM, Tsochatzis EA, Dilana KD, Tourkantonis I, Gratsias I, Syrigos KN. The significance of leptin, adiponectin, and resistin serum levels in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2008; 61: 391-7.
- 83 Terzidis A, Sergentanis TN, Antonopoulos G, et al. Elevated serum leptin levels: a risk factor for non-small-cell lung cancer? *Oncology* 2009; 76: 19-25.
- 84 Tsuchiya T, Shimizu H, Horie T, Mori M. Expression of leptin receptor in lung: leptin as a growth factor. *Eur J Pharmacol* 1999; 365: 273-9.
- 85 Xu YJ, Shao YF, Zhao X, Geng YT, Wang K, Yin YM. Expression and clinical significance of leptin, the functional receptor of leptin (OB-Rb) and HER-2 in non-small-cell lung cancer: a retrospective analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1841-8.
- 86 Aloulou N, Bastuji-Garin S, Le Gouvello S, et al. Involvement of the leptin receptor in the immune response in intestinal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 9413-22.
- 87 Miyoshi Y, Funahashi T, Tanaka S, et al. High expression of leptin receptor mRNA in breast cancer tissue predicts poor prognosis for patients with high, but not low, serum leptin levels. *Int J Cancer* 2006; 118: 1414-9.
- 88 Xia X, Gu J, Bai Q, Yu W. Overexpression of leptin and leptin receptors in breast cancer positively correlates with clinicopathological features. *Chin Med J* 2009; 122: 3078-81.
- 89 Riolfi M, Ferla R, Del Valle L, et al. Leptin and its receptor are overexpressed in brain tumors and correlate with the degree of malignancy. *Brain Pathol* 2010; 20: 481-9.

- 
- 90 Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221: 286–9.
- 91 Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, et al. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 861–8.
- 92 Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, et al. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 14478–83.
- 93 Wong GW, Wang J, Hug C, Tsao TS, Lodish HF. A family of Acrp30/adiponectin structural and functional paralogs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10302–7.
- 94 Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS. Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 858-66.
- 95 Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003; 423: 762–9.
- 96 Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26: 439–51.
- 97 Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: a novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2563–8.
- 98 Kharroubi I, Rasschaert J, Eizirik DL, Cnop M. Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 312: 1118–22.

- 
- 99 Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y, et al. Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J Biol Chem* 2004; 279: 30817–22.
- 100 Inukai K, Nakashima Y, Watanabe M, et al. Regulation of adiponectin receptor gene expression in diabetic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: 876–82.
- 101 Wolf G. Adiponectin: a regulator of energy homeostasis. *Nutr Rev* 2003; 61: 290–2. Review.
- 102 Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26: 439–51.
- 103 Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001; 7: 947–53.
- 104 Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 85–9.
- 105 Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation* 2002; 105: 2893–8.
- 106 Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2002; 106: 2767–70.
- 107 Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care* 2003; 26: 2442–50.
- 108 Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* 2003; 148: 293–300.

---

109 Qi L, Rimm E, Liu S, Rifai N, HuF B. Dietary glycemic index, glycemic load, cereal fiber, and plasma adiponectin concentration in diabetic men. *Diabetes Care* 2005; 28: 1022–8.

110 Gavrilu A, Chan JL, Yiannakouris N, et al. Serum adiponectin levels are inversely associated with overall and central fat distribution but are not directly regulated by acute fasting or leptin administration in humans: cross-sectional and interventional studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4823–31.

111 Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257: 79–83.

112 Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46: 459–69.

113 Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, et al. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes* 2002; 51: 2734–41.

114 Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1595–9.

115 Stefan N, Vozarova B, Funahashi T, et al. Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation, and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes* 2002; 51: 1884–8.

116 Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2548–56.

- 
- 117 Schulze MB, Rimm EB, Shai I, Rifai N, Hu FB. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1680–7.
- 118 Ishikawa M, Kitayama J, Yamauchi T, et al. Adiponectin inhibits the growth and peritoneal metastasis of gastric cancer through its specific membrane receptors AdipoR1 and AdipoR2. *Cancer Sci* 2007; 98: 1120–1127.
- 119 Brakenhielm E, Veitonmaki N, Cao R, et al. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 2476–2481.
- 120 Yokota T, Oritani K, Takahashi I, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 2000; 96: 1723–32.
- 121 Dieudonne MN, Bussiere M, Dos SE, Leneveu MC, Giudicelli Y, Pecquery R. Adiponectin mediates antiproliferative and apoptotic responses in human MCF7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345: 271–9.
- 122 Kang JH, Lee YY, Yu BY, et al. Adiponectin induces growth arrest and apoptosis of MDA-MB- 231 breast cancer cell. *Arch Pharm Res* 2005; 28: 1263–9.
- 123 Miyazaki T, BubJD, Uzuki M, Iwamoto Y. Adiponectin activates c-Jun NH2-terminal kinase and inhibits signal transducer and activator of transcription 3. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333: 79–87.
- 124 Mistry T, Digby JE, Chen J, Desai KM, Randeve HS. The regulation of adiponectin receptors in human prostate cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348: 832–8.



- 
- 125 Bub JD, Miyazaki T, Iwamoto Y. Adiponectin as a growth inhibitor in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340: 1158–66.
- 126 Dieudonne MN, Bussiere M, Dos Santos E, Leneveu MC, Giudicelli Y, Pecquery R. Adiponectin mediates antiproliferative and apoptotic responses in human MCF7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345: 271–9.
- 127 Takahata C, Miyoshi Y, Irahara N, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. Demonstration of adiponectin receptors 1 and 2 mRNA expression in human breast cancer cells. *Cancer Lett* 2007; 250: 229–36.
- 128 Körner A, Pazaitou-Panayiotou K, Kelesidis T, et al. Total and highmolecular-weight adiponectin in breast cancer: in vitro and in vivo studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1041–8.
- 129 Wang Y, Lam JB, Lam KS, et al. Adiponectin modulates the glycogen synthase kinase-3 $\beta$ /beta-catenin signaling pathway and attenuates mammary tumorigenesis of MDA-MB-231 cells in nude mice. *Cancer Res* 2006; 66: 11462–70.
- 130 Williams CJ, Mitsiades N, Sozopoulos E, et al. Adiponectin receptor expression is elevated in colorectal carcinomas but not in gastrointestinal stromal tumors. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 289–99.
- 131 Moon HS, Chamberland JP, Aronis K, Tseleni-Balafouta S, Mantzoros CS. Direct role of adiponectin and adiponectin receptors in endometrial cancer: in vitro and ex vivo studies in humans. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 2234–43.
- 132 Mantzoros C, Petridou E, Dessypris N, et al. Adiponectin and breast cancer risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1102–7.
- 133 Miyoshi Y, Funahashi T, Kihara S, et al. Association of serum adiponectin levels with breast cancer risk. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5699–704.

- 
- 134 Chen DC, Chung YF, Yeh YT, et al. Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. *Cancer Lett* 2006; 237: 109–14.
- 135 Dal Maso L, Augustin LS, Karalis A, et al. Circulating adiponectin and endometrial cancer risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1160–3.
- 136 Wei EK, Giovannucci E, Fuchs CS, Willett WC, Mantzoros CS. Low plasma adiponectin levels and risk of colorectal cancer in men: a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1688–94.
- 137 Michalakis K, Williams CJ, Mitsiades N, et al. Serum adiponectin concentrations and tissue expression of adiponectin are reduced in patients with prostate cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 308–13.
- 138 Avcu F, Ural AU, Yilmaz MI, Bingol N, Nevruz O, Caglar K. Association of plasma adiponectin concentrations with chronic lymphocytic leukemia and myeloproliferative diseases. *Int J Hematol* 2006; 83: 254–8.
- 139 Petridou E, Mantzoros CS, Dessypris N, Dikaloti SK, Trichopoulos D. Adiponectin in relation to childhood myeloblastic leukaemia. *Br J Cancer* 2006; 94: 156–60.
- 140 Petridou ET, Mitsiades N, Gialamas S, et al. Circulating adiponectin levels and expression of adiponectin receptors in relation to lung cancer: two case-control studies. *Oncology* 2007; 73: 261–269.
- 141 Housa D, Housova J, Vernerova Z, Haluzik M. Adipocytokines and Cancer. *Physiol Res* 2006; 55: 233–44.
- 142 Guadagni F, Roselli M, Martini F, Spila A, Rioldino S, D’Alessandro R. Prognostic Significance of Serum Adipokine Levels in Colorectal Cancer Patients. *Anticancer Research* 2009; 29: 3321–8.

---

143 Ashizawa N, Yahata T, Quan J, Adachi S, Yoshihara K, Tanaka K. Serum leptin–adiponectin ratio and endometrial cancer risk in postmenopausal female subjects. *Gynecol Oncol* 2010; 119: 65-9.

144 Ribeiro R, Araujo A, Lopes C, Medeiros R. Immunoinflammatory mechanisms in lung cancer development: is leptin a mediator? *J Thorac Oncol* 2007; 2: 105–8.

145 Zhao X, Huang K, Zhu Z, Chen S, Hu R. Correlation between expression of leptin and clinicopathological features and prognosis in patients with gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1317–21.

