

Φορέας χρηματοδότησης:

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ- ΕΠΕΑΕΚ II

«ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ- ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ ΕΡΕΥΝΑΣ του ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ»

ΜΕΤΡΟ 2.2.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΠΡΑΞΗΣ 2.2.3β

Φορέας υλοποίησης:

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ-ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**« Η ΒΙΤΑΜΙΝΗ Α ΚΑΙ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ »**

MIS 88730

Επιστημονικός Υπεύθυνος: Σταθάκης Νικόλαος

Διδάκτορας: Γερογιάννη Ειρήνη

Προϋπολογισμός έργου: 31980 ευρώ

Κωδικός Υποέργου: 51711.13



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 7852/1
Ημερ. Εισ.: 01-12-2009
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ
616.994 24
ΓΕΡ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083838

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Σταθάκης Νικόλαος

Καθηγητής Παθολογίας

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

2. Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος

Καθηγητής Πνευμονολογίας

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

3. Κυριάκου Δέσποινα

Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Μεταγγίσεων

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1. Σταθάκης Νικόλαος**
Καθηγητής Παθολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 2. Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος**
Καθηγητής Πνευμονολογίας
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 3. Κυριάκου Δέσποινα**
Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Μεταγγίσεων
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 4. Γερμενής Αναστάσιος**
Αναπληρωτής Καθηγητής Ανοσολογίας
- 5. Αποστολίδης Θεοχάρης**
Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας
- 6. Μολυβδάς Πασχάλης-Αδάμ**
Καθηγητής Φυσιολογίας
- 7. Στεφανίδης Ιωάννης**
Επίκουρος Καθηγητής Νεφρολογίας

*Στον καθηγητή μου κ. Κ.Ι.
Γουργουλιάνη με
απέραντη αγάπη,
σεβασμό, εκτίμηση και
ευγνωμοσύνη*

Στο σύζυγο μου και στα

δύο μου παιδιά

Στους γονείς μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Έχοντας τελειώσει την ειδικότητα μου σε μη Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική πίστευα πως η εκπόνηση κάποιας διδακτορικής διατριβής ήταν όνειρο άπιαστο για μένα. Έτσι ξεκινώντας τη συγγραφή της διδακτορικής μου διατριβής θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κ. Κ.Ι.Γουργουλιάνη για την ευκαιρία που μου έδωσε για την εκπόνηση αυτής διατριβής. Θέλω όμως να τον ευχαριστήσω περισσότερο για αυτά που μου δίδαξε και με βοήθησαν να αλλάξω τρόπο σκέψης. Πάντα πίστευα πως έπρεπε να δουλεύω σκληρά μόνο επειδή έτσι έπρεπε. Μαζί του έμαθα πως η σκληρή δουλειά δεν πρέπει να με δυσαρεστεί αλλά να είναι στάση ζωής. Έμαθα ακόμη να μην αναλώνομαι σε μικρότητες αλλά να τις προσπερνώ και να βαδίζω μπροστά. Τον ευχαριστώ πολύ και νιώθω απέραντη τύχη, τιμή και ευγνωμοσύνη που με επέλεξε για συνεργάτη του.

Ευχαριστώ ακόμη θερμά τον καθηγητή Παθολογίας κ. Σταθάκη Νικόλαο για την επίβλεψη της διδακτορικής μου διατριβής και την απρόσκοπτη συνεργασία στη διαχείριση της χρηματοδότησης της από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων , Ειδική Υπηρεσία Διαχείρισης Επιχειρησιακού Προγράμματος, Πράξη: <Ηράκλειτος: Υποτροφίες Έρευνας με προτεραιότητα στη Βασική Έρευνα>.

Νιώθω ακόμη τη βαθιά υποχρέωση να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή Καθηγητή Βιοχημείας του ΤΕΙ Λάρισας κ. Ανάργυρο Μουλά που ήταν ο εμπνευστής της ιδέας για τη μελέτη της βιταμίνης Α και εκείνος που προέβη στη μέτρηση των δειγμάτων με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας που πάλι εκείνος πρωτοδημοσίευσε.

Ευχαριστώ ακόμη τον κ. Δημήτριο Παπαδόπουλο, Επιμελητή Α, της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας που με την εμπειρία του στη διενέργεια βρογχοσκοπήσεων συντελεί τα μέγιστα στη διάγνωση ασθενών με υποκείμενα πνευμονικά νοσήματα. Τον θεωρώ εξάαιρετο δάσκαλο και θα τον συμβουλεύομαι πάντα.

Τέλος ευχαριστώ πολύ τη γιατρό κ. Ευαγγελία Παπαγεωργίου για τη βοήθεια της στη μέτρηση του οξειδωτικού stress στα δείγματα αίματος που συλλέγησαν και της εύχομαι ολόψυχα καλή σταδιοδρομία.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

της Πνευμονολόγου Ειρήνης Χ. Γερογιάννη.

Προσωπικά στοιχεία

Όνομα :	Ειρήνη Χ. Γερογιάννη
Χρόνος/τόπος γέννησης :	23 Ιανουαρίου 1970 /Βόλος
Διεύθυνση κατοικίας :	Ματθοπούλου 4, Λάρισα
Τηλέφωνο κατοικίας	2410672565
Διεύθυνση εργασίας	Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας
Τηλέφωνο εργασίας	2410682812
Fax εργασίας	2410670240
Οικογενειακή κατάσταση:	Παντρεμένη με τον αντισυνταγματάρχη Γρυλλάκη Νικόλαο και μητέρα 2 παιδιών.
Email	igerogianni@yahoo.gr

Σπουδές.

- 1987 Αποφοίτηση από το Ενιαίο Πολυκλαδικό Λύκειο Βόλου με βαθμό «Άριστα».
- 1987 Είσοδος στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών με Πανελλήνιες εξετάσεις.
- 1988 Λήψη υποτροφίας από το Πανεπιστήμιο Αθηνών μετά από εξετάσεις.

1993 Δίπλωμα ιατρού από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού Καποδιστριακού

Πανεπιστημίου Αθηνών με βαθμό «Λίαν Καλώς»

2001 Υποψήφιος διδάκτορας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

2003 Χρηματοδότηση της διδακτορικής διατριβής από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και
Θρησκευμάτων , Ειδική Υπηρεσία Διαχείρισης Επιχειρησιακού Προγράμματος : εκπαίδευση
και αρχική επαγγελματική κατάρτιση (ΕΠΕΑΕΚ ΙΙ) , Πράξη : <ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ: ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ
ΕΡΕΥΝΑΣ ΜΕ ΠΡΟΤΕΡΑΙΟΤΗΤΑ ΣΤΗ ΒΑΣΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ>

Επαγγελματική δραστηριότητα.

1993-1995 Αγροτικό ιατρείο στη Σούρπη Ν.Μαγνησίας για 18 μήνες.

1995-1997 Έναρξη ειδικότητας στην Α΄ Παθολογική Κλινική του Νοσοκομείου Βόλου και
παραμονή για λίγους μήνες ως υπεράριθμη ειδικευόμενη ιατρός στη Στεφανιαία Μονάδα του
παραπάνω νοσοκομείου.

1997-1999 Ειδίκευση στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του νοσοκομείου
Αλεξανδρούπολης.

1999-2001 Ολοκλήρωση της ειδίκευσης στο ΓΝΝΘΑ "Σωτηρία" και λήψη του
τίτλου της ειδικότητας τον Σεπτέμβριο του 2001.

Οκτώβριος 2001-2004 Συνεργάτης Πνευμονολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας.

Οκτώβριος 2001 Έναρξη ιδιωτικού ιατρείου στο Βόλο.

2002-2003 Ιατρός εργασίας σε 2 κρατικές τράπεζες (Εθνική, Εμπορική) και 1 ιδιωτική
τράπεζα(Alpha Bank).

Σεπτέμβριος 2002 –σήμερα : Συνεργασία στην οργάνωση και λειτουργία του αντιφυματικού ιατρείου στο Πανεπιστημιακό νοσοκομείο της Λάρισας υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Πνευμονολογίας κ. Κ.Γουργουλιάνη.

Σεπτέμβριος 2002-2005: Συνεργασία στην οργάνωση και λειτουργία του ιατρείου διακοπής καπνίσματος στο Πανεπιστημιακό νοσοκομείο της Λάρισας υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Πνευμονολογίας κ. Κ.Γουργουλιάνη.

Δεκέμβριος 2002- 2004 : Συμμετοχή ως κύρια ερευνήτρια σε πολυκεντρική διεθνή διπλή τυφλή μελέτη διάρκειας 5 ετών με θέμα το ρυθμό μείωσης της της πνευμονικής λειτουργίας με τη χρήση πιτροπίου 18 mcg μία φορά ημερησίως σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, κλινική φάση IIIb.

Σεπτέμβριος 2004: Διακοπή λειτουργίας του ιδιωτικού ιατρείου στο Βόλο.

Οκτώβριος 2004: Διορισμός ως Επιμελήτρια Β στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Ερευνητική δραστηριότητα

Συμμετοχή σε ερευνητικό πρωτόκολλο με θέμα την αντικαπνιστική εκστρατεία σε μαθητές προσχολικής και σχολικής ηλικίας χρηματοδοτούμενο από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επιστημονικό υπεύθυνο την αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Ζαφειροπούλου Μαρία.

Δημοσιεύσεις και ανακοινώσεις σε συνέδρια

1) A. Roussos, P. Koursarakos, D. Patsopoulos, I. Gerogianni, N. Philippou. *Increased prevalence of irritable bowel syndrome in patients with bronchial asthma.*

RESPIRATORY MEDICINE 2003; 97: 75-79.

2) Moulas An, Gerogianni I, Papadopoulos D, Gourgoulialis K.

Plasma retinol and retinyl palmitate levels in patients with lung cancer.

FREE RADICAL RESEARCH 2003; 37, 1S:76.

3) A. Roussos, I. Gerogianni, N. Phillipou, I. Hliopoulos. *Prevalence of gastroesophageal reflux in Greek patients with asthma.*

EUROPEAN RESPIRATORY JOURNAL 2001; 18, 33S:236

4) A. Roussos, I. Gerogianni, I. Lagogianni, E. Papalefteris, D. Patsopoulos, E. Balis, K. Pugo, A. Boufas, N. Philipou, I. Iliopoulos. *Etiology of pleural effusion. A retrospective study of 324 cases.*

3^o MEDITERRANEAN CONGRESS ON THORACIC DISEASES LUNG INFLAMMATION DISORDERS.

November 1-4 2000.

5) A. Roussos, I. Lagogianni, A. Gonis, I. Gerogianni, Pd. Kazi, I. Ilias, A. Boufas, N. Philipou, I. Iliopoulos. *Calcium concentration in Greek patients with tuberculosis before the initiation of antituberculosis treatment.*

3^o MEDITERRANEAN CONGRESS ON THORACIC DISEASES

November 1-4 2000.

6) Α.Ρούσσο, Ε.Λαγογιάννη, Δ.Πατσόπουλος, Ε.Γερογιάννη, Κ.Ρυγο, Α.Μπούφας, Ν.Φιλίππου, Ε.Ηλιόπουλος. *Καρκινωματούδης υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε νεοπλάσματα του Γαστρεντερικού Σωλήνος.*

ANNALS OF GASTROENTEROLOGY. 20⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας. 1-5 Νοεμβρίου 2000 Αθήνα.

7) Α.Ρούσσο, Ε.Γερογιάννη, Ε.Λαγογιάννη, Φ.Τσιμπούκας, Μ.Ρούσσο, Ν.Φιλίππου. *Επιπολασμός συμπτωμάτων Γαστροοισοφαγικής Παλινδρομικής νόσου σε Έλληνες ασθενείς με βρογχικό άσθμα.* ANNALS OF GASTROENTEROLOGY. 21⁰ Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας. 27 Σεπτεμβρίου –1 Οκτωβρίου 2001, Ιωάννινα.

8) Γερογιάννη Ειρήνη, Μπούφας Αναστάσιος. *Η κατανομή των α1 αλληλόμορφων γονιδίων στους ασθενείς με βρογχεκτασίες.* ΠΝΕΥΜΩΝ 2001, Τεύχος 14 ,Τόμος 2 , άρθρο Ν⁰ 21.

9) Γερογιάννη Ειρήνη, Μπούφας Αναστάσιος. *Συσχέτιση μεταξύ μεγέθους του όγκου και επιβίωσης σε ασθενείς με ΙΑ μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονος.* ΠΝΕΥΜΩΝ 2001, Τόμος 14, Τεύχος 2β, άρθρο Ν⁰ 11.

10) Γερογιάννη Ειρήνη, Γουργουλιάνης Κ. *Πνευμονική εμβολή (θρομβοεμβολική) ή Εμβολή από αμνιακό υγρό.* ΠΝΕΥΜΩΝ 2002, Τόμος 15, Τεύχος 2β, σελ:222.

11) Ομιλία με θέμα < *Παθογένεια των ANCA + αγγειϊτιδων*>. Συντονιστής ο αναπληρωτής Καθηγητής Ανοσολογίας κ. Γερμενής Αναστάσιος. Η οργάνωση του συνεδρίου έγινε από τον Καθηγητή Πνευμονολογίας κ. Γουργουλιάνη Κωνσταντίνο.

Ημέρες Πνευμονολογίας 2002 . Αμφιθέατρο Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

12) Συμμετοχή σε Στρογγυλή Τράπεζα με θέμα < *Παθήσεις του υπεζωκότα: από την παθοφυσιολογία στη θεραπεία*>. Συντονιστές οι κύριοι Κ.Ι.Γουργουλιάνης και Κ.Σπυρόπουλος.

12^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο : 3-7 Δεκεμβρίου 2003, Αθήνα.

13) Γερογιάννη Ειρήνη, Μουλάς Ανάργυρος, Παπαδόπουλος Δημήτριος , Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος.

Ανακοίνωση εργασίας με θέμα < *Η βιταμίνη Α στον καρκίνο του πνεύμονα*>.

12^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο : 3-7 Δεκεμβρίου 2003, Αθήνα..

Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ΤΕΙ Λάρισας.

14) Ζ. Δανιήλ, Ε.Γερογιάννη.

Ομιλία με θέμα < *Τι νεώτερο στη θεραπεία των διάχυτων αυτοάνοσων ρευματικών νοσημάτων*>.

20ο Μεταπτυχιακό Σεμινάριο < *Τι νεώτερο στην Πνευμονολογία 2002-2004*>, 13 - 14

Μαρτίου 2004. Αμφιθέατρο ΝΙΜΤΣ.

15) Ημερίδα με θέμα: <Αεροαλλεργιογόνα>. Βόλος 27 Μαρτίου 2004

Αμφιθέατρο <Σαράτση>, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Ομιλία με θέμα <Επίδραση των αεροαλλεργιογόνων στο κατώτερο αναπνευστικό>.

16) Δημοσίευση στο περιοδικό Ιατρική με τίτλο <Λοιμώξεις του αναπνευστικού>.

17) Ειρήνη Γερογιάννη, Μάρκος Μηνάς, Αναστάσιος Μηνάς, Κ.Ι. Γουργουλιάνης.

Παρουσίαση εργασίας με τίτλο <Ορολογική μέθοδος διάγνωσης φυματίωσης>

13^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο: 1-5 Δεκεμβρίου 2004, Πάτρα

Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ΤΕΙ Λάρισας.

18) Μαρία Παπαλά, Ειρήνη Γερογιάννη, Μαρία Κουρή, Χάιδω Χονδροδήμου, Χρυσή Χατζόγλου, Κ.Ι.Γουργουλιάνης.

Παρουσίαση ελεύθερης ανακοίνωσης με θέμα <Φυματιώδης σπονδυλίτιδα- παρουσίαση ενός περιστατικού>.

17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής: 4-8 Μαΐου 2005, Καλλιθέα Χαλκιδικής.

Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

19) Μαρία Παπαλά, Ειρήνη Γερογιάννη, Μαρία Κουρή, Χάιδω Χονδροδήμου, Χρυσή Χατζόγλου, Κ.Ι.Γουργουλιάνης.

Παρουσίαση ελεύθερης ανακοίνωσης με θέμα <Παρακολούθηση ασθενών με φυματίωση και έλεγχος περιβάλλοντος και επαφών>.

17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής: 4-8 Μαΐου 2005, Καλλιθέα Χαλκιδικής.

Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

20) Ειρήνη Γερογιάννη, Κ.Ι. Γουργουλιάνης.

Ανασκόπηση με τίτλο <Οξειδωτικό stress και παθήσεις του πνεύμονα> στο περιοδικό Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής.

Συγγραφική δραστηριότητα

Συμμετοχή σε κεφάλαια βιβλίου με τίτλο <Κλινική αξιολόγηση ακτινολογικών εικόνων στην Πνευμονολογία>. Ιατρικές εκδόσεις <Βαγιονάκης>.

Συμμετοχή σε βιβλίο με τίτλο <Αεροαλλεργιογόνα> με θέμα <Επίδραση των αεροαλλεργιογόνων στο κατώτερο αναπνευστικό>.

Εκπαιδευτική δραστηριότητα.

1999: Ανάθεση διδασκαλίας από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στα πλαίσια του προγράμματος ΚΕΚ 2328 <Διαιτολόγοι και Ειδικοί διατροφής>.

2003: Συμμετοχή σε σεμινάριο για τη διακοπή του καπνίσματος με πρόεδρο τον Καθηγητή Πνευμονολογίας κ Γουργουλιάνη Κωνσταντίνο.

2004-σήμερα: τακτικά μαθήματα στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική με θέμα τη <Φυματίωση>.

Ξένες γλώσσες

Αγγλικά : Κάτοχος του First Certificate και του Certificate of Proficiency του Πανεπιστημίου Cambridge της Μεγάλης Βρετανίας

Επίσης κάτοχος της επάρκειας διδασκαλίας της Αγγλικής γλώσσας.

Άλλες επιστημονικές δραστηριότητες.

Συμμετοχή στην Ενέργεια Συνεχιζόμενη Επαγγελματική Κατάρτιση <ΚΑΡΠΑ για Ιατρικό Προσωπικό > συνολικής διάρκειας 40 ωρών ,με 24 ώρες θεωρητική κατάρτιση & 16 ώρες πρακτική άσκηση.

14/2/2000 ως 17/3/2000 στο ΠΓΝΝΘΑ <Η ΣΩΤΗΡΙΑ>

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στην Αγία Ν.Λαρίσης .Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλή τον Καθηγητή κ Κ. Γουργουλιάνη .

7-8-9 Νοεμβρίου 2001.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στο Βελεστίνο Ν. Μαγνησίας .Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλή τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.

14-15 Δεκεμβρίου 2001.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στην Τσαριτσάνη Ν. Λαρίσης. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλή τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.

24-25-26 Απριλίου 2002

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στην Αργαλαστή Ν. Μαγνησίας. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλή τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.

6-7-8 Ιουνίου 2002.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στη Σκόπελο Ν. Μαγνησίας. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.
27-28-29 Ιουνίου 2002

Συμμετοχή στο Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα με θέμα :<Ασθμα, Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια > , 20 Δεκεμβρίου 2001 - 18 Απριλίου 2002 που διοργάνωσε η Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στην Ελασσόνα Ν. Λαρίσης. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.
6-7 Μαρτίου 2003.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στον Αλμυρό Ν. Μαγνησίας. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.
19-20-21 Μαρτίου 2003.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στην Αργαλαστή Ν. Μαγνησίας. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή κ. Κ. Γουργουλιάνη.
17-18 Απριλίου 2003.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στην Αλόνησο Ν. Μαγνησίας. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή Πνευμονολογίας κ Κ.Γουργουλιάνη. 22-23-24 Μαΐου 2003.

Συμμετοχή σε εκδήλωση του ΠΕΣΥ Θεσσαλίας με συμμετοχή γιατρών διαφόρων ειδικοτήτων για την εξέταση πολιτών με αναπνευστικά προβλήματα στη Σκόπελο Ν. Μαγνησίας που διοργανώθηκε από το ΠΕΣΥ Θεσσαλίας . 9-10 Οκτωβρίου 2003

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στη Νέα Αγχίαλο Ν . Μαγνησίας. Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή Πνευμονολογίας κ Κ.Γουργουλιάνη. 5-6-7 Νοεμβρίου 2003.

Συμμετοχή σε επιδημιολογική μελέτη για τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια στον Τύρναβο Ν Λάρισας . Διοργανώθηκε από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επικεφαλής τον Καθηγητή Πνευμονολογίας κ Κ.Γουργουλιάνη. 26,27,28 Ιανουαρίου 2005.

Λοιπά:

Μέλος της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρίας και της Βρογχολογικής Εταιρίας.

Γνώστης ηλεκτρονικών υπολογιστών.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	22
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	25
Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	26
Επιδημιολογία, αιτιολογικοί και προστατευτικοί παράγοντες	26
Μοριακή βιολογία του καρκίνου του πνεύμονα	29
Ταξινόμηση	29
Κλινικά ευρήματα	32
Διάγνωση	36
Σταδιοποίηση-θεραπεία-πρόγνωση	37
Η έννοια της χημειοπροστασίας	43
Χημειοπροστατευτικοί παράγοντες στον καρκίνο του πνεύμονα	44
Τρόπος δράσης ορισμένων χημειοπροστατευτικών παραγόντων	45
Η ΒΙΤΑΜΙΝΗ Α ΚΑΙ Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	46
Ο μεταβολισμός της βιταμίνης Α	46
Η δράση της βιταμίνης Α στον καρκίνο	50
Η βιταμίνη Α και ο καρκίνος του πνεύμονα	52
Ο μηχανισμός δράσης των ρετινοειδών στον καρκίνο του πνεύμονα	54
ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	57
Τι είναι το οξειδωτικό stress-ελεύθερες ρίζες	57
Τόπος παραγωγής των οξειδωτικών ριζών	58
Το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα	61
Παθοφυσιολογία του οξειδωτικού stress	62

Οξειδωτικό stress και πνεύμονας	66
Το αντιοξειδωτικό σύστημα στον πνεύμονα	69
Οι ελεύθερες ρίζες στην παθογένεια των παθήσεων του πνεύμονα	72
Οξειδωτικό stress, καρκινογόνα και καρκίνος του πνεύμονα	76
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	81
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	82
Διάγνωση-σταδιοποίηση	82
Μέτρηση ρετινόλης, παλμιτικής ρετινόλης και ρετινοϊκού οξέος	83
Μέτρηση του οξειδωτικού stress	84
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	87
Ιστολογική ταξινόμηση των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα και δημογραφικά ασθενών και υγιών μαρτύρων.	87
Σύγκριση επιπέδων ρετινοϊκού οξέος ανάμεσα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες.	90
Σύγκριση επιπέδων ρετινόλης ανάμεσα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες.	91
Σύγκριση επιπέδων παλμιτικής ρετινόλης ανάμεσα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες.	92
Σύγκριση επιπέδων οξειδωτικού stress ανάμεσα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες.	99
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	105
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	116
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	118
SUMMARY	120
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	122

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Παρά τις προσπάθειες που γίνονται τις τελευταίες δεκαετίες στον αναπτυγμένο δυτικό κόσμο για τον περιορισμό του καπνίσματος, ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί μία από τις κύριες αιτίες θανάτου τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες, ενώ τα ποσοστά συνεχώς αυξάνουν στον αναπτυσσόμενο κόσμο. Η αποδοχή πως η διακοπή του καπνίσματος είναι δύσκολη υπόθεση ενώ στην πραγματικότητα τα ιατρικά διακοπής καπνίσματος αναφέρουν πενιχρά αποτελέσματα, καθιστούν επιτακτική την ανάγκη για την ανακάλυψη χημειοπροστατευτικών παραγόντων για τον έλεγχο της νόσου. Σε αυτή την ανάγκη συνηγορούν ακόμη τα απογοητευτικά αποτελέσματα της πρώιμης ανίχνευσης και τα υψηλά ποσοστά υποτροπής της νόσου παρά την εξέλιξη των χημειοθεραπειών.

Ελκυστική προσέγγιση στη χημειοπροστασία του καρκίνου του πνεύμονα είναι η ανακάλυψη παραγόντων ικανών να αναχαιτίσουν ή να υποστρέψουν την πολυπαραγοντική διαδικασία της καρκινογένεσης. Στην κατηγορία τέτοιων παραγόντων χημειοπροστασίας ανήκουν τα διαιτητικά ιχνοστοιχεία που περιέχονται στις τροφές και τα συνθετικά τους ανάλογα. Εξαιτίας των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων που αποδόθηκαν στο β-καρωτένιο και τα άλλα καρωτενοειδή, υπήρξε μεγάλο ενδιαφέρον τις δύο τελευταίες δεκαετίες για τη χρήση τους ως πιθανούς αντιοξειδωτικούς παράγοντες. Πρώιμες επιδημιολογικές μελέτες και παρατηρήσεις σε ζώα ενίσχυσαν την υπόθεση πως τα ρετινοειδή μπορούν να

δράσουν προστατευτικά εναντίον του καρκίνου. Στην αρχή της δεκαετίας του 1980 υπήρξε ένας μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών μελετών που συσχέτιζαν τη μεγαλύτερη κατανάλωση του β-καρωτενίου με μικρότερη επίπτωση των επιθηλιακών καρκίνων και ειδικά του καρκίνου του πνεύμονα. Συγκεκριμένα το 1981 ο Peto και άλλοι σε σειρά αναδρομικών και προοπτικών μελετών βασισμένων σε ερωτηματολόγια σε έξι διαφορετικές χώρες τεκμηρίωσαν την προστατευτική δράση των καρωτενοειδών στον καρκίνο¹.

Τα αποτελέσματα αυτά οδήγησαν στο σχεδιασμό μελετών που περιελάμβαναν την παρέμβαση των ερευνητών με χορήγηση ως συμπλήρωμα β-καρωτενίου σε ομάδες υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα. Τα αποτελέσματα των γνωστών ATBC και CARET μελετών αιφνιδίασαν τους ερευνητές αφού η χορήγηση του β-καρωτενίου μόνο ή σε συνδυασμό με βιταμίνη Α ή Ε οδήγησε στην αύξηση της επίπτωσης του καρκίνου του πνεύμονα στους καπνιστές και στους εργάτες με έκθεση στον αμίαντο²⁻³. Επιπλέον άλλη μελέτη η EUROSCAN που έγινε με τη χορήγηση βιταμίνης Α και Ν-Ακετυλοκυστεΐνης δεν έδειξε κανένα θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα σε ασθενείς που είχαν αντιμετωπιστεί για καρκίνο του πνεύμονα ή όγκους της κεφαλής και τραχήλου⁴.

Τα αντιφατικά αποτελέσματα των παραπάνω μελετών καθιστούν επιτακτική την ανάγκη να σχεδιαστούν άλλες μελέτες προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανή δράση της βιταμίνης Α ως πιθανού χημειοπροστατευτικού παράγοντα και ιδιαίτερα ως αντιοξειδωτικού. Έτσι σχεδιάστηκε η δική μας μελέτη που κύριο στόχο είχε να εκτιμηθούν τα επίπεδα των διαφόρων μεταβολιτών της βιταμίνης Α σε ανθρώπους με διεγνωσμένο καρκίνο του πνεύμονα και να συγκριθούν με αυτά σε υγιείς ανθρώπους προκειμένου να διαπιστωθεί κάποιο πιθανό έλλειμα στο μεταβολισμό της βιταμίνης Α στους καρκινοπαθείς. Επιπλέον σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα

μελετήθηκαν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress και συγκρίθηκαν με αυτά υγιών μαρτύρων. Τέλος έγινε προσπάθεια για να συσχετιστούν τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών για να οδηγήσουν πιθανόν σε χρήσιμα αποτελέσματα.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Επιδημιολογία, αιτιολογικοί και προστατευτικοί παράγοντες

Ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί το δεύτερο περισσότερο συχνό νεόπλασμα και τη σημαντικότερη αιτία θανάτου μεταξύ των κακοηθειών τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες στις ΗΠΑ ⁵. Ήταν αρκετά σπάνιος μέχρι το 1930, ενώ στα μέσα του αιώνα εμφάνισε αιχμή, ιδιαίτερα μεταξύ των γυναικών. Τα επιδημιολογικά στοιχεία μεταξύ ανδρών και γυναικών είναι τελείως διαφορετικά. Στις μεγαλύτερες ηλικίες η επίπτωση της νόσου εξακολουθεί να αυξάνει και στα δύο φύλα, αλλά ο ρυθμός της αύξησης φθίνει περισσότερο στους άνδρες από τις γυναίκες⁶. Η επίπτωση της νόσου μειώνεται σταδιακά στις νεότερες ηλικίες, μείωση που είναι πάλι πιο εμφανής στους άνδρες. Ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου είναι το αποτέλεσμα της σχέσης έκθεσης σε επιβαρυντικούς ή προστατευτικούς παράγοντες και της ατομικής ευαισθησίας σε αυτούς τους παράγοντες.

Το κάπνισμα του τσιγάρου έχει ενοχοποιηθεί για πάνω από το 90% των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα. Οι καπνιστές φαίνεται να έχουν 20 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν καρκίνο του πνεύμονα από τους μη καπνιστές. Η πιθανότητα αυτή αυξάνει με τη διάρκεια του καπνίσματος και τον αριθμό των τσιγάρων ημερησίως. Η διακοπή του τσιγάρου φαίνεται ότι ωφελεί σε οποιαδήποτε ηλικία και αν γίνει, αν και ο κίνδυνος για ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα φαίνεται να παραμένει αυξημένος συγκριτικά με μη καπνιστές ακόμη και 40 χρόνια μετά τη διακοπή του⁷⁻⁹.

Το παθητικό κάπνισμα έχει αποδεδειγμένα συσχετιστεί με την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα σε πολλές επιδημιολογικές μελέτες μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στην Αθήνα από τον κ.Τριχόπουλο και τους συνεργάτες του¹⁰.

Διάφοροι εργασιακοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με την καρκινογένεση του πνεύμονα. Αδιαμφισβήτητα όμως το κάπνισμα του τσιγάρου έχει τον πρωτεύοντα ρόλο συγκριτικά με τα γνωστά καρκινογόνα του πνεύμονα στους χώρους εργασίας^{11,12}. Ουσίες που έχουν ενοχοποιηθεί για ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα είναι τα βενζοπυρένια, διάφορα μέταλλα όπως το αρσενικό, το χρώμιο, το νικέλιο, ενώ δεν έχει τεκμηριωθεί η καρκινογόνος δράση του πυριτίου^{13,14}. Ο αμίαντος αποτελεί μία αδιαμφισβήτητα καρκινογόνο ουσία της οποίας η καρκινογόνος δράση έχει τεκμηριωθεί από το 1950^{15,16}. Η επίπτωση του καρκίνου φθάνει στην κορύφωση του 30-35 χρόνια μετά την αρχική έκθεση, ενώ η συνεργική δράση της έκθεσης στον αμίαντο και του καπνίσματος είναι πολλαπλή¹⁷.

Όσον αφορά το ρόλο της ραδιενέργειας στην πρόκληση καρκίνου του πνεύμονα, διακρίνονται δύο μορφές ραδιενέργειας: η χαμηλής γραμμικής ενέργειας (x-ακτίνες και γ-ακτίνες) και η υψηλής γραμμικής ενέργειας ραδιενέργεια(νετρόνια και ραδόνιο). Επιδημιολογικές μελέτες έχουν αποδείξει σε εργάτες ουρανίου(προϊόν του οποίου είναι το ραδόνιο) το ρόλο του στην ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα^{18,19}. Η έκθεση στο ραδόνιο έχει και ευρύτερες κοινωνικές προεκτάσεις λόγω της ανεύρεσης του και σε εσωτερικούς χώρους. Η ακτινοβολία χαμηλής γραμμικής ενέργειας έχει ενοχοποιηθεί στην πρόκληση καρκίνου του πνεύμονα σε τρεις πληθυσμούς:τους επιζώντες από την ατομική βόμβα στην Ιαπωνία, σε ασθενείς με αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα ή φυματίωση που έλαβαν ακτινοβολία για θεραπευτικούς λόγους, και σε αυτούς που για επαγγελματικούς λόγους είναι εκτεθειμένοι σε αυτό το είδος της

ακτινοβολίας^{20,21,22} . Η διαφορά μεταξύ των δύο ειδών ακτινοβολίας στην παθογένεια του καρκίνου του πνεύμονα είναι η διαφορετική σχέση δόσης-ρυθμού και αποτελέσματος²² .

Όσον αφορά το ρόλο της ρύπανσης του περιβάλλοντος στην αιτιοπαθογένεια του καρκίνου του πνεύμονα φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της βιομηχανοποίησης και της θνητότητας από τον καρκίνο του πνεύμονα^{23,24-26} . Το 1981 οι Doll και Peto σε μια ανασκόπηση των αιτιών του καρκίνου κατέληξαν στο συμπέρασμα πως πιθανόν το 1-2% των περιπτώσεων του καρκίνου του πνεύμονα να μπορούσαν να αποδοθούν στη ρύπανση του περιβάλλοντος¹ .

Η ενδοοικιακή ρύπανση προέρχεται από διάφορους παράγοντες όπως το παθητικό κάπνισμα, το ραδόνιο, και τα προϊόντα καύσης όπως το κάρβουνο που χρησιμοποιούνται ακόμη ως πηγές ενέργειας για θέρμανση και μαγείρεμα στις αναπτυσσόμενες χώρες^{26,1,27} .

Τέλος έχει μελετηθεί ο ρόλος της διατροφής στην προστασία εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα. Ο προστατευτικός ρόλος της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα έχει παρατηρηθεί σε πολλές μελέτες^{1,28,29,30} . Ειδικά για το ρόλο των βιταμινών και των ιχνοστοιχείων στην προστασία εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στο ρόλο της βιταμίνης Α και C, στα ολικά κωρωτινοειδή και στο β κωρωτένιο. Για το ρόλο της ρετινόλης στην προστασία εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα τα αποτελέσματα των μελετών ήταν απογοητευτικά^{29,30,31,32,33,34,35,36,37,38} . Αντίθετα τα αποτελέσματα των μελετών για τα ολικά κωρωτινοειδή, το β κωρωτένιο, και τη βιταμίνη C είναι πιο ενθαρρυντικά όπως τεκμηριώθηκαν από μελέτες με ερωτηματολόγια σχετικά με τη λήψη ιχνοστοιχείων ή με τη μέτρηση των ιχνοστοιχείων σε δείγματα αίματος^{39,40,41,42,37,43,44} .

Μοριακή βιολογία του καρκίνου του πνεύμονα

Οι μεταλλάξεις στο κατασταλτικό για τον καρκίνο p53 γονίδιο είναι οι πιο συχνές γενετικές μεταβολές στον ανθρώπινο καρκίνο και εμφανίζονται σε διάφορα νουκλεοτίδια της αλυσίδας DNA του γονιδίου όπως στα 157, 248, και 273⁴⁵. Οι αλλαγές που συνδέονται με την καπνιστική συνήθεια αφορούν τη μετατροπή των G:C ζευγών βάσεων σε T:A^{46,47}. Πολλές μελέτες αναφέρουν πως υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ της κατανάλωσης τσιγάρων και της συχνότητας της μετάλλαξης^{48,49}. Αντίθετα η μετάλλαξη αυτή δεν παρατηρείται στους εργάτες ορυχείων ουρανίου και στους επιζώντες από ατομική βόμβα.

Μεταλλάξεις που αφορούν το *K-ras* ογκογονίδιο και αφορούν την έναρξη της μεταγραφής σχετίζονται και αυτές με την καπνιστική συνήθεια και συνδέονται συγκεκριμένα με την ανάπτυξη αδenoκαρκινώματος⁵⁰. Τέλος η απώλεια της ετερογένειας σε μερικούς τόπους χρωμοσωμάτων που περιέχουν κατασταλτικά για τον καρκίνο γονίδια παρατηρείται σε καπνιστές και μάλιστα περισσότερο συχνά σε αυτούς που εξακολουθούν να καπνίζουν συγκριτικά με αυτούς που έχουν διακόψει το κάπνισμα.

Ταξινόμηση

Στα μη μικροκυτταρικά νεοπλάσματα του πνεύμονα περιλαμβάνονται τα πλακώδη σε ποσοστό από 35% ως 71%, τα αδenoκαρκινώματα σε ποσοστό 9% ως 29% και τα μεγαλοκυτταρικά σε ποσοστό 3% ως 16% των ασθενών. Τα

μικροκυτταρικά νεοπλάσματα αντιπροσωπεύουν το 12% ως 25% του συνόλου των ασθενών⁵¹.

Τα πλακώδη νεοπλάσματα του πνεύμονα προέρχονται από το βρογχικό επιθήλιο⁵². Ο όγκος αναπτύσσεται συνήθως με πολυποειδή μορφή ή ως άμισχη μάζα που αποφράσσει τους βρόγχους και προκαλεί μεταποφρακτική πνευμονία. Σπανιότερα το πλακώδες νεόπλασμα αναπτύσσεται ως περιφερική μάζα. Επειδή ο τύπος αυτός του καρκίνου είναι χειρουργικά εξαιρεσιμος έχει την καλύτερη πρόγνωση.

Τα αδenoκαρκινώματα του πνεύμονα παρουσιάζονται πιο συχνά στην περιφέρεια του πνεύμονα και παραμένουν συνήθως ασυμπτωματικά μέχρι να αποκτήσουν μεγάλες διαστάσεις. Οι όγκοι αυτοί προέρχονται από το βρογχοκυψελιδικό επιθήλιο ή από τους βλεννογόνους αδένες. Τα αδenoκαρκινώματα διεισδύουν στα αιμοφόρα και στα λεμφικά αγγεία νωρίς κατά την ανάπτυξη τους και δίνουν μεταστάσεις συχνά πριν ο πρωτοπαθής όγκος δώσει συμπτώματα. Συχνά επεκτείνονται και στις πλευρές και μεταναστεύουν στους σκαληνούς λεμφαδένες. Αν και η καπνιστική συνήθεια αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη αδenoκαρκινώματος, είναι ο ιστολογικός τύπος του καρκίνου που συνήθως αναπτύσσεται και σε μη καπνιστές. Η συχνότητα και η επίπτωση του αδenoκαρκινώματος αυξάνει συνεχώς ιδιαίτερα στις γυναίκες.

Ένας υπότυπος του αδenoκαρκινώματος είναι το βρογχοκυψελιδικό καρκίνωμα που θεωρείται ότι προέρχεται από τα κύτταρα Clara(μη κροσσωτά επιθηλιακά κύτταρα του βρογχικού βλεννογόνου). Οι βλάβες είναι περιφερικές και φαίνεται να σχετίζονται με προϋπάρχουσες ουλές. Δίνει βρογχογενείς μεταστάσεις που καταλήγουν σε πολλαπλούς πνευμονικούς όζους. Αύξηση στη συχνότητα αυτού του υπότυπου του αδenoκαρκινώματος ευθύνεται μερικά για την ανάπτυξη του

αδενοκαρκινώματος. Ο ρόλος του καπνίσματος στην ανάπτυξη βρογχοκυψελιδικού καρκινώματος είναι αμφιλεγόμενος.

Το μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα μπορεί να είναι περιφερικό ή κεντρικό. Οι αιτιολογικοί παράγοντες είναι παρόμοιοι με αυτούς του αδενοκαρκινώματος. Μια κατηγορία των μεγαλοκυτταρικών καρκινωμάτων έχει νευροενδοκρινικούς χαρακτήρες και ανταποκρίνεται καλύτερα στη χημειοθεραπευτική αγωγή⁵³.

Μία μικρή κατηγορία 1%-3% των νεοπλασμάτων χαρακτηρίζονται ως αδενοπλάκωδη στην αρχική βιοψία⁵⁴. Στην πραγματικότητα, πολλοί βρογχογενείς όγκοι έχουν χαρακτηριστικά από δύο ή περισσότερους ιστολογικούς τύπους όταν ληφθούν δύο ή περισσότερες βιοψίες του όγκου.

Τα μικροκυτταρικά καρκινώματα προέρχονται από το βρόγχο και προκαλούν στένωση αυτού κυρίως λόγω υποβλεννογόνιας διάθησης. Οι όγκοι αυτοί μεταναστεύουν νωρίς στους πυλαίους και μεσοθωρακικούς λεμφαδένες και διεισδύουν γρήγορα στα αιμοφόρα αγγεία. Διακρίνονται σε τρεις ομάδες: 1) αμιγή μικροκυτταρικά καρκινώματα 2) μικρο-μεγαλοκυτταρικό καρκινώματα 3) μικτοί όγκοι με στοιχεία μικροκυτταρικού όγκου. Οι αμιγείς μικροκυτταρικοί όγκοι αντιπροσωπεύουν το 90% των περιπτώσεων, τα μικτά μικρο-μεγαλοκυτταρικά καρκινώματα το 4% ως 6%, και λιγότερο από 1% είναι ο συνδυασμός μικροκυτταρικού όγκου με πλακώδες ή αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα.

Οι καρκινοειδείς όγκοι θεωρούνται ότι προέρχονται από τα κύτταρα Kultsinski και αποτελούν το 2% των καρκίνων του πνεύμονα⁵⁵. Οι όγκοι αυτοί συχνά δεν είναι διηθητικοί και μεταστατικοί. Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά δεν προβλέπουν τη συμπεριφορά τους. Οι καρκινοειδείς όγκοι αναπτύσσονται μέσα στους στελεχιαίους βρόγχους, λοβαίους ή τμηματικούς βρόγχους και εμφανίζονται με

τοπικά αποφρακτικά συμπτώματα. Οι περιφερικές βλάβες παρουσιάζονται με αιμόπτυση ή είναι ασυμπτωματικές. Το 5 υδροξυ-ινδολοξικό οξύ μπορεί να είναι αυξημένο στους καρκινοειδείς όγκους. Η θεραπεία εκλογής είναι η χειρουργική με πενταετή επιβίωση από 60% ως 80%⁵⁶. Σε περίπτωση απομακρυσμένων μεταστάσεων η πενταετής επιβίωση μειώνεται στο 11%.

Τα βρογχικά αδενώματα αναπτύσσονται λιγότερο συχνά από τα καρκινοειδή αλλά μπορεί να συμπεριφερθούν ως κακοήθη. Οι όγκοι εμφανίζονται είτε ως διηθητικοί και επεκτείνονται κατά συνέχεια ιστού(αδενοκυστικά) είτε ως μισχωτοί (βλεννοεπιδερμοειδή) και προκαλούν συχνά βρογχική απόφραξη. Η θεραπεία εκλογής είναι η χειρουργική.

Κλινική ευρήματα

Το 90% των ασθενών στους οποίους γίνεται η διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα είναι συμπτωματικοί. Τα συμπτώματα διακρίνονται σε τοπικά, απομακρυσμένα και συστηματικά. Στα τοπικά συμπτώματα περιλαμβάνονται κυρίως ο βήχας σε ποσοστό 70%, και ακολουθούν η αιμόπτυση και η δύσπνοια σε ποσοστό 40%. Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται τα τοπικά συμπτώματα και η συχνότητα ανεύρεσης τους(Πίνακας 1).

Οι κεντρικές βλάβες μπορεί να προκαλούν βήχα, αιμόπτυση, δύσπνοια, βράγχος φωνής, δυσφαγία, συριγγμό, και συμπτώματα συμβατά με σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας ή περικαρδιακή συμμετοχή. Οι περιφερικές βλάβες μπορεί να παρουσιάσουν με πόνο, βήχα, ή δύσπνοια λόγω υπεζωκοτικής συλλογής. Αν παρουσιαστεί παροξυσμικός βήχας ή αύξηση του χρόνιου βήχα ή της απόχρεμψης σε ένα μεσήλικα ή μεγαλύτερης ηλικίας καπνιστή τίθεται η υποψία του καρκίνου του πνεύμονα⁵⁷.

Πίνακας 1: ΤΟΠΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΤΙΓΜΗ ΤΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

Σύμπτωμα	Συχνότητα
Βήχας	70%
Αιμόπτυση	40%
Δύσπνοια	40%
Θωρακικό άλγος	35%
Βράγχος φωνής	5%
Σημεία απόφραξης άνω κοίλης φλέβας	5%
Συριγμός	2%
Περικαρδιακή συλλογή	Σπάνια
Σύνδρομο Horner	Σπάνια

Ο καρκίνος του πνεύμονα δίνει μεταστάσεις στα οστά, το ήπαρ, τους λεμφαδένες και τον εγκέφαλο. Τη στιγμή της διάγνωσης 25% των ασθενών παρουσιάζει πόνο στα οστά, 20% παρουσιάζει ηπατική συμμετοχή, 20% λεμφαδενοπάθεια , και 5% ως 10% παρουσιάζει νευρολογικές εκδηλώσεις λόγω συμμετοχής του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Οι συστηματικές εκδηλώσεις του καρκίνου του πνεύμονα είναι πολλές και αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα. Τα περισσότερα από αυτά είναι μη ειδικά συμπτώματα όπως η απώλεια βάρους, η ανορεξία, ο πυρετός και μπορούν να συμβούν σε οποιοδήποτε ασθενή με καρκίνο του πνεύμονα. Οι παρανεοπλασματικές εκδηλώσεις όπως η υπερασβεστιαμία, η θρομβοφλεβίτιδα και η έκκριση αντιδιουρητικής ορμόνης αναφέρονται επίσης στον παρακάτω πίνακα(Πίνακας 2)

Τα μικροκυτταρικά νεοπλάσματα εμφανίζονται με τα ίδια σημεία και συμπτώματα που εμφανίζονται και τα μη μικροκυτταρικά νεοπλάσματα. Επειδή οι όγκοι αυτοί είναι κεντρικοί, οι ασθενείς συχνά παρουσιάζουν βήχα, αιμόπτυση, συριγμό, θωρακικό άλγος, αιμόπτυση ή μεταποφρακτική πνευμονία.

**Πίνακας 2: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΒΡΟΓΧΟΓΕΝΟΥΣ
ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

Γενικές

Απώλεια βάρους

Ανορεξία

Αδυναμία

Πυρετός

Νευρολογικές

Σύνδρομο Horner

Περιφερική νευροπάθεια

Φλοιοπαρεγκεφαλιδική εκφύλιση

Μυϊκές διαταραχές (περιλαμβάνεται και το σύνδρομο Eaton -Lambert)

Πολυμυοσίτιδα

Δερματολογικές

Μελανίζουσα ακάνθωση

Δερματομυοσίτιδα

Σκληροδερμία

Μυοσκελετικές

Πληκτροδακτυλία

Υπερτροφική πνευμονική οστεοαρθροπάθεια

Διαταραχές αγγειακού συστήματος

Θρομβοφλεβίτιδα

Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη

Μη βακτηριακή θρομβωτική ενδοκαρδίτιδα

Ενδοκρινικές

Έκκριση αντιδιουρητικής ορμόνης

Υπερασβεστιαμία

Γυναικομαστία

Σύνδρομο Cushing

Διάγνωση

Όταν τεθεί η υποψία του βρογχογενούς νεοπλασματος είτε κλινικά είτε από κάποιο εύρημα στην ακτινογραφία θώρακα, η διαγνωστική προσέγγιση πρέπει να περιλαμβάνει τη λήψη ιστορικού, την κλινική εξέταση, την ακτινογραφία θώρακα, τις συνήθεις αιματολογικές εξετάσεις, την αξονική τομογραφία θώρακα και άνω κοιλίας, τη βρογχοσκόπηση και το λειτουργικό έλεγχο της αναπνοής. Ο λειτουργικός έλεγχος της αναπνοής πρέπει να περιλαμβάνει τη σπιρομέτρηση με ή χωρίς βρογχοδιαστολή, τη διαχυτική ικανότητα και τον κορεσμό του οξυγόνου στην ηρεμία.

Η κυτταρολογική εξέταση των πτυέλων που συλλέγονται νωρίς το πρωί είναι μη επεμβατική μέθοδος που πιθανόν είναι διαγνωστική.

Η βρογχοσκόπηση με το εύκαμπτο βρογχοσκόπιο είναι ιδιαίτερα χρήσιμη εξέταση για κεντρικές βλάβες. Παρέχει το πλεονέκτημα της άμεσης επισκόπησης της βλάβης ενώ παράλληλα μπορούν να ληφθούν βιοψίες από την ενδοβρογχική βλάβη και υλικό για κυτταρολογική εξέταση ή διαβρογχική βιοψία από περιβρογχική βλάβη. Ένα θετικό για κακοήθεια αποτέλεσμα από τα πτύελα ή από τις βρογχικές εκκρίσεις είναι κατά 98% αξιόπιστο για κακοήθεια⁵⁸. Όταν οι περιφερικές βλάβες δεν είναι προσιτές με το εύκαμπτο βρογχοσκόπιο, η διαθωρακική με βελόνα αναρρόφηση του πνεύμονα υπό καθοδήγηση αξονικού τομογράφου έχει ευαισθησία από 74% ως 94%⁵⁹. Επιπλέον η παρακέντηση πλευριτικού ή περικαρδιακού υγρού, η μεσοθωρακοσκόπηση ή η βιοψία υπερκλειδίων λεμφαδένων μπορεί να βοηθήσουν στη διάγνωση. Τέλος σε λίγες περιπτώσεις είναι πιθανό να χρειαστεί ερευνητική θωρακοτομή για τη λήψη βιοψιών και κυτταρολογικού υλικού από τον πνεύμονα.

Η διαγνωστική προσέγγιση σε ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα πρέπει να περιλαμβάνει την αξονική ή μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου, ακόμη και

αν ο ασθενής είναι ασυμπτωματικός , τη βιοψία μυελού των οστών και τη βιοψία ή μαγνητική τομογραφία της σπονδυλικής στήλης. Αναφέρεται πως οι μεταστάσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα φθάνουν το 30% στους ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα.

Μελέτες έχουν δείξει πως η βρογχοσκόπηση με φθορισμό αυξάνει την ανίχνευση υποεπιθηλιακών βλαβών κατά έξι φορές⁶⁰. Βλάβες μικρότερες του 1mm είναι δυνατό να ανιχνευτούν με τη φθορίζουσα βρογχοσκόπηση. Υπάρχει ακόμη συσχέτιση μεταξύ του παθολογικού φθορισμού και των μοριακών αλλαγών. Η τεχνική αυτή έχει ακόμη την ικανότητα να ανιχνεύει τη σοβαρή δυσπλασία και το καρκίνωμα *in situ*, αν και υπάρχει λίγη γνώση για τη φυσική πορεία των παραπάνω βλαβών και ειδικά για την πιθανότητα εξέλιξης τους σε διηθητικό καρκίνο. Η φθορίζουσα βρογχοσκόπηση μπορεί τέλος να αποδειχτεί χρήσιμη στην ανίχνευση πρώιμων έναντι προχωρημένων μοριακών αλλαγών όπως επίσης και για την παρακολούθηση της χημειοπροστασίας ή οποιαδήποτε άλλης παρέμβασης⁶¹.

Τέλος οι καρκινικοί δείκτες όπως το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο μπορεί να είναι αυξημένοι στους ασθενείς με οποιοδήποτε ιστολογικό τύπο καρκίνου , αλλά δεν αποτελούν ούτε ευαίσθητους ούτε ειδικούς δείκτες για κλινική χρήση.

Σταδιοποίηση-θεραπεία-πρόγνωση

Η ακριβής σταδιοποίηση είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την αντιμετώπιση των ασθενών από καρκίνο του πνεύμονα, για την κλινική έρευνα και για το παγκόσμιο σύστημα ανταλλαγής πληροφοριών για τον καρκίνο του πνεύμονα. Η πλειοψηφία των ασθενών από καρκίνο του πνεύμονα είναι μη ιάσιμη με πενταετή επιβίωση μικρότερη από 10%, και επομένως μέχρι να ανακαλυφθεί αποτελεσματική

συστηματική θεραπεία η ανάπτυξη νέων στρατηγικών θεραπείας θα εξαρτάται από τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τους καλά σταδιοποιημένους ασθενείς. Είναι πιθανό πως οι αποκλίσεις στην επιβίωση που αναφέρονται από τα διάφορα νοσηλευτικά ιδρύματα να οφείλονται στις αποκλίσεις κατά τη σταδιοποίηση πριν την έναρξη της θεραπείας. Κύρια αιτία για αυτό θεωρείται η λήψη ή μη βιοψίας λεμφαδένων του μεσοθωρακίου και η πιθανή ανακρίβεια του παθολογοανατομικού αποτελέσματος. Οι εκτιμήσεις δείχνουν πως οι ασθενείς που είναι υποψήφιοι για χειρουργική αντιμετώπιση κατά τη στιγμή της διάγνωσης είναι μόνο 20% ως 35% ⁶². Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι συστάσεις για τη σταδιοποίηση του ασθενή(Πίνακας 3).

Περίπου οι μισοί ασθενείς κατά τη στιγμή της διάγνωσης παρουσιάζουν μεταστάσεις με συνήθεις εντοπίσεις τα οστά, τον εγκέφαλο, το ήπαρ, τους λεμφαδένες, το δέρμα. Η παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων εξαρτάται άμεσα από τον ιστολογικό τύπο. Η ολόσωμη τομογραφία ποζιτρονίων(PET) γίνεται αποδεκτή όλο και περισσότερο για τη συμβολή της στη σταδιοποίηση των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα με ευαισθησία και ειδικότητα που φθάνουν το 85%, ενώ φαίνεται τελικά πως ο συνδυασμός του PET με την αξονική τομογραφία έχουν σημαντικά πιο ακριβή αποτελέσματα σε σχέση μόνο με την αξονική τομογραφία. Ακόμη η υψηλή αρνητική προγνωστική αξία του PET στο μεσοθωράκιο μπορεί να μειώσει τις ανάγκες για μεσοθωρακοσκόπηση ⁶³.

Πίνακας 3: ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Ιστορικό, κλινική κατάσταση, απώλεια βάρους, φυσική εξέταση
Γενική εξέταση αίματος, βιοχημικές εξετάσεις αίματος, ανάλυση ούρων
Ακτινογραφία θώρακος
Αξονική τομογραφία θώρακος, άνω κοιλίας +/- τομογραφία ποζιτρονίων
Σπινθηρογράφημα οστών
Μεσοθωρακοσκόπηση πριν το χειρουργείο αν υπάρχει πιθανότητα χειρουργικής επέμβασης.

Το αναθεωρημένο διεθνές σύστημα σταδιοποίησης για τον καρκίνο του πνεύμονα παρουσιάζεται παρακάτω. Οι υποομάδες των ασθενών είναι κατανεμημένοι σε στάδια σύμφωνα με τα οποία οι ασθενείς έχουν τις ίδιες θεραπευτικές επιλογές και την ίδια πρόγνωση(Πίνακες 4,5).

Πίνακας 4 : ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ TNM

Πρωτοπαθής όγκος

TX Ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να ανευρεθεί ή ο πρωτοπαθής όγκος αποδεικνύεται με την ύπαρξη κακοήθων κυττάρων στα πτύελα ή τις βρογχικές εκκρίσεις αλλά δεν παρατηρείται ορατός όγκος με τη βρογχοσκόπηση

TO Δεν υπάρχει ένδειξη πρωτοπαθούς όγκου

Tis Καρκίνωμα in situ

T1 Όγκος <3 cm στη μεγαλύτερη διάμετρο , περιβάλλεται από παρέγχυμα ή σπλαγχνική πλευρά, χωρίς βρογχοσκοπική ένδειξη διήθησης κυρίου βρόγχου.

T2 Όγκος με οποιοδήποτε από τα παρακάτω χαρακτηριστικά μεγέθους ή επέκτασης:

- >3 cm η μεγαλύτερη διάμετρος
- Επέκταση σε κύριο βρόγχο , απόσταση>/ 2 cm από την κυρία τρόπιδα
- Διήθηση της σπλαγχνικής πλευράς
- Οποιαδήποτε συνοδός ατελεκτασία ή αποφρακτική πνευμονία που εκτείνεται στην περιοχή της πύλης αλλά δεν περιλαμβάνει ολόκληρο τον πνεύμονα.

T3 Όγκος οποιοδήποτε μεγέθους που διηθεί άμεσα ένα από τα επόμενα: το θωρακικό τοίχωμα, το διάφραγμα, το μεσοθωρακικό υπεζωκότα, το πλευρικό περικάρδιο, ή όγκος σε κύριο βρόγχο σε απόσταση <2 cm από την κυρία τρόπιδα αλλά χωρίς συμμετοχή αυτής, ή ατελεκτασία ή αποφρακτική πνευμονία που καταλαμβάνει ολόκληρο τον πνεύμονα.

T4 Όγκος οποιοδήποτε μεγέθους που διηθεί ένα από τα επόμενα: μεσοθωράκιο, καρδιά, μεγάλα αγγεία, τραχεία, οισοφάγο, σπονδυλικά σώματα, κυρία τρόπιδα ή όγκος με κακοήθη πλευριτική ή περικαρδιακή συλλογή ή με δορυφορικούς όγκους στο λοβό του πνεύμονα που περιέχει τον πρωτοπαθή όγκο.

Επιχώριοι λεμφαδένες

NX Επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν

NO Δεν υπάρχουν μεταστατικοί επιχώριοι λεμφαδένες

N1 Μετάσταση στους σύστοιχους περιβρογχικούς ή πυλαίους λεμφαδένες και στους ενδοπνευμονικούς λεμφαδένες που εμπλέκονται με απευθείας επέκταση του πρωτοπαθούς όγκου

- N2 Μετάσταση στους σύστοιχους μεσοθωρακικούς ή υποτροπιδικούς λεμφαδένες
- N3 Μετάσταση στους ετερόπλευρους μεσοθωρακικούς, ετερόπλευρους πυλαίους, μονόπλευρους ή ετερόπλευρους σκαληνούς ή υπερκλείδιους λεμφαδένες

Εξωθωρακικές μεταστάσεις

MX Η παρουσία μακρινών μεταστάσεων δεν μπορεί να εκτιμηθεί

MO Δεν υπάρχουν μακρινές μεταστάσεις

M1 Υπάρχουν μακρινές μεταστάσεις(περιλαμβάνονται και οι μεταστατικοί όζοι που βρίσκονται σε άλλο λοβό από αυτόν που εντοπίζεται ο πρωτοπαθής όγκος)

Πίνακας 5 : ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ TNM ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΗ 5ΕΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗ.

ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΤΑ TNM		ΕΠΙΒΙΩΣΗ
<i>Στάδιο</i>	<i>TNM ταξινόμηση</i>	<i>5ετής Επιβίωση</i>
0	Καρκίνωμα in situ	
IA	T1 NO MO	67%
IB	T2 NO MO	57%
IIA	T1 N1 MO	55%
IIB	T2 N1 MO	38%

	T3 NO MO	38%
III A	T3 N1 MO	25%
	T1 N2 MO	23%
	T2 N2 MO	23%
	T3 N2 MO	23%
III B	T4 NO MO	7%
	T4 N1 MO	7%
	T4 N2 MO	7%
	T1 N3 MO	3%
	T2 N3 MO	3%
	T3 N3 MO	3%
	T4 N3 MO	7%
IV	Όποιο T , όποιο N, M1.	1% ⁶¹

Για τον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα ισχύει η παρακάτω ταξινόμηση⁶⁴: Το περιορισμένο μικροκυτταρικό νεόπλασμα περιλαμβάνει ασθενείς με νόσο που περιορίζεται στο ένα ημιθώρακιο με επιχώριες λεμφαδενικές μεταστάσεις που περιλαμβάνουν τους πυλαίους, τους σύστοιχους και τους ετερόπλευρους μεσοθωρακικούς ή υπερκλειδίους λεμφαδένες. Ο συνυπολογισμός των ασθενών με ετερόπλευρους μεσοθωρακικούς και υπερκλειδίους λεμφαδένες αποφασίστηκε επειδή η πρόγνωση αυτών των ασθενών είναι διαφορετική από εκείνους με μακρινές μεταστάσεις. Η παρουσία σύστοιχης πλευριτικής συλλογής (καλοήθους ή κακοήθους) περιλαμβάνεται σε αυτό το στάδιο.

Η εκτεταμένη νόσος περιλαμβάνει όλους τους ασθενείς εκείνους που δεν μπορούν να συμπεριληφθούν στο προηγούμενο στάδιο.

Η χειρουργική θεραπεία εκεί που υπάρχει η ένδειξη για χειρουργική εξαίρεση παραμένει η θεραπεία επιλογής για τον καρκίνο του πνεύμονα, ενώ έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδο στην επιλογή των ασθενών για χειρουργική παρέμβαση βελτιώνοντας την πρόγνωση τους. Νέα προγράμματα ακτινοθεραπείας και νέα φάρμακα για χημειοθεραπεία έχουν αυξήσει την επιβίωση και βελτίωσαν την ποιότητα ζωής. Πρέπει όμως να γίνουν πολλά αφού η μέση 5ετής επιβίωση παραμένει στο 14%. Επειδή όμως το βρογχογενές καρκίνωμα είναι νόσος που στο μεγαλύτερο ποσοστό του μπορεί να προληφθεί αφού οφείλεται στην καπνιστική συνήθεια, η διακοπή του καπνίσματος ή ακόμη καλύτερα η μη έναρξη του πρέπει να είναι ο στόχος όλων των συστημάτων υγείας. Επειδή όμως πρόκειται για ένα πολύ δύσκολο στόχο, τα τελευταία χρόνια αναπτύσσεται ολοένα και περισσότερο η έννοια της χημειοπροστασίας.

Η έννοια της χημειοπροστασίας.

Ο αγώνας για την καταπολέμηση της θνητότητας από τον καρκίνο του πνεύμονα έχει επικεντρωθεί στα ακόλουθα τέσσερα σημεία: 1) τη θεραπεία της νόσου 2) την πρόωμη διάγνωση 3) τη χημειοπροστασία 4) την αποφυγή ή τη διακοπή του καπνίσματος.

Χημειοπροστασία είναι η χρήση φυσικών ή συνθετικών παραγόντων προκειμένου να εμποδίσουν την ανάπτυξη διηθητικού καρκίνου δεσμεύοντας τη ζημιά στο DNA που προάγει την καρκινογένεση ή καταστέλλοντας την εξέλιξη προκακοήθων κυττάρων⁶⁵. Οι στρατηγικές της χημειοπροστασίας διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: στους ανθρώπους εκείνους με γνωστούς παράγοντες κινδύνου (πρωτοπαθή

χημειοπροστασία), στους ανθρώπους εκείνους με ενδείξεις της νόσου(δευτεροπαθή χημειοπροστασία), ή τέλος σε ανθρώπους με καρκίνο του πνεύμονα που έχουν λάβει θεραπεία με σκοπό την ίαση(τριτοπαθή χημειοπροστασία).

Χημειοπροστατευτικοί παράγοντες στον καρκίνο του πνεύμονα

Σύνθετες κυτταρικές ή μοριακές γενετικές μεταβολές συμβαίνουν σε ιστό με καρκίνο του πνεύμονα ή σε μη κακοήγη ιστικά τεμαχίδια που έχουν απομονωθεί από ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Η κτήση ή η απώλεια ειδικών για την ανάπτυξη επιτόπων του DNA είναι συχνή στη διαδικασία της καρκινογένεσης⁶⁶⁻⁷⁰. Οι αλλαγές περιλαμβάνουν τοπικά γενετικά φαινόμενα με την ενεργοποίηση ογκογονιδίων ή την αδρανοποίηση κατασταλτικών γονιδίων. Θεωρητικά οι μεταβολές αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης για την παρακολούθηση της κλινικής ανταπόκρισης στους χημειοπροστατευτικούς παράγοντες εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα.

Τα πλακώδη νεοπλάσματα συχνά συνυπάρχουν με περιοχές μεταπλασίας, δυσπλασίας, ή καρκινώματος *in situ*. Βασισμένοι σε αυτή την παρατήρηση ο Sacomanno και οι συνεργάτες του το 1974 εισήγαγαν ένα μοντέλο που έδινε έμφαση στις προοδευτικές μεταβολές του πλακώδους κυττάρου από τη μεταπλασία, τη μεταπλασία με ατυπία η οποία μπορεί να είναι ήπια, μέτρια ή εκσεσημασμένη, και το καρκίνωμα *in situ* το οποίο οδηγεί στην ανάπτυξη διηθητικού πλακώδους καρκινώματος⁷¹. Ανάλογα μοντέλα έχουν παρατηρηθεί και στην ανάπτυξη του αδενοκαρκινώματος. Αυτή η χρόνια και πολυπαραγοντική διαδικασία της καρκινογένεσης του πνεύμονα κάνει ελκυστική τη χημειοπροστατευτική προσέγγιση η οποία θα καταστείλει ή θα αναστρέψει μία ή περισσότερες καρκινογόνες μεταβολές, δεσμεύοντας τη ζημιά του DNA, ή αναστέλλοντας την ανάπτυξη

προνεοπλασμαστικών κυττάρων που έχουν ήδη υποστεί ζημιά στο γενετικό τους υλικό. Μερικοί από αυτούς τους παράγοντες με διαφορετικές δομές και μηχανισμούς δράσης έχουν δοκιμαστεί σε μελέτες για την προστασία εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα:

Αναστολείς COX-2

Αναστολείς EGFR

Ρετινοειδή

Αναστολείς λιποξυγενάσης

Αναστολείς αγγειογένεσης

Αναστολείς κυτταρικού κύκλου

Παράγοντες απομεθυλίωσης

Αναστολείς mTOR

Ανάλογα προστακυκλίνης

Τριτερπενοειδή

Αγωνιστές PPAR γ

Αναστολείς Ras

Βουδεσονίδη

Αναστολείς πρωτεασώμης

Αναστολείς PKC(πρωτεϊνική κινάση)

Σελήνιο

Τρόπος δράσης ορισμένων χημειοπροστατευτικών παραγόντων

Η κυκλοοξυγενάση-2 παράγεται από το αραχιδονικό οξύ κατά τη διάρκεια φλεγμονής. Προκλινικές μελέτες έχουν δείξει πως η υπερβολική έκφραση COX-2 αποτρέπει την απόπτωση των κυττάρων και επίσης ότι η κυκλοοξυγενάση εμπλέκεται

στη ρύθμιση της αγγειογένεσης⁷². Στη φάση αυτή δοκιμάζονται διάφοροι επιλεκτικοί αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης-2 στις χημειοπροστατευτικές μελέτες.

Από τα δεδομένα που υπάρχουν για τον επιθηλιακό παράγοντα ανάπτυξης EGFR φαίνεται να προάγει τη μιτογένεση ενώ οι αναστολείς του παράγοντα αυτού αναστέλλουν αυτή τη δραστηριότητα⁷³. Ισχυρή ένδειξη για τον EGFR ως στόχο για την προστασία εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα προκύπτει από την αυξημένη έκφραση του παράγοντα αυτού όταν τα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα εκτίθενται στην καρκινογόνο ουσία N-νιτροσαμινο-4-(μεθυλνιτροσαμινο)-1-(3πυριδιλ)-1 μπουτανόνη(NNK)⁷⁴. Άλλοι υποψήφιοι χημειοπροστατευτικοί παράγοντες περιλαμβάνουν αυτούς που δρουν μέσω πυρηνικών υποδοχέων όπως ο υποδοχέας της βιταμίνης D, τα συνθετικά τριτερπενοειδή που είναι παράγωγα συνθετικών παραγόντων με δράση στη διαφοροποίηση των κυττάρων, αντιπολλαπλασιαστική, και αντιφλεγμονώδη, και άλλοι που αναφέρονται στον ανωτέρω πίνακα.

Η ΒΙΤΑΜΙΝΗ Α ΚΑΙ Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Ο μεταβολισμός της βιταμίνης Α.

Με τον όρο βιταμίνη Α γενικά εννοούμε ένα σύνολο ουσιών, με κυριότερες από αυτές τη ρετινόλη, τη ρετινάλη, το ρετινοϊκό οξύ και τους εστέρες της ρετινόλης. Η βιταμίνη Α και οι μεταβολίτες της παίζουν πρωτεύοντα ρόλο στην οπτική διέγερση και στην ανάπτυξη και διαφοροποίηση ποικίλων κυττάρων και ειδικά των επιθηλιακών κυττάρων⁷⁵. Η βιταμίνη Α προσλαμβάνεται από τον άνθρωπο υπό τη μορφή εστέρων(REs) από ζωικά είδη ή με τη μορφή προβιταμινών τα καρωτένια από τα φυτικά είδη. Οι εστέρες υδρολύονται σε ρετινόλη(ROH) στον εντερικό

βλεννογόνο , επανεστεροποιούνται σε RE , σχηματίζουν χυλομικρά , και απελευθερώνονται μέσω του θωρακικού πόρου στη συστηματική κυκλοφορία. Το υπόλοιπο των χυλομικρών που περιέχουν τους εστέρες προσλαμβάνονται από το ήπαρ με τη μεσολάβηση του υποδοχέα της απολιποπρωτεΐνης E. Οι RE φυλάσσονται στο ήπαρ και σχηματίζουν τη ρετινόλη (ROH) μετά από υδρόλυση. Το ήπαρ αποτελεί τη μεγαλύτερη αποθήκη της βιταμίνης A και φυλάσσεται σε αυτό 50-80% της συνολικής ποσότητας στον οργανισμό.

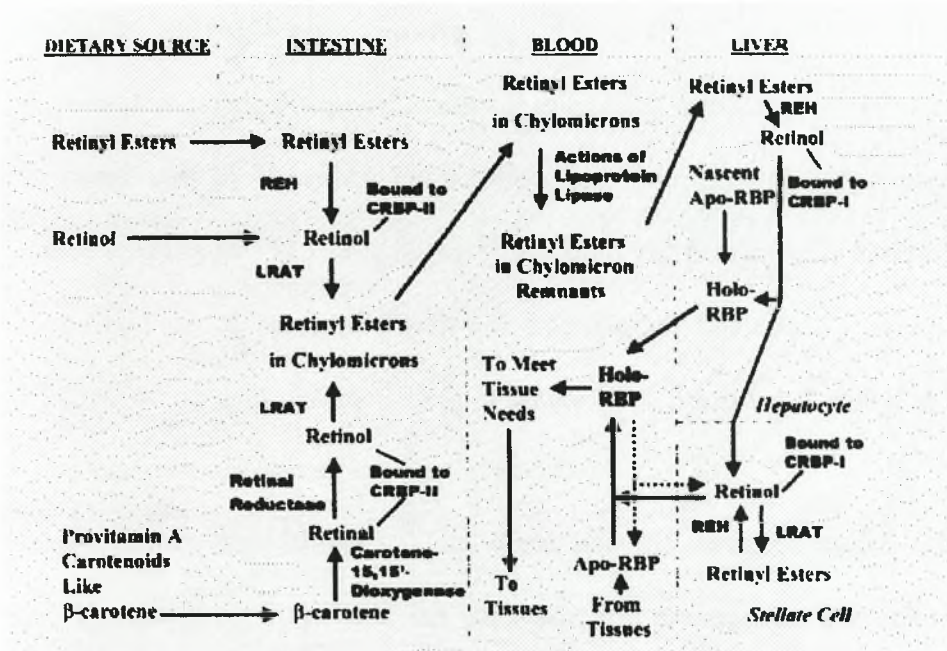
Τα επίπεδα της βιταμίνης A στον ορό διατηρούνται σε συνεχή ομοιόσταση από τις αποθήκες του ήπατος. Η ρετινόλη (ROH) προκειμένου να απελευθερωθεί από τα ηπατικά κύτταρα συνδέεται με την RBP πρωτεΐνη και στη συνέχεια με την τρανσθυρετίνη(TTR) για την αποφυγή της κάθαρσης από το νεφρό.

Η είσοδος της ρετινόλης στα κύτταρα γίνεται είτε με τη μεσολάβηση ειδικού RBP υποδοχέα και την επακόλουθη είσοδο του συμπλέγματος με ενδοκύττωση και απελευθέρωση της ρετινόλης στο κυτταρόπλασμα, είτε με μηχανισμό χωρίς υποδοχέα μέσω της λιπιδικής μεμβράνης (σχήμα 1). Αυτοί οι δύο μηχανισμοί φαίνεται να χρησιμοποιούνται από διαφορετικά κύτταρα. Μέσα στο κύτταρο η ρετινόλη συνδέεται με την ενδοκυττάρια RBP και είτε οξειδώνεται σε ρετινοϊκό οξύ(RA), είτε επανεστεροποιείται σε εστέρες(RE). Οι εστέρες της ρετινόλης αποθηκεύονται στους διάφορους ιστούς και στο ήπαρ. Φαίνεται ότι τα αποθέματα των εστέρων της ρετινόλης στους ιστούς εκτός από το ήπαρ σχηματίζονται με ενδοκυττάρια εστεροποίηση της ρετινόλης που αντλείται από τη συστηματική κυκλοφορία. Επιπλέον κανένας μηχανισμός δεν είναι γνωστός για την άμεση μετατροπή του εστέρα της ρετινόλης σε ρετινοϊκό οξύ, επειδή προφανώς πρέπει να προηγηθεί η υδρόλυση του εστέρα σε ρετινόλη. Εναλλακτικά , η εξωγενής χορήγηση ρετινοϊκού οξέος(RA) καταλήγει στην είσοδο του μέσα στο κύτταρο και τη σύνδεση

του με την ειδική κυτταρική RA πρωτεΐνη. Στη συνέχεια το ρετινοϊκό οξύ μαζί με την πρωτεΐνη θα περάσει τη μεμβράνη για να συνδεθεί με τους πυρηνικούς υποδοχείς RAR και RXR και να ξεκινήσει η ειδική δράση του⁷⁶.

Η ρετινόλη συνδεδεμένη με τις πρωτεΐνες RBP και TTR απελευθερώνεται από το ήπαρ στη συστηματική κυκλοφορία κάτω από συνεχή ομοιοστατικό έλεγχο. Αυτός ο έλεγχος επιτυγχάνεται με τη συνεχή αλλά περιορισμένη RBP σύνθεση και μεταφορά της ROH για σύνδεση. Μετά τη μεταφορά της ROH στα κύτταρα στόχους, η RBP που απομένει χωρίς τη ρετινόλη καταβολίζεται στο νεφρό. Αύξηση στην αποσυνδεδεμένη RBP είναι έμμεση ένδειξη αυξημένων κυτταρικών αναγκών, ενώ ο μειωμένος καταβολισμός της από τους νεφρούς διεγείρει την RBP σύνθεση με αποτέλεσμα την αύξηση της κυκλοφορίας του συμπλέγματος ROH-RBP-TTR. Η αύξηση των αναγκών σε ρετινόλη προκαλεί την αύξηση της ROH-RBP η οποία μπορεί να καθυστερήσει ακόμη και 24 ώρες λόγω της αργοπορημένης σύνθεσης της RBP.

Τα περισσότερα αποτελέσματα της βιταμίνης A αποδίδονται στους ενεργούς μεταβολίτες all-trans-RA, all-trans-4-oxo-RA, 9-cis-RA, 13-cis RA, 13-cis-4-oxo RA που φαίνεται πως είναι βιολογικά ενεργοί⁷⁷. Οι μεταβολίτες αυτοί συνδέονται με τους RAR και RXR πυρηνικούς υποδοχείς και πυροδοτούν τη μετάφραση συγκεκριμένων γονιδίων⁷⁸. Συγκεκριμένα είναι γνωστό πως όλοι οι all-trans-RA μεταβολίτες συνδέονται αποκλειστικά με τους RAR(RAR α , RAR β και RAR γ) πυρηνικούς υποδοχείς ενώ το 9-cis RA συνδέεται και με τους RAR και με τους RXR (RXR α , RXR β , και RXR γ) υποδοχείς σχηματίζοντας ετερο ή ομοδιμερή και καταλήγοντας να ενεργοποιούν ειδικούς μεταφραστικούς παράγοντες συνδεδεμένοι με συγκεκριμένη αλληλουχία των γονιδίων του DNA.



Σχήμα 1: Μεταβολισμός της βιταμίνης Α στο έντερο και το ήπαρ. Οι πιο σημαντικές διατροφικές πηγές της βιταμίνης Α περιλαμβάνουν τις προβιταμίνες της βιταμίνης Α τα καρωτενοειδή όπως το β-καρωτένιο, και προσχηματισμένη βιταμίνη Α κυρίως εστέρες της ρετινόλης και ρετινόλη. Μέσα στο λεπτό έντερο οι εστέρες της ρετινόλης υδρολύονται σε ρετινόλη με τη βοήθεια υδρολασών (REHs) που εντοπίζονται στον αυλό του εντέρου και στην επιφάνεια των εντερικών κυττάρων. Τα καρωτενοειδή διασπώνται μέσα στα εντερικά κύτταρα σε ρετινόλη από την οποία στη συνέχεια προκύπτει η ρετινόλη. Η ρετινόλη συνδέεται με την ειδική τύπου II πρωτεΐνη (CRBP-II) και εστεροποιείται στους εστέρες της ρετινόλης που στη συνέχεια μαζί με άλλα λιπίδια σχηματίζουν χυλομικά και απελευθερώνονται στο λεμφικό σύστημα και από εκεί στη συστηματική κυκλοφορία. Τα χυλομικά απορροφώνται στο ήπαρ από τα ηπατικά κύτταρα. Ο ηπατικός μεταβολισμός της βιταμίνης Α διευκολύνεται από τη λεκθίνη-ρετινόλη ακετυλοτρανσφεράση (LRAT) η οποία εστεροποιεί τη ρετινόλη με λιπαρά οξέα μακρών αλύσεων, ενώ οι υδρολάσες (REH) υδρολύουν τους εστέρες σε ρετινόλη. Μέσα στα ηπατικά κύτταρα και τα αστεροειδή κύτταρα η ρετινόλη συνδέεται με την ειδική

τύπου I πρωτεΐνη (CRBP-I). Η CRBP-I θεωρείται πως μεταφέρει τη ρετινόλη στη νεοσυσταθείσα πρωτεΐνη RBP. Το σύμπλεγμα RBP-ρετινόλης εκκρίνεται στην κυκλοφορία για να ικανοποιήσει τις ανάγκες των ιστών για βιταμίνη Α (σχήμα από Bioessays 2001;23:409-419).

Η δράση της βιταμίνης Α στον καρκίνο

Η σύνδεση μεταξύ της βιταμίνης Α και της ανάπτυξης του καρκίνου έγινε αμέσως μετά την ανακάλυψη της βιταμίνης και της χημικής της δομής. Οι Wolbach και Howe σε πιλοτικές μελέτες το 1925 έδειξαν πως η έλλειψη της βιταμίνης Α ανέστειλε τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων⁷⁹. Μεταξύ του 1950-1960 μια σειρά μελετών έδειξε πως η έλλειψη της βιταμίνης Α ευθύνονταν για την αύξηση των αυτόματων και προκλητών καρκίνων στα ζώα⁷⁹⁻⁸².

Επιπλέον μεταξύ του 1950-1960 μια σειρά μελετών ανέφερε πως η εξωγενής χορήγηση της βιταμίνης Α μείωσε την επίπτωση του πειραματικά προκαλούμενου καρκίνου στα ζώα⁸³⁻⁸⁵. Κατά την περίοδο αυτή καταβάλλεται μεγάλη προσπάθεια για την ανακάλυψη των φυσιολογικών μεταβολισμών της βιταμίνης Α και τον τρόπο κυκλοφορίας της στον οργανισμό. Αυτές οι μελέτες έδειξαν τον πρωταγωνιστικό ρόλο του ήπατος στην αποθήκευση και τη μεταφορά της βιταμίνης Α στο κυκλοφορικό σύστημα. Οι μελέτες αυτές απέδειξαν πως το οξύ της βιταμίνης Α δηλαδή το ρετινοϊκό οξύ είναι το πιο σημαντικά ενεργό ρετινοειδές. Η ρετινόλη κυκλοφορεί στο πλάσμα ως σύμπλοκο με ειδική πρωτεΐνη. Προσλαμβάνεται από τα κύτταρα και συνδέεται με ειδική ενδοκυττάρια πρωτεΐνη με την οποία και μεταφέρεται σε διάφορα σημεία του κυττάρου για να μετατραπεί σε ρετινοϊκό οξύ.

Μία θεμελιώδης παρατήρηση έγινε από τους Strickland και Mahdani το 1978 οι οποίοι υποστήριξαν πως το ρετινοϊκό οξύ μπορεί να προάγει τη διαφοροποίηση των κυττάρων του τερατοκαρκινώματος *in vitro* και *in vivo*⁸⁶. Την ίδια χρονική περίοδο

οι Nicholson και Lotan εδραίωσαν τη γνώση πως το ρετινοϊκό οξύ εμποδίζει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων σε καλλιέργειες⁸⁷. Το 1980-1981 ο Breitman και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν πως το ρετινοϊκό οξύ μπορεί να προκαλέσει τη διαφοροποίηση κακοήθων λευχαιμικών κυττάρων, ενώ μπορεί ακόμη να προάγει τη διαφοροποίηση λευχαιμικών κυττάρων από ασθενείς με προμυελοκυτταρική αναιμία σε ώριμα κοκκιοκύτταρα⁸⁸⁻⁸⁹.

Όλες αυτές οι παρατηρήσεις χρησιμοποιήθηκαν στην κλινική πράξη το 1988 όταν οι Huang και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν το ρετινοϊκό οξύ στη θεραπεία ασθενών με προμυελοκυτταρική αναιμία⁹⁰. Κατά τη χρονική περίοδο 1985-1995, έγιναν διάφορες μελέτες για τη αποτελεσματικότητα του σε ποικιλία καρκίνων. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες ανέφεραν πως το ρετινοϊκό οξύ, συνήθως το 13 cis, είχε μικρή ή και καθόλου ανταπόκριση. Μόνη εξαίρεση ήταν μελέτη των Lippman και συνεργατών του που ανέφερε πως το ρετινοϊκό οξύ μείωσε την επίπτωση των δεύτερων πρωτοπαθών όγκων σε ασθενείς με πρωτοπαθείς όγκους κεφαλής τραχήλου που είχαν χειρουργηθεί⁹¹. Δε μείωσε όμως την πρόοδο ή την επίπτωση της υποτροπής του ίδιου του πρωτοπαθούς όγκου. Έτσι φαίνεται πως το ρετινοϊκό οξύ δρα ως χημειοπροστατευτικός παράγοντας παρά ως χημειοθεραπευτικός.

Η βιταμίνη Α και ο καρκίνος του πνεύμονα

Οι επιδημιολογικές μελέτες που αφορούσαν τη χρήση ερωτηματολογίων για την κατανάλωση των ρετινοειδών και η μέτρηση των ιχνοστοιχείων στο περιφερικό

αίμα καλλιέργησαν την προσδοκία για πιθανή προστατευτική δράση των ρετινοειδών στον καρκίνο του πνεύμονα. Αυτά σε συνδυασμό με μία δημοσίευση το 1981 ώθησαν στην πραγματοποίηση δύο μεγάλων μελετών: της ATBC στη Φιλανδία και της CARET στις ΗΠΑ που έγιναν αρκετά χρόνια μετά.

Η CARET μελέτη το 1996 δοκίμασε το συνδυασμό 30 mg β-καρωτένιου και 25000 IU παλμιτικής ρετινόλης καθημερινά σε σχέση με placebo σε 18314 άνδρες και γυναίκες ηλικίας 50-69 ετών υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα ²⁻³. Οι ομάδες υψηλού κινδύνου αποτελούνταν από 14254 καπνιστές με κατανάλωση τσιγάρων 20 pack years (πακέτα τσιγάρων ημερησίως επί έτη καπνίσματος), που είτε συνέχιζαν να καπνίζουν είτε είχαν διακόψει το κάπνισμα τα προηγούμενα 6 χρόνια και από 4060 άτομα με επαγγελματική έκθεση στον αμίαντο καπνιστές και μη καπνιστές (μέχρι 15 χρόνια από την απομάκρυνση τους από το εργασιακό περιβάλλον). Η μελέτη σταμάτησε 21 μήνες νωρίτερα επειδή δεν υπήρχε ένδειξη οφέλους ενώ αντίθετα υπήρχε ένδειξη πρόκλησης βλαβερών συνεπειών. Συγκεκριμένα υπήρξε αύξηση των καρκίνων του πνεύμονα κατά 28% και αύξηση των θανάτων κατά 17% στα άτομα που έγινε η παρέμβαση. Ο σχετικός κίνδυνος ήταν 1,36 (95%CI =1.07-1.73) για την ομάδα της παρέμβασης συγκριτικά με την ομάδα του placebo ενώ ο σχετικός κίνδυνος αντίστοιχα της θνητότητας από τον καρκίνο του πνεύμονα ήταν 1,59(95%CI =1.13-2.23). Επειδή η CARET μελέτη χρησιμοποιούσε συνδυασμό ουσιών δεν κατέστη δυνατό να ελεγχθεί για το αν αυτές οι παρενέργειες οφείλονταν στο β-καρωτένιο, την παλμιτική ρετινόλη ή τον συνδυασμό αυτών των δύο.

Τα παραπάνω αποτελέσματα ήταν όμοια με τα αποτελέσματα της ATBC μελέτης που έγινε το 1994 σε επίσης υψηλού κινδύνου πληθυσμό και η οποία χορηγούσε 20 mg β-καρωτένιου με ή χωρίς 50 mg α-τοκοφερόλης για 5-8 χρόνια σε 29133

Φιλανδούς ηλικίας 50-69 που κάπνιζαν 5 ή περισσότερα τσιγάρα ημερησίως. Δεν υπήρξε αποτέλεσμα όσον αφορά τη χορήγηση α- τοκοφερόλης στην επίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα, ενώ αντίθετα η χορήγηση β-καρωτενίου επέφερε αύξηση στην επίπτωση του. Το αρνητικό αυτό αποτέλεσμα φάνηκε να είναι πιο ισχυρό μεταξύ των πιο δυνατών καπνιστών που κάπνιζαν τουλάχιστο 20 τσιγάρα ημερησίως, και ακόμη σε αυτούς που καταναλώναν μεγάλες ποσότητες αλκοόλ. Επομένως και οι δύο μελέτες κατέληξαν πως η χορήγηση β-καρωτενίου σε καπνιστές αύξησε τον κίνδυνο του καρκίνου του πνεύμονα και αυτό ερμηνεύτηκε με την πιθανή προοξειδωτική ικανότητα των συμπληρωμάτων που πιθανόν να προκαλούν ζημιά στο DNA ή αστάθεια στις μεμβράνες.

Έχουν διεξαχθεί και άλλες μελέτες στα πλαίσια της διερεύνησης για την πιθανή δράση του β-καρωτενίου στην πρωτοπαθή χημειοπροστασία του πνεύμονα. Η Physicians Health Study(2000) η οποία χρησιμοποίησε 50 mg β-καρωτένιο και 325 mg ακετυλοσαλικυλικό οξύ δεν έδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στην επίπτωση όλων των καρκίνων ή ειδικά στην επίπτωση του καρκίνου πνεύμονα⁹². Η Women's Health Study σχεδιάστηκε για να μελετήσει τη δράση του β-καρωτενίου, της ασπιρίνης και της βιταμίνης E στις καρδιαγγειακές παθήσεις και τον καρκίνο του πνεύμονα⁹³. Μετά τη δημοσίευση των άλλων μελετών η χορήγηση του β-καρωτενίου σταμάτησε. Πάντως στα 2,1 έτη της χορηγήσεως και στην επιπλέον παρακολούθηση των 2 ετών δεν υπήρξε αύξηση των κρουσμάτων του καρκίνου του πνεύμονα ή της θνητότητας αντίστοιχα από την ίδια αιτία.

Όσον αφορά μελέτες για τη δράση των ρετινοειδών στη δευτεροπαθή χημειοπροστασία (άτομα με ιστολογικές ενδείξεις πρώιμης νόσου, μεταπλασία, δυσπλασία, καρκίνωμα in situ) δεν υπάρχουν μελέτες που να χρησιμοποιούν την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα ως σημείο αναφοράς. Υπάρχουν τουλάχιστον πέντε

μικρές τυχαιοποιημένες μελέτες για τη δευτεροπαθή χημειοπροστασία με χρήση ρετινοειδών, β-καρωτενίου και ρετινόλης σε συνδυασμό με βιταμίνη B12 και φυλικό οξύ για 6 μήνες⁹⁴. Όλες αυτές οι μελέτες είχαν όμως ως τελικό σημείο αναφοράς τη βρογχική επιθηλιακή μεταπλασία ή την κυτταρική ατυπία στα πτύελα και όχι την ανάπτυξη του καρκίνου του πνεύμονα όπως προαναφέρθηκε.

Τέλος για την τριτοπαθή χημειοπροστασία του καρκίνου του πνεύμονα (άτομα με καρκίνο του πνεύμονα που έχουν λάβει θεραπεία με σκοπό την ίαση) οι μελέτες που έχουν γίνει είχαν ως τελικό στόχο την εμφάνιση ή όχι *δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου*. Τα αποτελέσματα τους όσον αφορά τη χρήση του β-καρωτενίου στην ανάπτυξη δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου φαίνεται να είχαν από ουδέτερη ως αρνητική συσχέτιση.

Φαίνεται επομένως για όλες τις βαθμίδες της χημειοπροστασίας από όλες τις μελέτες πως η χρήση των ρετινοειδών όπως έγινε με τη χορήγηση συμπληρωμάτων δεν ωφελεί, ενώ αντίθετα η χρήση τους σε ασθενείς υψηλού κινδύνου όπως αυτοί που συνεχίζουν να καπνίζουν αυξάνει τον κίνδυνο για καρκίνο του πνεύμονα.

Ο μηχανισμός δράσης των ρετινοειδών στον καρκίνο του πνεύμονα

Όλα τα είδη των ρετινοειδών οφείλουν να δοκιμαστούν στις μελέτες για τη χημειοπροστασία του καρκίνου του πνεύμονα. Ένας τρόπος προσέγγισης για την εκτίμηση της δράσης των υποψήφιων χημειοπροστατευτικών παραγόντων είναι η δοκιμασία τους σε σχετικά προκλινικά μοντέλα της πνευμονικής καρκινογένεσης. Αυτά τα μοντέλα περιλαμβάνουν *in vitro* κυτταρικά μοντέλα, πειραματικά μοντέλα σε ζώα με πρόκληση πνευμονικών καρκίνων με ειδικά καρκινογόνα, όπως επίσης γενετικά τροποποιημένα ποντίκια που αναπτύσσουν καρκίνο του πνεύμονα. Η βαθιά γνώση

που θα αποκτηθεί από αυτά τα μοντέλα θα βοηθήσει στη διεξαγωγή των κλινικών μελετών⁹⁵⁻⁹⁷.

Ο μετασχηματισμός των επιθηλιακών κυττάρων *in vitro* μπορεί να αναχαιτιστεί με τη θεραπεία με ρετινοειδή⁹⁵. Το BEAS-2B μονιμοποιημένο ανθρώπινο βρογχικό επιθηλιακό κύτταρο χρησιμοποιήθηκε για την έρευνα καρκινογόνων μηχανισμών που σχετίζονται με το κάπνισμα. Τα κύτταρα αυτά μετασχηματίστηκαν μετά από έκθεση στα εξής καρκινογόνα: συμπύκνωμα καπνού τσιγάρου ή N-νιτροσαμινο-4-(μεθυλνιτροσαμινο)-1-(3 πυριδιλ)-1 μπουτανόνη (NNK)⁹⁵. Η θεραπεία με ρετινοϊκό οξύ αναχαίτισε τη μετατροπή των βρογχικών αυτών κυττάρων σε καρκινικά, μετατροπή που οφείλονταν στην επίδραση των καρκινογόνων ουσιών. Αυτό το χημειοπροστατευτικό αποτέλεσμα αποδόθηκε στην παύση των κυττάρων στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου, την επακόλουθη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, και τη μείωση της έκφρασης των G1 πρωτεϊνών. Η παύση αυτή φαίνεται να επιτυγχάνεται μέσω ενός μηχανισμού μετά τη μετάφραση. Οι αναστολές της οδού της εκφύλισης που εξαρτάται από την πρωτεασώμη αναχαιτίζουν την καταστολή των G1 πρωτεϊνών που επιτυγχάνεται από τα ρετινοειδή. Θεωρήθηκε πως η παύση αυτή των κυττάρων στη φάση αυτή έδινε το χρόνο για την επιδιόρθωση της ζημιάς του DNA που είχε προκληθεί από τα καρκινογόνα. Αυτός πιθανόν να είναι ένας κοινός μηχανισμός των ρετινοειδών ο οποίος καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων ενώ παράλληλα ενεργοποιεί τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων.

Όταν φυσιολογικά μονιμοποιημένα κύτταρα ή καρκινογόνα κύτταρα επεξεργάστηκαν με ρετινοειδή επιλεκτικά για τους υποδοχείς τους, οι αγωνιστές των RARβ και RXR υποδοχέων πυροδότησαν την καταστολή των κυττάρων, ενώ οι RARα και RARγ αγωνιστές δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα⁹⁸. Τα καρωτενοειδή ήταν ανίκανα να αναχαιτίσουν την έκφραση της D1 πρωτεΐνης ή να ενεργοποιήσουν την οδό της

εκφύλισης που εξαρτάται από την πρωτεασώμη. Οι RARβ και RXR αγωνιστές, σε αντίθεση με άλλους επιλεκτικούς αγωνιστές επάγουν την πρωτεόλυση μέσω της πρωτεασώμης, η οποία παλαιότερα φαινόταν να προκαλείται από τη θεραπεία με το ρετινοϊκό οξύ. Αν αυτή η χημειοπροστατευτική δράση ενεργοποιείται και *in vivo* κατά τη διάρκεια κλινικών μελετών είναι αντικείμενο τρεχουσών εργασιών. Από μικροαναλύσεις φάνηκε επίσης ο σημαντικός ρόλος των ρετινοειδών στη διαδικασία της εκφύλισης των κυττάρων⁹⁸. Τα γονίδια στόχοι των ρετινοειδών μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια διαφοροποίησης λευχαιμικών κυττάρων. Ένα αποτέλεσμα που βρέθηκε από τη θεραπεία με ρετινοειδή ήταν η ενεργοποίηση της οδού της πρωτεόλυσης. Αυτά και άλλα ευρήματα ήταν σύμφωνα με την άποψη ότι η προαγωγή της απόπτωσης με τη θεραπεία με ρετινοειδή σχετίζεται άμεσα με την αναχαίτιση στη φάση G1 και την πρόοδο της διαφοροποίησης των κυττάρων.

Μία πρόβλεψη από αυτές τις μελέτες για τη χημειοπροστασία των βρογχικών επιθηλιακών κυττάρων είναι πως είτε η D1 είτε η E πρωτεΐνη εκκρίνεται υπερβολικά στις προνεοπλασματικές καταστάσεις του βρογχικού επιθηλίου. Οι ιστοί του βρογχικού επιθηλίου με προνεοπλασματικές εξαλλαγές έχουν ελεγχθεί και για την έκκριση της G1. Έγινε η υπόθεση πως η έκφραση αυτών των πρωτεϊνών απορυθμίζεται στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης. Η άφθονη έκκριση της D1 και της E βρέθηκε να είναι συχνή σε προνεοπλασματικές καταστάσεις του επιθηλίου και σε πλακώδη νεοπλάσματα⁹⁹. Η άφθονη έκφραση αυτών των πρωτεϊνών ήταν πολύ πιο συχνή από την p53 ή την έκφραση του γονιδίου Rb στο ρετινοβλάστωμα⁹⁹. Όλα αυτά τα ευρήματα ουσιαστικά εμπλέκουν την απορυθμισμένη έκφραση της G1 ως πιθανό δείκτη για τις μελέτες που αφορούν τη χημειοπροστασία του πνεύμονα. Ενδεχομένως αποτελεσματική θεραπεία με έναν αποτελεσματικό χημειοπροστατευτικό παράγοντα θα καταστείλει την έκρυθμη έκφραση της G1 στους ιστούς του πνεύμονα που είναι

υψηλού κινδύνου για κακοήγη μετατροπή. Μελλοντικές κλινικές μελέτες θα δείξουν για το αν όλα αυτά θα βρουν πρακτική εφαρμογή.

ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Τι είναι το οξειδωτικό stress –ελεύθερες ρίζες

Ελεύθερη ρίζα είναι ένα άτομο ή μία ομάδα ατόμων με ένα ή περισσότερα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τροχιά τους. Η οντότητα αυτή μπορεί να είναι είτε ουδέτερη είτε φορτισμένη. Το αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο των ελευθέρων ριζών είναι συνήθως εξαιρετικά ανταλλάξιμο που είναι η χημική και φυσική αιτία για τη δραστηριότητα και αστάθεια των περισσότερων ελευθέρων ριζών. Στην πραγματικότητα, μία ελεύθερη ρίζα με ένα αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο, ανάλογα με την αναγωγική/οξειδωτική της ικανότητα τείνει να αποσπά ένα ηλεκτρόνιο από ένα γειτονικό μόριο για να αποκτήσει δική της σταθερότητα, και το μόριο στόχος με τη σειρά του γίνεται μια καινούρια ρίζα. Υποστηρίζεται πως η δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών εξαρτάται από τη σχέση όγκου -επιφάνειας. Με αυτό το δεδομένο η ρίζα του υδροξυλίου (OH⁻) θεωρείται μια πολύ δραστήρια ρίζα¹⁰⁰.

Οι οξειδωτικές ρίζες γενικά ταξινομούνται με βάση το χημικό στοιχείο που έχει το αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τροχιά του. Αν δηλαδή η εξωτερική στοιβάδα μιας ελεύθερης ρίζας ανήκει στο χλώριο, η ελεύθερη ρίζα αναφέρεται ως ελεύθερη ρίζα χλωρίου. Οι βιολογικές ρίζες περιλαμβάνουν το οξυγόνο, τον άνθρακα, το άζωτο, και το χλώριο.

Στη βιολογία γενικά κεντρικό ρόλο παίζουν οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου. Είναι γνωστό πως το οξυγόνο αποτελεί το βασικό χημικό στοιχείο της ζωής, όμως σε ορισμένες περιπτώσεις όπως κατά τη διάρκεια της αναπνοής το οξυγόνο είναι ικανό να δημιουργήσει μία σειρά χημικά ενεργών ουσιών που θεωρούνται υπεύθυνες για το οξειδωτικό stress. Τέτοιες ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS) περιλαμβάνουν όχι μόνο τις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου όπως τη ρίζα του υδροξυλίου (HO^\cdot) και τη ρίζα του σουπεροξειδίου (O_2^\cdot), αλλά και άλλες οντότητες χωρίς αζευγάρωτα ηλεκτρόνια όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και τη μονή ρίζα του οξυγόνου ($^1\text{O}_2^\cdot$). Όλες οι ROS έχουν κοινή ικανότητα να αποσπούν ένα ηλεκτρόνιο από ένα μόριο στόχο και αυτό χημικά ονομάζεται οξείδωση. Επομένως οι ROS προκαλούν οξείδωση και για αυτό δρουν ως οξειδωτικά. Στους ζωντανούς οργανισμούς μπορούν να οξειδώσουν όλα τα οργανικά μόρια όπως υδρογονάνθρακες, λιπίδια, αμινοξέα, πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια και άλλα προκαλώντας μια σειρά βιοχημικών αλλαγών υπεύθυνων για τις βλάβες του οξειδωτικού stress που συμβαίνουν συνεχώς κατά τη διάρκεια της ζωής¹⁰¹.

Τόπος παραγωγής των οξειδωτικών ριζών

Μέσα στα κύτταρα οι ROS παράγονται κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής μεταβολικής δραστηριότητας είτε αυθόρμητα είτε ως αποτέλεσμα αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα ή από μέταλλα μεταφορείς όπως σίδηρος ή χαλκός. Σε κάποιες περιπτώσεις, κάποιοι εξωγενείς παράγοντες είναι ικανοί να αυξήσουν την παραγωγή των ελευθέρων ριζών¹⁰².

Η κυτταρική μεμβράνη εμπλέκεται στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών κυρίως κατά τη διάρκεια φλεγμονής και λοιμώξεων. Στα ουδετερόφιλα η μεμβράνη τους

φιλοξενεί όχι μόνο την οξειδάση του NADPH η οποία καταλύει τη δημιουργία ανιόντων σουπεροξειδίου αλλά και το σύστημα της λιποξυγενάσης η οποία δημιουργεί ποικίλα υδροϋπεροξειδία (ROOH) ως ενδιάμεσα συστατικά.

Τα μιτοχόνδρια είναι κύρια πηγή οξειδωτικών ριζών γιατί σε αυτά βρίσκεται η αλυσίδα των αναπνευστικών ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την οξειδωτική φωσφορυλίωση . Στην πραγματικότητα η μεταφορά ηλεκτρονίων δεν καταλήγει αποκλειστικά στη δημιουργία του μορίου του νερού ενώ μικρά αλλά σημαντικά ποσά των ηλεκτρονίων (1-2%) μεταφέρονται από τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας κατευθείαν στο μοριακό οξυγόνο δημιουργώντας ανιόντα σουπεροξειδίου ή ρίζες υδροξυλίου ή υπεροξειδία του υδρογόνου. Έχει υπολογιστεί πως κατά τη διάρκεια σημαντικής άσκησης στους σκελετικούς μυς το ποσό των ηλεκτρονίων που διαφεύγει κατά αυτόν τον τρόπο μπορεί να μειώσει άμεσα το 15% του μιτοχονδριακού οξυγόνου.

Τα υπεροξεισωμάτια είναι ακόμη οργανύλια μέσα στα οποία αναπτύσσονται ελεύθερες ρίζες. Συγκεκριμένα, μέσα σε αυτά τα οργανύλια τα λιπαρά οξέα υφίστανται μια ειδική οξειδωτική διαδικασία. Στο πρώτο στάδιο αυτής της διαδικασίας μια φλαβοπρωτεΐνη αφαιρεί ένα ζευγάρι ατόμων υδρογόνου από ένα μόριο ενεργοποιημένου λιπαρού οξέος(acyl-CoA). Τα δύο άτομα υδρογόνου μεταφέρονται απευθείας στο μοριακό οξυγόνο και παράγεται το υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο ενεργός παραγωγή ριζών γίνεται μέσω του κυτοχρώματος P₄₅₀ που είναι γνωστό πως παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αποτοξίνωσης. Το κυτόχρωμα P₄₅₀ είναι μια αιμοπρωτεΐνη που μπορεί και καταλύει αντιδράσεις υδροξυλίωσης για την παραγωγή ενεργών οξειδωτικών ριζών.

Είναι σημαντικό ότι σε κάθε σημείο του κυττάρου, η παραγωγή των ριζών έχει μια ειδική λειτουργία, όχι μόνο στο μεταβολισμό του κυττάρου αλλά και σε άλλες διαδικασίες όπως οι λοιμώξεις και οι φλεγμονές. Έτσι ως παράδειγμα σουπεροξειδία και άλλες ρίζες παράγονται στην κυτταρική μεμβράνη των ουδετεροφίλων, επιτίθενται στα μικρόβια, και τα εξασθενούν ώστε να φαγοκυτταρωθούν και να καταστραφούν ολοκληρωτικά πιο εύκολα. Σε αυτή την ανοσολογική απόκριση περιλαμβάνονται εκτός από τα μικρόβια και ξένα βιολογικά υλικά όπως μεταμοσχευθέντα όργανα ή ιστοί. Τα λευκοκύτταρα μεταναστεύουν εκεί, ενεργοποιούνται, και βομβαρδίζουν τα τραυματισμένα κύτταρα με ελεύθερες ρίζες¹⁰³. Επιπλέον οι ελεύθερες ρίζες είναι απαραίτητα ενδιάμεσα στοιχεία στον κυτταρικό μεταβολισμό. Η παραγωγή τους είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ανθρώπινη ζωή, ενώ επηρεάζεται και από εξωγενείς παράγοντες. Διάφοροι φυσικοί, χημικοί ή βιολογικοί παράγοντες μπορούν να πυροδοτήσουν την έναρξη της παραγωγής τους, ενώ μπορούν ακόμη και να την αυξήσουν. Η ιονίζουσα και η UV ακτινοβολία αποτελούν παράδειγμα φυσικού παράγοντα που ευνοεί την παραγωγή ελευθέρων ριζών με τη ραδιόλυση και φωτόλυση αντίστοιχα του νερού που είναι βασικό συστατικό των ζωντανών οργανισμών. Το όζον αποτελεί χημικό παράγοντα παραγωγής ριζών υδροϋπεροξειδίων δρώντας πάνω σε συστατικά που προέρχονται από τη φαινόλη. Άλλοι χημικοί παράγοντες όπως οι αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες και μερικά φάρμακα δρουν μέσω έμμεσου μηχανισμού, συγκεκριμένα μέσω ενεργοποίησης του κυτοχρώματος P₄₅₀. Τέλος παράδειγμα βιολογικού παράγοντα παραγωγής ριζών είναι τα βακτήρια και άλλοι μολυσματικοί παράγοντες και μερικά αντισώματα¹⁰³.

Το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα.

Οι ελεύθερες ρίζες (ROS) αποτελούν δυνητικά επικίνδυνους παράγοντες, εναντίον των οποίων δρα το αμυντικό σύστημα. Το σύστημα αυτό περιλαμβάνει ένζυμα, βιταμίνες, μικροστοιχεία, και άλλα. Η διάκριση τους γίνεται με βάση την προέλευση τους, εξωγενή ή ενδογενή, τη διαλυτότητα τους, υδρόφιλα ή υδρόφοβα, και τη χημική τους φύση, ενζυματική ή μη ενζυματική. Καλύτερη ταξινόμηση των παραγόντων του αμυντικού συστήματος γίνεται με βάση τον τρόπο δράσης τους: αναχαιτιστές των αντιοξειδωτικών, εκκαθαριστές των ελευθέρων ριζών, παράγοντες επανόρθωσης, και ρυθμιστικοί παράγοντες.

Στους αναχαιτιστές των ROS ανήκει η τρανσφερίνη, η λακτοφερίνη, η απτογλομίνη, η σερουλοπλασμίνη, η αλβουμίνη. Στους εκκαθαριστές των ROS ανήκουν τα καρωτενοειδή, η υπεροξειδική δισμουτάση, οι καταλάσες, οι γλουταθειονικές υπεροξειδάσες, και η γλουταθειονική τρανσφεράση. Στους εκκαθαριστές των ελευθέρων ριζών ανήκουν ακόμη το ασκορβικό άλας, το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη, η αλβουμίνη, η τοκοφερόλη, τα καρωτενοειδή. Στους επισκευαστικούς παράγοντες του αμυντικού οξειδωτικού συστήματος ανήκουν διάφορα ένζυμα όπως λιπάσες, πρωτεάσες, τρανσφεράσες, και ένζυμα επισκευής του DNA¹⁰⁴.

Το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα κατανέμεται ισότιμα μέσα σε ένα ζωντανό οργανισμό. Στο εξωκυττάριο τμήμα και συγκεκριμένα στο πλάσμα όλα τα στοιχεία που είναι ικανά να δώσουν άτομα υδρογόνου, ή ηλεκτρόνια για να ικανοποιήσουν την ανάγκη των ελευθέρων ριζών, αποτελούν κομμάτι του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος. Σε αυτό περιλαμβάνονται η αλβουμίνη, η χολερυθρίνη, το ουρικό οξύ και όλα τα εξωγενώς χορηγούμενα διαιτητικά ή φαρμακολογικά αντιοξειδωτικά όπως το ασκορβικό άλας, η τοκοφερόλη, τα βιοφλανοειδή.

Ενδοκυττάρια το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα κατανέμεται ισότιμα στις μεμβράνες και στο κυτταρόπλασμα. Επειδή η πλειοψηφία των ελευθέρων ριζών παράγεται σε τμήματα που υπάρχουν λιπίδια, τα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά (βιταμίνη E, β-καρωτένιο) εντοπίζονται στις μεμβράνες και αποτελούν την πρώτη γραμμή του αμυντικού συστήματος. Στις μετέπειτα γραμμές του αμυντικού συστήματος ανήκει η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C, μερικά μέλη του συμπλέγματος βιταμινών B, βιοφλαβονοειδή, και αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η γλουταθειονική υπεροξειδάση και ρεδοκτάση και τα συνένζυμα τους ή τα προσθετικά στοιχεία όπως το σελήνιο, η δισμουτάση του σουπεροξειδίου, και οι καταλάσες¹⁰⁵.

Παθοφυσιολογία του οξειδωτικού stress

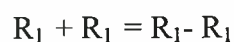
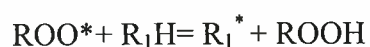
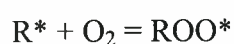
Το οξειδωτικό stress ορίζεται ως το χημικό stress που δημιουργείται από την υπερβολική παρουσία ελευθέρων ριζών που οφείλεται στην υπερβολική παραγωγή αυτών και, ή την αδυναμία του ζωντανού οργανισμού να εξουδετερώσει τις ρίζες αυτές που έχουν με οποιοδήποτε τρόπο παραχθεί. Η άνιση αυτή σχέση μεταξύ οξειδωτικού και αμυντικού συστήματος καταλήγει σε μια σειρά λειτουργικών και δομικών κυτταρικών αλλαγών οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν το κύτταρο σε απόπτωση ή νέκρωση. Όταν αυτές οι βλάβες μεταφέρονται από το κυτταρικό στο ιστικό επίπεδο, τότε είναι υπεύθυνες για την πρόωμη γήρανση και διάφορα νοσήματα όπως εγκεφαλικά επεισόδια, εμφράγματα, σακχαρώδη διαβήτη, παχυσαρκία, ρευματοειδή αρθρίτιδα, νόσο του Crohn, νόσο του Parkinson και άλλα¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Βέβαια

δεν είναι πάντα δυνατό να εξακριβωθεί αν οι ελεύθερες ρίζες είναι η αιτία ή το αποτέλεσμα των βλαβών που παρατηρούνται.

Αυξημένη παραγωγή των ROS παρατηρείται μετά από έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία, περιβαλλοντική μόλυνση, βαρέα μέταλλα, κάπνισμα τσιγάρου, ή μετά από υπερβολική άσκηση ή το αντίθετο υπερβολικά καθιστική ζωή. Η μειωμένη πρόσληψη ή και η μειωμένη σύνθεση ή η αυξημένη κατανάλωση αντιοξειδωτικών ουσιών είναι καταστάσεις υπεύθυνες για τη δημιουργία οξειδωτικού stress λόγω μειωμένης αντιοξειδωτικής άμυνας. Η αυξημένη ποσότητα των ROS είναι ικανή να δράσει σε οποιοδήποτε κυτταρικό στοιχείο προκειμένου να του αφαιρέσει ηλεκτρόνια για να αποκτήσει τη σταθερότητα της. Αυτή η διαδικασία πυροδοτεί μια αλυσιδωτή αντίδραση και αν αυτή η διαδικασία δεν αναχαιτιστεί θα καταλήξει σε λειτουργική ή δομική βλάβη του κυττάρου¹⁰⁹.

Ένας πολύ καλά μελετημένος και σημαντικός μηχανισμός που εμπλέκεται στην κυτταρική και ιστική βλάβη είναι αυτός που αφορά την παραγωγή υδροϋπεροξειδίων (ROOH). Αυτά τα συστατικά ανήκουν στους ενεργούς μεταβολίτες του οξυγόνου (ROMs). Το πρώτο βήμα στη δημιουργία των υδροϋπεροξειδίων είναι η επίθεση ενός βιομορίου από μια ελεύθερη ρίζα. Μέσα στα κύτταρα η πιο επικίνδυνη ρίζα είναι η ρίζα του υδροξυλίου (OH[•]). Όταν η αντιοξειδωτική κυτταρική άμυνα έχει αποτύχει η ρίζα του υδροξυλίου επιτίθεται σε ένα οργανικό μόριο (συμβολίζεται ως RH-) το οποίο μπορεί να είναι λιπίδιο, αμινοξύ, πρωτεΐνη, νουκλεοτίδιο με στόχο να αφαιρέσει ένα ηλεκτρόνιο για να αποκτήσει τη σταθερότητα της. Με αυτό τον τρόπο μία νέα ενεργός ρίζα με κεντρικό άτομο τον άνθρακα (R^{*}) δημιουργείται και ξεκινά μια αλυσιδωτή αντίδραση παραγωγής νέων ριζών. Με τη σειρά της η ρίζα αυτή αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο και παράγεται μια ρίζα υδροϋπεροξυλίου (ROO^{*}). Σε τρίτη φάση η ρίζα του

υδροϋπεροξυλίου μπορεί να αντιδράσει με ένα νέο οργανικό μόριο (R_1H) παράγοντας μια νέα ρίζα(R_1^*) και το υδροϋπεροξειδίο($ROOH$). Αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση που πυροδοτήθηκε από το OH^- θα τερματίσει όταν δύο R_1 ενωθούν να παράγουν R_1-R_1 ή όταν παρέμβει κάποιο αντιοξειδωτικό:



RH : οργανικό μόριο(λιπίδιο, αμινοξύ, πρωτεΐνη)

OH^- : ρίζα υδροξυλίου

R^* : ρίζα του άνθρακα

ROO^* : ρίζα υδροϋπεροξυλίου

R_1H : νέο οργανικό μόριο

$ROOH$: ρίζα υδροϋπεροξειδίου

R_1^* : νέα ενεργός ρίζα

Αν η αλυσιδωτή αντίδραση ξεκινήσει από κάποιο λιπαρό οξύ(όπως το αραχιδονικό οξύ) ως R , τότε θα σχηματιστεί η ρίζα υδροϋπεροξειδίου του λιπαρού οξέος. Τα λιπίδια των βιομεμβρανών είναι εξαιρετικοί στόχοι για τις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες. Η ρίζα του υδροϋπεροξυλίου του λιπιδίου έχει ρόλο κλειδί στην αλυσίδα των αντιδράσεων. Συγκεκριμένα αν κάποιος δότης ηλεκτρονίου($R-H$) βρεθεί μέσα στο βιολογικό υλικό, από τη ρίζα αυτή θα δημιουργηθεί ένα υδροϋπεροξειδίο του

λιπιδίου. Η παραγωγή ριζών από την οξειδωση των λιπιδίων μπορεί να αυξηθεί ακόμη περισσότερο παράγοντας μαλονδιαλδεϋδη (MDA) και αέρια πεντανίου ή αιθανίου αν βρεθούν άλλοι δότες υδρογονοκατιόντων μέχρι το αντιοξειδωτικό σύστημα να καταναλωθεί πλήρως¹¹⁰.

Επομένως τα υδροϋπεροξειδία δημιουργούνται μέσα στο κύτταρο, και σε αντίθεση με τις άλλες ελεύθερες ρίζες είναι περισσότερο σταθερές αλλά διατηρούν την οξειδωτική τους ικανότητα. Έτσι όταν βρεθεί στο δρόμο τους ένα ελεύθερο μέταλλο όπως σίδηρος ή χαλκός, πυροδοτείται η αντίδραση του Fenton και σχηματίζονται ρίζες αλκοξυλίου (RO*) ή ρίζες υδροϋπεροξυλίου (ROO*). Αυτές οι ενώσεις ενισχύουν το οξειδωτικό stress μέσα στο κύτταρο, ενώ τα κύτταρα αποβάλλουν τα υδροϋπεροξειδία μέσα στα βιολογικά υγρά όπως το πλάσμα του αίματος.

Μέσα στα βιολογικά υγρά τα υδροϋπεροξειδία φαίνεται όχι μόνο να ενισχύουν αλλά και να αποτελούν δείκτη της ζημιάς στους ιστούς, αφού εξακολουθούν και μέσα στο πλάσμα να διατηρούν την οξειδωτική τους ικανότητα. Με αυτή τους ικανότητα είναι ικανά να πυροδοτήσουν μια αλυσιδωτή αντίδραση αν βρεθεί κάποιο μέταλλο όπως ο σίδηρος για να δράσει ως καταλύτης. Ο σίδηρος σχηματίζει όπως είναι γνωστό χηλικές ενώσεις με ειδικές πρωτεΐνες όπως η τρανσφερίνη. Σε κάποιες καταστάσεις όπως σε οξειδωση, το άτομο του σιδήρου είναι δυνατό να απελευθερωθεί και να δράσει ως καταλύτης στην αντίδραση Fenton και να παράγει όπως ακριβώς μέσα στο κύτταρο ρίζες αλκοξυλίου και υδροϋπεροξυλίου. Με τη σειρά τους οι ρίζες μπορούν να επιτεθούν στις LDL λιποπρωτεΐνες και στα ενδοθηλιακά κύτταρα επιδεινώνοντας το οξειδωτικό stress. Όλη αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση που οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών θα συνεχίσει όσο υπάρχει μοριακό οξυγόνο και δεν υπάρχουν αντιοξειδωτικά για να σταματήσουν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις¹¹¹.

Η επιδείνωση της οξειδωτικής ισορροπίας δεν παρατηρείται μόνο στις οξείες ή τις χρόνιες φλεγμονές αλλά μπορεί να συμβεί και κατά τη διάρκεια επανοξυγόνωσης υποξαιμικών ιστών όπως μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Έχουν περιγραφεί πάνω από 50 παθήσεις που σχετίζονται με το οξειδωτικό stress όπως η αρτηριοσκλήρυνση, ο διαβήτης, η νόσος του Parkinson, η νόσος του AIDS και άλλες¹¹²⁻¹¹⁴.

Οξειδωτικό stress και πνεύμονας

Ο πνεύμονας αποτελεί μεταξύ των άλλων οργάνων ένα εξαιρετο στόχο για το οξειδωτικό stress λόγω της άμεσης έκθεσης του στις υψηλές πιέσεις οξυγόνου. Είναι γνωστό πως η μερική πίεση του οξυγόνου στις κυψελίδες είναι πολύ υψηλότερη συγκριτικά με άλλα ζωτικά όργανα όπως καρδιά, ήπαρ και εγκέφαλος. Η πίεση του οξυγόνου στον εισπνεόμενο αέρα είναι 150 mmHg, μέσα στις κυψελίδες μειώνεται στα 100 mmHg, ενώ στο φλεβικό αίμα φθάνει στα 45mmHg και τέλος καταλήγει στο 1 mmHg στους ιστούς ορισμένων οργάνων. Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του πνεύμονα είναι η μεγάλη επιφάνεια του, περίπου 70 m² στον ενήλικα.

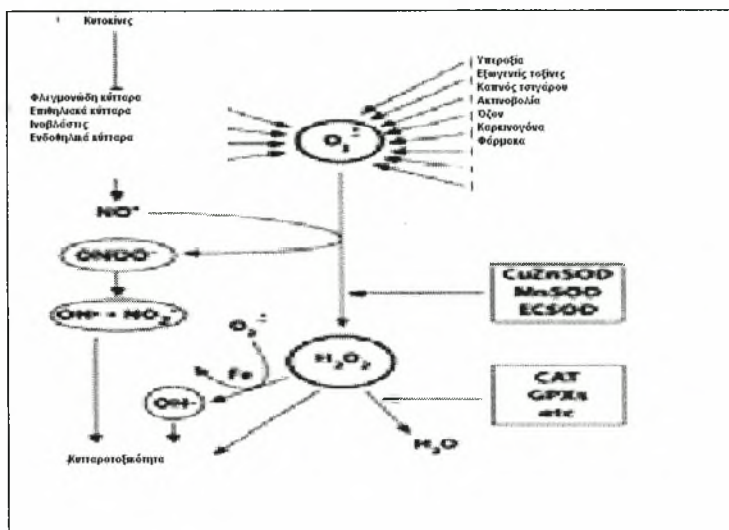
Λόγω της άμεσης έκθεσης στον ατμοσφαιρικό αέρα, τα κύτταρα του πνεύμονα υφίστανται οξειδωτικό stress από τα ερεθιστικά του περιβάλλοντος όπως ο καπνός του τσιγάρου, το όζον, το διοξείδιο του αζώτου και του θείου. Επιπλέον τα φλεγμονώδη κύτταρα που εμφανίζονται στις περισσότερες παθήσεις του πνεύμονα, παράγουν και απελευθερώνουν ελεύθερες ρίζες. Η οξυγονοθεραπεία επίσης προκαλεί με τον ίδιο μηχανισμό βλάβη στον πνεύμονα κατά την αντιμετώπιση της προωρότητας των νεογνών, και στην αναπνευστική ανεπάρκεια του μη καρδιογενούς πνευμονικού οιδήματος (ARDS). Επιπλέον, ορισμένες θεραπείες όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, με τον

πνεύμονα να είναι το πιο συχνά εμπλεκόμενο όργανο. Επομένως ο πνεύμονας αποτελεί το μοναδικό όργανο που είναι άμεσα εκτεθειμένο όχι μόνο στις υψηλές πιέσεις οξυγόνου και τα οξειδωτικά του περιβάλλοντος, αλλά και στα οξειδωτικά που παράγονται κατά τη διάρκεια διαφόρων παθήσεων του πνεύμονα και των θεραπειών του.

Η πρώτη ενεργός ρίζα οξυγόνου που παράγεται είναι το ανιόν του σουπεροξειδίου, το οποίο λαμβάνει μέρος στην παραγωγή άλλων ενεργών μεταβολιτών όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου(H_2O_2), τη ρίζα του υδροξυλίου, και το υπεροξείδιο του αζώτου(σχήμα1). Τα περισσότερα ζωντανά κύτταρα, όπως και αυτά του πνεύμονα, παράγουν ελεύθερες ρίζες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες χωρίς την παρουσία ενζύμου με αυτοοξείδωση. Κύριες πηγές παραγωγής ριζών οξυγόνου είναι η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσα στα μιτοχόνδρια, και τα οξειδωτικά ένζυμα που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και τις μεμβράνες(πχ συνθετάση του οξειδίου του αζώτου, οξειδάση της ξανθίνης κá)^{115,116}.

Τυπικές πηγές παραγωγής οξειδωτικών σε φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως στο βρογχικό άσθμα, περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυττάρων, την ενεργοποίηση της οξειδοαναγωγάσης του NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες, και την ενεργοποίηση της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Ο μεταβολισμός στα μιτοχόνδρια παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των κυττάρων στις καταστάσεις εκείνες που αυξάνει το οξειδωτικό stress. Το οξειδωτικό stress ευνοεί τη διάσπαση της αλυσίδας της μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, καταλήγοντας είτε στον τραυματισμό των κυττάρων (νέκρωση) είτε στον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Επομένως, ενεργές ρίζες οξυγόνου παράγονται με ποικίλους μηχανισμούς σε διάφορα κυτταρικά σημεία και παίζουν σημαντικό

ρόλο στην παθογένεια των παθήσεων του πνεύμονα εκεί που το οξειδωτικό stress αυξάνει.



Σχήμα 1: Τρόπος δημιουργίας ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) και ενεργών ριζών αζώτου(RNS) στον πνεύμονα. Η δημιουργία των ROS και RNS από περιβαλλοντικούς παράγοντες και από ποικίλα κύτταρα, και οι αρχικές αντιδράσεις του σουπεροξειδίου(O₂⁻), του υπεροξειδίου του υδρογόνου(H₂O₂), και του οξειδίου του αζώτου (NO⁻) για την παραγωγή ριζών που προκαλούν κυτταρική και ιστική καταστροφή. Οι περισσότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες δημιουργούν ROS είτε απευθείας είτε με την ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυττάρων με αποτέλεσμα στη συνέχεια την ενεργοποίηση της σύνθεσης του NO⁻ για την παραγωγή του NO[·] και άλλων RNS, και την ενεργοποίηση της μυελοϋπεροξειδάσης (MPO) για το σχηματισμό αλογονωμένων μεταβολιτών των ROS και RNS. Οι πιο σημαντικοί αμυντικοί μηχανισμοί που συνδέονται με τις προηγούμενες οδούς περιλαμβάνουν τις δισμουτάσες των σουπεροξειδίων, τις υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης και την καταλάση(σχήμα2) (σχήμα από το Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. Am J Respir Crit Care Med 2003;167, 1600-1619).

Τα οξειδωτικά εκτός από τις βλάβες που προκαλούν στο κύτταρο και στο DNA συμμετέχουν στην κυτταρική ομοιόσταση ενώ παράλληλα ρυθμίζουν την κυτταρική

ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό. Παράλληλα ενεργοποιούν παράγοντες της μετάφρασης όπως ο πυρηνικός παράγοντας κΒ (NF κΒ) που συνδέεται με την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων στον πνεύμονα. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα αποτελούν τον κύριο προστατευτικό μηχανισμό εναντίον της ζημιάς που προκαλείται από τις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες, ενώ διαδραματίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ασθενειών που σχετίζονται με την οξείδωση.

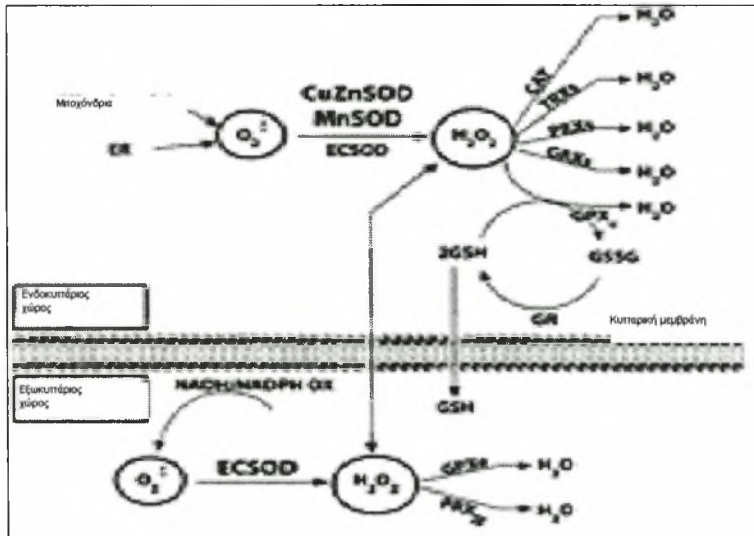
Το αντιοξειδωτικό σύστημα στον πνεύμονα.

Οι δισμουτάσες του σουπεροξειδίου (SODS) είναι τα μόνα ενζυματικά συστήματα που διασπούν τις ρίζες των σουπεροξειδίων σε H_2O_2 και θεωρείται ότι παίζουν όπως έχει προαναφερθεί σημαντικό ρόλο εναντίον του οξειδωτικού stress, ειδικά στον πνεύμονα ^{117,118}. Υπάρχουν τρία διαφορετικά είδη ανθρώπινων SODS: η ενδοκυττάρια χαλκού-ψευδαργύρου SOD(CuZnSOD)δισμουτάση, η μιτοχονδριακή μαγγανίου SOD(MnSOD)δισμουτάση και η εξωκυττάρια SOD(ECSOD) δισμουτάση ¹¹⁹⁻¹²¹. Οι SODS εντοπίζονται σε όλα τα κύτταρα του πνεύμονα σε διαφορετικά σημεία και με μεγάλη ποικιλία στην έκφραση τους.

Διάφοροι ενζυματικοί μηχανισμοί συμμετέχουν στον υποβιβασμό του H_2O_2 στον πνεύμονα(σχήμα 2). Οι πιο σημαντικοί εξουδετερωτές του H_2O_2 είναι η καταλάση, και οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης. Χαρακτηριστικό του αντιοξειδωτικού συστήματος στον ανθρώπινο πνεύμονα είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε γλουταθειόνη (περίπου 140 φορές υψηλότερη από αυτή στην κυκλοφορία), και επομένως η ίδια η γλουταθειόνη και τα ένζυμα που συνδέονται με τη διατήρηση της

αποτελούν ένα από τα βασικότερα αντιοξειδωτικά συστήματα του ανθρώπινου πνεύμονα^{106,122,123}. Τα διάφορα κύτταρα του πνεύμονα, παρουσιάζουν διαφορετική αντίσταση στο οξειδωτικό stress και αυτό συνδέεται μερικά με τη διαφορετική έκφραση από αυτά των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, για παράδειγμα εκκρίνουν CuZnSOD, MnSOD και καταλάση και είναι ανθεκτικά στο οξειδωτικό stress¹¹⁶. Αντίθετα τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου I, εμφανίζουν μικρή έκκριση αντιοξειδωτικών ενζύμων και είναι επομένως ευαίσθητα στη ζημιά και τον θάνατο κάτω από συνθήκες οξειδωτικού stress. Τα κυψελιδικά μακροφάγα εμφανίζουν μεγάλη έκφραση καταλάσης και καταναλώνουν με αυτή εξωγενές H₂O₂^{124, 125}. Εκτός από τα κλασσικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, ο ανθρώπινος πνεύμονας φαίνεται να παράγει και άλλα ένζυμα που έχουν την ικανότητα να καταναλώνουν H₂O₂. Αυτά περιλαμβάνουν κυρίως τις υπεροξειρεντοξίνες και τις γλουταρεντοξίνες. Η έκφραση των περισσότερων από αυτά των ενζύμων γίνεται στους αεραγωγούς και τα κυψελιδικά μακροφάγα^{126,127}.

Υπάρχουν ακόμη μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά που είναι απαραίτητα στη διατήρηση της ισορροπίας του πνεύμονα. Έτσι ενώ το εξωκυττάριο υγρό είναι πλούσιο σε γλουταθειόνη, φαίνεται πως και επιφανειοδραστικές πρωτεΐνες όπως η επιφανειοδραστική πρωτεΐνη D έχουν σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός δρουν ενισχύοντας την οξειδωτική επίδραση αλλά είναι συνδεδεμένα με πρωτεΐνες (τρανσφερίνη, φερριτίνη, σερούλοπλασμίνη, λακτοφερίνη κá). Μερικές άλλες πρωτεΐνες όπως η αλβουμίνη έχουν σημαντική ικανότητα στην εξουδετέρωση ελεύθερων οξειδωτικών ριζών. Τέλος άλλα αντιοξειδωτικά είναι οι βιταμίνες μικρού μοριακού βάρους είτε λιποδιαλυτές όπως η βιταμίνη E, είτε υδατοδιαλυτές όπως η βιταμίνη C.

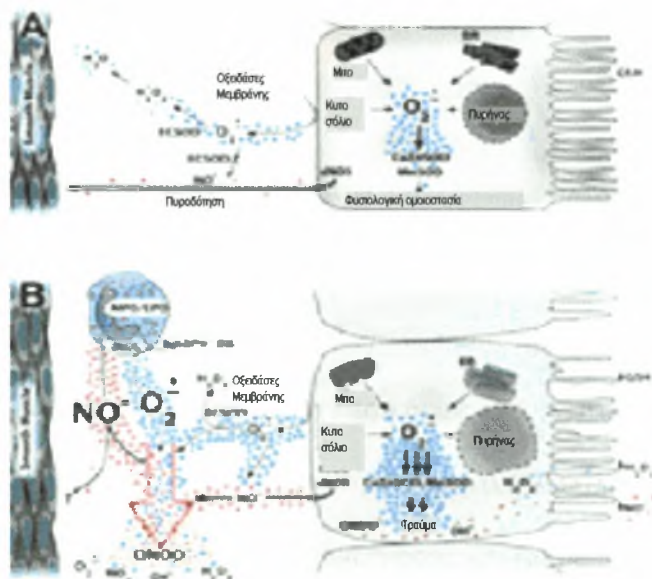


Σχήμα 2: Οι σπουδαιότεροι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί στον πνεύμονα. Αντιοξειδωτικά των ριζών σουπεροξειδίου, και του υπεροξειδίου του υδρογόνου στον ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια χώρο. Η αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH) μεταφέρεται με διάφορους μηχανισμούς έξω από το κύτταρο, αλλά η κυτταρική μεμβράνη δεν είναι συνήθως διαπερατή στη GSH. Το H_2O_2 διασχίζει την κυτταρική μεμβράνη ενώ η ρίζα του σουπεροξειδίου δεν τη διασχίζει. Στον εξωκυττάρια χώρο, η μεγαλύτερη παραγωγή ριζών υπεροξειδίου προέρχεται από την οξείδωση του NADH και NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες όπου υπάρχουν ειδικά εξωκυττάρια αντιοξειδωτικά όπως οι ECSOD(εξωκυττάρια δισμουτάση του σουπεροξειδίου),η GPSe(εξωκυττάρια υπεροξειδάση της γλουταθειόνης), και η υπεροξειρεντοξίνη. (σχήμα από το Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. Am J Respir Crit Care Med 2003;167, 1600-1619).

Οι ελεύθερες ρίζες στην παθογένεια των παθήσεων του πνεύμονα.

Οι ελεύθερες ρίζες κατέχουν εξέχοντα ρόλο στις αποφρακτικές παθήσεις. Το άσθμα συνδέεται με τη χρόνια φλεγμονή και το αυξημένο οξειδωτικό φορτίο. Τα φλεγμονώδη κύτταρα των αεραγωγών στο άσθμα ενεργοποιούνται και παράγουν οξειδωτικές ρίζες. Συγκεκριμένα ο εκπνεόμενος αέρας στους ασθενείς με άσθμα περιέχει αυξημένα ποσά H_2O_2 , οξειδίου του αζώτου, και οργανικών πτητικών ουσιών¹²⁸⁻¹³². Το βρογχικό επιθήλιο των ασθενών με άσθμα εμφανίζει αυξημένη έκφραση συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου, η οποία συνδέεται με τα αυξημένα επίπεδα οξειδίου του αζώτου στον εκπνεόμενο αέρα¹³³. Έτσι υπάρχουν πολλαπλές οδοί παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου όπως φαίνεται στο σχήμα 3.

Οι ελεύθερες ρίζες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια¹³⁴⁻¹³⁶. Είναι γνωστό πως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια συνδέεται με το κάπνισμα σε περισσότερο από το 90% των περιπτώσεων. Μια εισπνοή καπνού περιέχει πάνω από 10 ελεύθερες ρίζες^{123,125}. Οι αεραγωγοί των ασθενών με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια περιέχουν μεγάλο αριθμό ουδετεροφίλων τα οποία όταν ενεργοποιούνται παράγουν και αυτά ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα απενεργοποιούν το φυσικό σύστημα αντιπροτεασών του πνεύμονα, από τα οποία το πιο γνωστό είναι αυτό είναι της α1 αντιθρυψίνης. Αυτή η απενεργοποίηση οδηγεί στην προοδευτική εμφάνιση εμφυσήματος στον πνεύμονα.



Σχήμα 3: Πηγές του οξειδωτικού stress στις φλεγμονώδεις παθήσεις του πνεύμονα. (Α) Κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής κυτταρικής ομοιοστασίας ρίζες σουπεροξειδίου παράγονται σε μερικά σημεία του κυττάρου όπως τα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο, την κυτταρική και την πυρηνική μεμβράνη (τόσο στα φαγοκύτταρα όσο και στα μη φαγοκύτταρα). Η ενδοκυττάρια παραγωγή του σουπεροξειδίου και του H_2O_2 αντιρροπείται από τα υψηλά επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και παραμένει λίγο stress για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιοστασίας. Η εξωκυττάρια παραγωγή σουπεροξειδίων είναι εξαιρετικά χαμηλή όταν δεν υπάρχουν φλεγμονώδη κύτταρα και αντιρροπείται από την παρουσία της ECSOD στα τοιχώματα των αεραγωγών. Η ενδοκυττάρια παραγωγή του οξειδίου του νιτρικού οξέος (NO) προστατεύεται από την επίθεση του σουπεροξειδίου από την παρουσία της ECSOD. (Β) Κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού stress (όπως στη φλεγμονή του άσθματος) ενεργοποιούνται μέσα στα κύτταρα οι οδοί παραγωγής τόσο του σουπεροξειδίου όσο και του οξειδίου του νιτρικού οξέος. Τα φλεγμονώδη κύτταρα όπως τα ηωσινόφιλα, τα μονοκύτταρα, και τα ουδετερόφιλα συσσωρεύονται κάτω από το επιθήλιο των αεραγωγών. Η οξειδάση του NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες, οι μυελουπεροξειδάσες (MPO) και η υπεροξειδάση των ηωσινοφίλων (EPO)

ενεργοποιούνται μέσα στα φλεγμονώδη κύτταρα. Το αυξημένο κυτταρικό stress οδηγεί στην αποδιοργάνωση της κυτταρικής ομοιόστασης, και τη μετατροπή του NO σε προφλεγμονώδεις και κυτταροτοξικές ουσίες όπως τα υπεροξειδία του νιτρικού οξέος. Δεν έχουν γίνει μελέτες που να εκτιμούν αν τα επίπεδα των ECSOD αυξάνουν ή ελαττώνονται στους αεραγωγούς που φλεγμαίνουν. (σχήμα από το Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. Am J Respir Crit Care Med 2003; 167:1600-1619).

Οι ελεύθερες ρίζες συμμετέχουν ακόμη στην παθογένεια πολλών διάμεσων πνευμονοπαθειών. Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (UIP), εμφανίζει βλάβες στο παρέγχυμα με φτωχή πρόγνωση και ιστοπαθολογικές ομοιότητες με τις βλάβες που προκαλούνται από την υπεροξία¹³⁷⁻¹³⁹. Σε αντίθεση όμως από τις βλάβες που προκαλούνται από την υπεροξία, στην ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση οι βλάβες του πνεύμονα είναι ανομοιογενείς με ποικίλα στάδια ίνωσης και μικρό βαθμό φλεγμονής¹⁴⁰. Υπάρχουν πολλές μελέτες που δείχνουν ότι το οξειδωτικό φορτίο των πνευμόνων σε ασθενείς με πνευμονική ίνωση είναι αυξημένο και πως τα φλεγμονώδη κύτταρα αυτών των ασθενών παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες από τα κύτταρα υγιών ασθενών.¹⁴¹⁻¹⁴³. Επιπλέον, τα φλεγμονώδη κύτταρα αυτών των παθήσεων παράγουν υψηλά επίπεδα συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου το οποίο πιθανό να προκαλεί βλάβη σε πολλά κύτταρα του πνεύμονα¹⁴⁴.

Τα φλεγμονώδη κύτταρα των ασθενών με σαρκοείδωση παράγουν επίσης περισσότερες ελεύθερες ρίζες από τα κύτταρα υγιών ανθρώπων¹⁴⁵. Τα επίπεδα της γλουταθειόνης σε άλλες κοκκιωματώδεις νόσους όπως στην εξωγενή αλλεργική κυψελιδίτιδα είναι μειωμένα, υπονοώντας το αυξημένο οξειδωτικό φορτίο στις κοκκιωματώδεις παθήσεις του πνεύμονα¹⁴⁶.

Ο περισσότερο καλά μελετημένος περιβαλλοντικός οξειδωτικός παράγοντας είναι οι ίνες του αμιάντου. Οι ίνες του αμιάντου συνδέονται με την παραγωγή ελευθέρων

ριζών τόσο in vivo όσο και in vitro, ενώ επάγουν την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων κυρίως του MnSOD στο επιθήλιο του βρογχικού βλεννογόνου και τα μεσοθηλιακά κύτταρα^{147,148}. Η παραγωγή των ενεργών ριζών οξυγόνου από τις ίνες αμιάντου θεωρείται πως είναι μέρος της διαδικασίας που καταλήγει στην ίνωση των πνευμόνων. Τα εξωκυττάρια μόρια όπως το κολλαγόνο, ο επιφανειοδραστικός παράγοντας και οι αναστολείς των πρωτεϊνών είναι ευαίσθητα στην επίδραση των σουπεροξειδίων και των υπεροξειδίων του αζώτου τα οποία στη συνέχεια έχουν καταλυτική δράση στην πρόκληση των παρεγχυματικών βλαβών^{149,150}. Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες στην παθογένεια των ινωτικών βλαβών του πνεύμονα είναι ο παράγοντας μεταγραφής β. Η παραγωγή του φαίνεται να εκτρέπεται από τις ελεύθερες ρίζες (ακτινοβολία, οξείδιο του αζώτου) και να προάγει την φλεγμονώδη διαδικασία σε ίνωση¹⁵¹.

Οι ελεύθερες ρίζες συνδέονται στενά με μια ποικιλία οξέων παθήσεων. Η χρήση του οξυγόνου σε υψηλές συγκεντρώσεις στις μονάδες εντατικής θεραπείας οδηγεί συχνά σε μη αναστρέψιμες βλάβες του πνεύμονα¹⁵². Επιπλέον οι ελεύθερες ρίζες έχουν σημαντικό ρόλο σε άλλες παθήσεις του πνεύμονα όπως οι λοιμώξεις, οι πλευριτικές συλλογές, και άλλα λιγότερο συχνά νοσήματα όπως η κυστική ίνωση, η πρωτοπαθής πνευμονική υπέρταση, και οι επιπλοκές που εμφανίζονται μετά τη μεταμόσχευση πνευμόνων¹⁵³⁻¹⁵⁵.

Μερικά φάρμακα επίσης όπως η μπλεομυκίνη έχουν τοξική δράση στον πνεύμονα που συνδέεται με τη δημιουργία ελευθέρων ριζών, ενώ το ίδιο συμβαίνει και με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες όπως την καρμουςτίνη (BCNU), τους αντιμεταβολίτες, και αντιβιοτικά όπως η νιτροφουραντοίνη^{155,115}. Τέλος οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται και στην παθογένεια των βλαβών του πνεύμονα που προκαλείται από την ακτινοβολία.

Οξειδωτικό stress, καρκινογόνα, και καρκίνος του πνεύμονα.

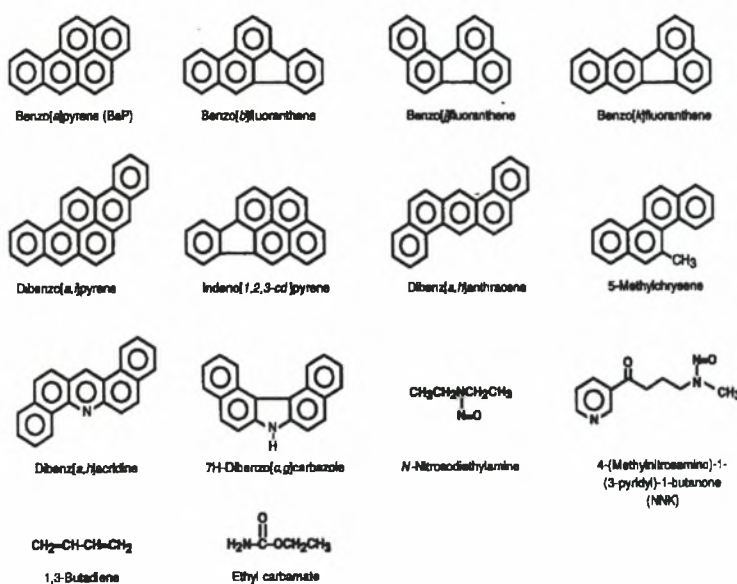
Ο καπνός του τσιγάρου που περιέχεται σε μια εισπνοή καπνού περιέχει περίπου 10^{10} σωματίδια/mL¹⁵⁷. Περίπου το 95% του καπνού αποτελείται από αέρια, κυρίως άζωτο, οξυγόνο, και διοξείδιο του άνθρακα. Στα πειράματα, αυτή η αέρια φάση διαχωρίζεται από τη στερεή φάση με φίλτρο από γυάλινες ίνες. Η στερεή φάση περιέχει περίπου 3500 συστατικά τα περισσότερα από τα οποία είναι καρκινογόνα¹⁵⁷.

Έχουν ταυτοποιηθεί 55 καρκινογόνα(πίνακας 1) σε μια εισπνοή τσιγάρου σύμφωνα με τη Διεθνή Επιτροπή για την Έρευνα του Καρκίνου. Για όλα αυτά έχει τεκμηριωθεί η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση σε ανθρώπους και ζώα.

Πίνακας 1: Καρκινογόνα στον καπνό του τσιγάρου.

Τύπος	Αριθμός ουσιών
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες	10
Αζαρένια	3
N-Νιτροσαμίνες	7
Αρωματικές αμίνες	3
Ετεροκυκλικές αρωματικές αμίνες	8
Αλδεΐδες	15
Διάφορα οργανικά συστατικά	7
Σύνολο	55

Υπάρχουν ακόμη πιθανά καρκινογόνα για τα οποία η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση δεν έχει επαρκώς τεκμηριωθεί από την Επιτροπή που προαναφέρθηκε¹⁵⁸. Στο σχήμα 4 φαίνεται η δομή ορισμένων καρκινογόνων.



Σχήμα 4: Δομή οργανικών καρκινογόνων που ευθύνονται για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα.

Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει ελεύθερες ρίζες που προκαλούν οξειδωτική βλάβη στον άνθρωπο. Η αέρια φάση του παραγόμενου καπνού τσιγάρου περιέχει περίπου 600μg οξειδίου του αζώτου¹⁵⁹. Η στερεή φάση περιέχει ελεύθερες ρίζες που είναι αρκετά σταθερές για να μπορούν να ανιχνευθούν με παγίδα ηλεκτρονίων¹⁶⁰. Το μεγαλύτερο μέρος των ελευθέρων ριζών θεωρείται ότι ανήκει στο σύμπλεγμα κινόνης-υδροκινόνης που περιέχεται μέσα στην πίσσα¹⁶¹. Περισσότερη έρευνα

οδήγησε στην υπόθεση ότι το σύστημα των ελευθέρων ριζών που περιέχεται μέσα στην πίσσα είναι ένα ισορροπημένο μείγμα από ημικινόνες, υδροκινόνες, και κινόνες¹⁶². Θεωρείται πως αυτό το σύμπλεγμα επιδρά στην οξειδοαναγωγή και δημιουργεί ανιόντα σουπεροξειδίου από μοριακό οξυγόνο που οδηγούν στη συνέχεια στο σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου, και ριζών υδροξυλίου. Οι ελεύθερες αυτές ρίζες είναι ικανές να προκαλέσουν ρήξεις στο DNA¹⁶². Επιπλέον, άλλες μελέτες υποστηρίζουν πως ο καπνός του τσιγάρου προκαλεί ρήξη του DNA σε μονές αλυσίδες στις καλλιέργειες κυττάρων ανθρώπων και τρωκτικών^{163,164}. Το οξειδοαναγωγικό σύστημα που συνδέεται με τις κινόνες προκαλεί επίσης ανάλογα αποτελέσματα. Έχει φανεί ακόμη πως το οξείδιο του αζώτου στην αέρια φάση του δρα συνεργικά με την πίσσα του τσιγάρου προκαλώντας διακοπή στη συνοχή του pBR322 πλασμιδιακού DNA¹⁶⁵. Ο πιθανός μηχανισμός περιλαμβάνει την ένωση του οξειδίου του αζώτου με ανιόν σουπεροξειδίου και τη δημιουργία υπεροξειδίου του αζώτου.

Πειράματα *in vitro* δείχνουν πως η αέρια φάση του καπνού του τσιγάρου προκαλεί οξειδωση των λιπιδίων στο ανθρώπινο πλάσμα που αναχαιτίζεται από το ασκορβικό οξύ¹⁶⁶. Οξειδωση των καρβονυλίων μπορεί να προκαλέσει τόσο συνολικά ο καπνός του τσιγάρου όσο και η αέρια φάση του¹⁶⁷. Έτσι τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος είναι χαμηλότερα στους καπνιστές συγκριτικά με τους μη καπνιστές¹⁶⁸. Επιπλέον ένδειξη του οξειδωτικού κινδύνου που διατρέχουν οι καπνιστές είναι τα αυξημένα επίπεδα των προϊόντων οξειδωσης των λιπιδίων δηλαδή τα F2 –ισοπροστάνια¹⁶⁹. Ο ρόλος του οξειδωτικού stress στην πρόκληση βλάβης στο DNA επιβεβαιώνεται ακόμη από την ύπαρξη παθολογικών τμημάτων του DNA όπως 8-οξοντεοξυγουανωσίνη στους πνεύμονες καπνιστών, στα λευκοκύτταρα και στο σπέρμα¹⁷⁰⁻¹⁷¹.

Μελέτες των τελευταίων ετών έχουν δείξει πως το οξειδωτικό stress εκτός από την πρόκληση μεταλλάξεων συμμετέχει στη διαδικασία της καρκινογένεσης και μέσω επιγενετικών μηχανισμών¹⁷²⁻¹⁷³. Ως παράδειγμα αναφέρονται τα οργανικά υπεροξειδία και τα υπεροξειδία του υδρογόνου που δρουν στην εξέλιξη του καρκίνου και όχι στην έναρξη του, υποδηλώνοντας πως τα οξειδωτικά αυτά δεν δρουν ως μεταλλαξιογόνα αλλά έχουν και επιγενετική τοξική δράση¹⁷⁴⁻¹⁷⁵. Μέχρι τώρα έχουν ανακαλυφθεί 127 γονίδια και πρωτεΐνες μεταγραφής του κυττάρου που είναι ευαίσθητες στην οξειδοαναγωγή¹⁷⁶. Από τις πρωτεΐνες αυτές πιο γνωστές είναι η μιτοχόνδρος πρωτεϊνική κινάση(MAPK) και ο πυρηνικός παράγοντας kB (NF kB) των οποίων η δράση επηρεάζεται άμεσα ή έμμεσα από το οξειδοαναγωγικό σύστημα¹⁷⁷⁻¹⁷⁹. Συγκεκριμένα η MAPK πρωτεΐνη όχι μόνο ενεργοποιείται από τις ROS αλλά στην πραγματικότητα χρειάζεται την παρουσία του H₂O₂¹⁸⁰. Επιπλέον αναφέρεται από τις μελέτες πως ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων PDGF προκαλεί στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων την παραγωγή H₂O₂ που στη συνέχεια ενεργοποιεί την MAPK. Η ενεργοποίηση της MAPK πρωτεΐνης από τον PDGF αναστέλλεται από τη δράση της καταλάσης, η οποία περιορίζει τα επίπεδα του H₂O₂ μέσα στα κύτταρα. Τα γεγονότα που ακολουθούν την ενεργοποίηση της MAPK όπως ο πολλαπλασιασμός του κυττάρου αναχαιτίζονται επίσης από την καταλάση. Όλες αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν πως οι ενδογενείς αυξητικοί παράγοντες προάγουν την παραγωγή ελεύθερων οξειδωτικών ριζών, οι οποίες στη συνέχεια με μια αλληλουχία ενδοκυττάρων αντιδράσεων μεταφέρουν μηνύματα στον πυρήνα¹⁸¹.

Συμπερασματικά, όλα όσα έχουν αναφερθεί προηγουμένως για τις οξειδωτικές ρίζες που σχετίζονται με την καπνιστική συνήθεια οδηγούν σε πολλαπλές γενετικές μεταβολές των κυττάρων που καταλήγουν στην απενεργοποίηση κατασταλικών

ογκογονιδίων και την ενεργοποίηση ογκογονιδίων με τελικό αποτέλεσμα την εκτροπή των κυττάρων από τη φυσιολογική ανάπτυξη. Συγκεκριμένα οι οξειδωτικές ρίζες είναι ικανές να επιδράσουν στην απόπτωση των μιτοχονδρίων, στην κυτταρική απόπτωση που προκαλείται από το γονίδιο p53, και στην ανάπτυξη και γήρανση που ελέγχονται από άλλα ογκογονίδια όπως το CKIp21 και το PTEN¹⁸³⁻¹⁸⁵. Επιπλέον, τελευταίες μελέτες έχουν δείξει πως οι οξειδωτικές ρίζες που παράγονται από την υποξία κατά τη διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια οδηγούν στην απελευθέρωση του παράγοντα που αυξάνει την αγγειογένεση¹⁸⁶. Επομένως οι ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες φαίνεται να εμπλέκονται τόσο στην έναρξη της διαδικασίας της καρκινογένεσης όσο και στην πρόοδο της.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Διάγνωση-σταδιοποίηση

Υλικό της μελέτης μας αποτέλεσαν 68 ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα που νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και 47 υγείς μάρτυρες. Η διάγνωση ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα έγινε ως εξής: άτομα με ύποπτες για κακοήθεια βλάβες στην ακτινογραφία θώρακα υπεβλήθησαν σε αξονική τομογραφία θώρακα. Αν τα αποτελέσματα της αξονικής τομογραφίας δεν απέκλειαν την κακοήθεια, οι ασθενείς υποβάλλονταν σε ενδοσκοπικό έλεγχο του τραχειοβρογχικού δέντρου με εύκαμπτο βρογχοσκόπιο. Λαμβάνονταν βιοψίες βρογχικού βλεννογόνου με ειδική λαβίδα καθώς και βρογχικές εκκρίσεις για κυτταρολογική εξέταση και στέλλονταν στο παθολογοανατομικό και κυτταρολογικό εργαστήριο αντίστοιχα. Σε κάποιες περιπτώσεις ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα η διάγνωση ετέθη με διαθωρακική παρακέντηση από τους πνεύμονες με βελόνα υπό την καθοδήγηση αξονικού τομογράφου και εξέταση από το παθολογοανατομικό εργαστήριο. Για τη σταδιοποίηση των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές όπως υπερηχογράφημα και αξονική τομογραφία κοιλίας, σπινθηρογράφημα οστών, αξονική ή και μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου. Η τελική σταδιοποίηση έγινε βάσει του Διεθνούς Συστήματος TNM (T=πρωτοπαθής όγκος, N=επιχώριοι λεμφαδένες, M=μετακρυσμένες μεταστάσεις) όπως αυτό αναθεωρήθηκε το 1997 και έγινε αποδεκτό από την AJCC (Αμερικανική Ένωση για τον Καρκίνο) και την UICC (Διεθνή Ένωση εναντίον του Καρκίνου).

Μέτρηση ρετινόλης, παλμιτικής ρετινόλης και ρετινοϊκού οξέος.

Η λήψη του αίματος έγινε με φλεβοκέντηση σε σωληνάκια με κενό αέρος. Τα σωληνάκια με το αίμα καλύπτονταν με αλουμινόχαρτο για προστασία από το φως και φυλάσσονταν στους $+4^{\circ}\text{C}$ στο ψυγείο. Μία ώρα μετά τη φλεβοκέντηση, ορός του αίματος λαμβάνονταν μετά από φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 3000g. Στη συνέχεια ο ορός φυλάσσονταν σε ειδικά για το ψύχος φιαλίδια καλυμμένα με αλουμινόχαρτο στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία -70°C μέχρι τη μέτρηση.

Η μέτρηση έγινε με υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)¹⁸⁷.

Αναλυτική διαδικασία: Η προετοιμασία του δείγματος και οι αναλυτικές διεργασίες έγιναν σε υποφωτισμένο χώρο χρησιμοποιώντας δοχεία σκούρου χρώματος. Ποσότητες (200-1000 μL) πλάσματος αίματος αναμείχθηκαν σε σωλήνα φυγοκέντρου 5 mL με τριπλάσιο όγκο μείγματος ισοπροπανόλης/διχλωρομεθανίου αναλογίας όγκων 2:1. Το περιεχόμενο του σωλήνα αναδεύτηκε για 30 s σε περιστροφικό αναδευτήρα και φυγοκεντρήθηκε στα 3000 g για 5 λεπτά. Η υπερκείμενη στοιβάδα μεταφέρθηκε σε άλλο σωλήνα, εξατμίστηκε σε ρεύμα αζώτου, επαναδιαλύθηκε σε 100 μL μείγματος τετραϋδροφουρανίου/μεθανόλης αναλογίας όγκων 15:85 και συμπληρώθηκε ο όγκος με μεθανόλη μέχρι τα 300 μL . Ποσότητα 100 μL εγχύθηκε στο σύστημα HPLC.

Χρωματογραφική ανάλυση: Χρησιμοποιήθηκε σύστημα χρωματογραφίας HP1100 (Αντλία G1311, απαερωτής G1322A, σύστημα έγχυσης Rheodyne 7725 με βρόγχο 100 μL , ανιχνευτής UV G1314A). Η ανάλυση έγινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με στήλη αντίστροφης φάσης, 250x4.0mm με υλικό πλήρωσης Hypersil MOS, C_8 , 5 μm και ροή 1 mL/min. Η κινούμενη φάση αποτελούνταν από

μεθανόλη που περιείχε 0,1M οξικό νάτριο και 0,01 M οξικό οξύ (διαλύτης Α), διάλυμα 0.01 M οξικού οξέος και 0,1M οξικού νατρίου (διαλύτης Β) και τετραϋδροφουράνιο (διαλύτης Γ). Κατά την έναρξη της χρωματογραφίας και μέχρι τα 9 λεπτά, η σύσταση της κινούμενης φάσης ήταν 87% Α, 12,9% Β και 0,1% Γ, αλλά στο διάστημα 9-9,5 min μεταβαλλόταν γραμμικά σε 94% Α, 1% Β και 5% Γ. Η νέα αυτή σύσταση παρέμενε σταθερή για 10 επιπλέον min. Στο τέλος κάθε ανάλυσης γινόταν έκπλυση της στήλης με μείγμα 69% διαλύτη Α, 1% Β και 35% Γ. Μετά την έκπλυση, διοχετευόταν στην στήλη η αρχική κινούμενη φάση για 10 τουλάχιστον min πριν από την έγχυση του νέου δείγματος. Η ανίχνευση έγινε στο μέγιστο της απορρόφησης για κάθε ουσία, δηλαδή στα 350 nm για το ρετινοϊκό οξύ και στα 325 nm για τη ρετινόλη και την παλμιτική ρετινόλη, με αλλαγή μήκους κύματος κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

Μέτρηση του οξειδωτικού stress

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του οξειδωτικού stress είναι η φασματοφωτομετρική μέθοδος d-ROM η οποία προσδιορίζει τη συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων σε βιολογικά υγρά. Όπως έχει αναφερθεί οι ουσίες αυτές παράγονται από την επίθεση των ROS(ενεργών ριζών οξυγόνου) σε οργανικά συστατικά (υδρογονάνθρακες, λιπίδια, αμινοξέα, πρωτεΐνες). Τα αρχικά της μεθόδου <ROMs> υποδηλώνουν ακριβώς αυτές τις ουσίες που προκύπτουν από την επίθεση των ενεργών ριζών οξυγόνου. Η λήψη του αίματος έγινε με φλεβοκέντηση σε σωληνάρια με κενό αέρος και τα δείγματα αίματος αμέσως μετά φυγοκεντρούνταν ενώ η επεξεργασία με την παραπάνω μέθοδο γινόνταν μέσα σε δύο ώρες από τη στιγμή της αιμοληψίας για να αποφευχθούν τα αρνητικά αποτελέσματα της αποθήκευσης.

Η δοκιμασία d-ROM βασίζεται στην ανίχνευση του χρωματισμένου παραγώγου που προκύπτει από την αντίδραση των υδροϋπεροξειδίων με χρωμογόνο συστατικό. Το σύμπλεγμα που προκύπτει ανιχνεύεται και προσδιορίζεται ποσοτικά με τη φασματοφωτομετρική μέθοδο. Η συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων σχετίζεται άμεσα με την πυκνότητα του φωτός που ανιχνεύεται και εκφράζεται αυθαίρετα σε μονάδες που είναι εύκολες στην κλινική πράξη. Αυτές οι μονάδες ονομάζονται με τα αρχικά <CARR U>, που σημαίνουν μονάδες Carratelli από τον Ιταλό χημικό εφευρέτη του d-ROM test.

Η μέθοδος d-ROM βασίζεται στην αντίδραση των υδροϋπεροξειδίων με άτομα μετάλλων για την παραγωγή in vitro ριζών αλκοξυλίου και υπεροξυλίου. 10μL ορού αίματος) διαλύονται σε 1 ml όξινου διαλύματος με pH 4.8 όπου τα άτομα των μετάλλων πριν συνδεθούν με πρωτεΐνες καταλύουν in vitro τη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων στις παραπάνω ρίζες. Το χρωμογόνο N,N,-διεθυλπαραφενυλενδιαμίνη χρησιμοποιείται στη μέθοδο d-ROM σε ποσότητα 10μL και έχει την ικανότητα να αλλάζει χρώμα όταν οξειδώνεται από τις ρίζες αλκοξυλίου και υπεροξυλίου. Το φάσμα απορρόφησης κυμαίνεται από 505-546 nm σε οπτικό μονοπάτι 1cm και θερμοκρασία 37° C. Σε κάθε σειρά μετρήσεων πρέπει να χρησιμοποιείται τόσο ένας κενός παράγοντας που προκύπτει από την αντικατάσταση του ορού με αποστειρωμένο νερό όσο και κάποιο δείγμα σύγκρισης (standard) με γνωστή τιμή. Η απορρόφηση στα 505 nm καταγράφεται αμέσως ενώ καταγράφεται επίσης η απορρόφηση μετά από 1, 2 και 3 min. Στην τιμή απορρόφησης του δείγματος και του standard πρέπει να αφαιρεθεί η τιμή απορρόφησης που λαμβάνεται από το άδειο δείγμα.

Το αποτέλεσμα προκύπτει ως εξής:

$$\text{CARR U} = \Delta\text{Abs}/\text{min} * \text{F}$$

όπου CARR U είναι οι προαναφερθείσες μονάδες, $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ είναι η μέση διαφορά της απορρόφησης στα 1, 2, και 3 min και F είναι ένας διορθωτικός παράγοντας που είναι περίπου 9000 (ανάλογα με τις οδηγίες του κατασκευαστή).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν 68 ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Σε 36 ασθενείς(35 άνδρες και 1 γυναίκα) με καρκίνο του πνεύμονα (ομάδα Α), μετρήθηκαν τα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος ,της ρετινόλης, και της παλμιτικής ρετινόλης σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε ανωτέρω. Σε 32 άνδρες ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα (ομάδα Β), μελετήθηκαν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress σύμφωνα με τη μέθοδο d-ROM η οποία έχει επίσης αναφερθεί ανωτέρω.

Η ιστολογική ταξινόμηση των πασχόντων από καρκίνο του πνεύμονα στους οποίους μετρήθηκε η βιταμίνη Α ήταν : 14 πλακώδες νεόπλασμα, 3 αδενικού τύπου νεόπλασμα, 4 μικροκυτταρικά νεοπλάσματα και 15 νεοπλάσματα που χαρακτηρίστηκαν ως μη μικροκυτταρικού τύπου νεοπλάσματα. Η ιστολογική ταξινόμηση αντίστοιχα των ασθενών στους οποίους μετρήθηκαν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress ήταν : 8 πλακώδες νεόπλασμα, 6 αδενικού τύπου νεόπλασμα, 8 μικροκυτταρικά νεοπλάσματα και 10 νεοπλάσματα που χαρακτηρίστηκαν ως μη μικροκυτταρικού τύπου νεοπλάσματα. (Πίνακας 1).

Ιστολογικός τύπος	Αριθμός ασθενών	
	Ομάδα Α	Ομάδα Β
Πλακώδες	14	8
Αδενοκαρκίνωμα	3	6
Μικροκυτταρικό	4	8
Μη μικροκυτταρικό *	15	10
Σύνολο	36	32

Πίνακας 1: Ιστολογική ταξινόμηση ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα στους οποίους μετρήθηκαν τα επίπεδα ρετινοϊκού οξέος, ρετινόλης, και παλμιτικής ρετινόλης και τα επίπεδα του οξειδωτικού stress.

* Αναφέρεται σε υλικό βιοψιών που ήταν αδύνατη η διενέργεια ανοσοϊστοχημικής χρώσης

Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών στην ομάδα Α ήταν $66,2 \pm 12,3$ έτη (μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση) και η μέση ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ του πνεύμονα ήταν 3,7 (εύρος 0-10). Η μέση κατανάλωση τσιγάρων στην ίδια ομάδα ήταν 57,12 (εύρος 0-120) pack years (πακέτα τσιγάρων ημερησίως X έτη καπνίσματος). Υπήρχαν μόνο 3 μη καπνιστές. Ο μέσος όρος ηλικίας των πασχόντων από καρκίνο του πνεύμονα της ομάδας Β ήταν $62 \pm 12,60$ έτη (μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση). Η μέση ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ στην ίδια ομάδα ήταν 4,60 (εύρος 0-15). Η μέση κατανάλωση τσιγάρων των ασθενών της ομάδας Β ήταν 61,53 (εύρος 0-150) pack years (πακέτα ημερησίως X έτη καπνίσματος). Υπήρχε μόνον 1 μη καπνιστής. (Πίνακας 2).

Ορός αίματος ελήφθη επίσης από 27 άτομα (21 άνδρες, 6 γυναίκες) χωρίς ιστορικό κακοήθειας στο ενεργητικό τους που χρησίμευσαν ως μάρτυρες για σύγκριση των αποτελεσμάτων τους με αυτά των ασθενών της ομάδας A. Ο μέσος όρος ηλικίας των μαρτύρων αυτής της ομάδας ήταν $44,5 \pm 16,7$ έτη (μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση). Η καπνισματική συνήθεια των μαρτύρων της ομάδας A ήταν 57,12(0-120) packyears. Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων του οξειδωτικού stress της ομάδας B ορός αίματος ελήφθη από 20 άτομα (13 άνδρες, 7 γυναίκες) χωρίς ιστορικό επίσης κακοήθειας στο ενεργητικό τους που χρησίμευσαν ως μάρτυρες. Ο μέσος όρος ηλικίας των μαρτύρων της ομάδας B ήταν $58,15 \pm 12,42$ έτη (μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση). Η καπνισματική συνήθεια των υγιών μαρτύρων της ομάδας B ήταν 61,53(0-150) packyears. (Πίνακας 3).

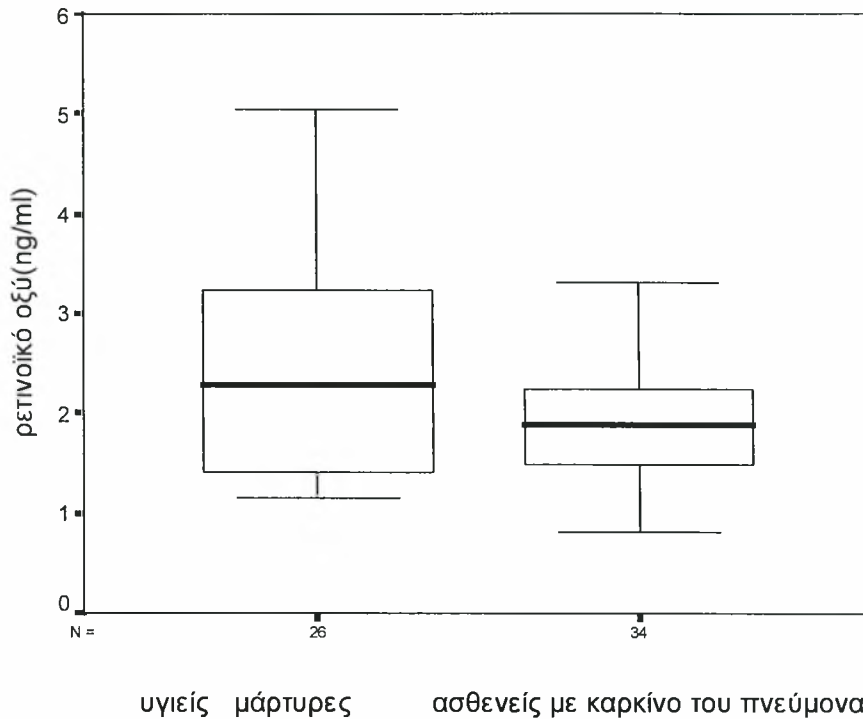
<i>Ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα</i>		
	Ομάδα A	Ομάδα B
Φύλο	35 άνδρες, 1 γυναίκα	32 άνδρες
Ηλικία	$66,2 \pm 12,3$ έτη	$62 \pm 12,60$ έτη
Κάπνισμα	57,12(0-120) packyears	61,53(0-150) packyears

Πίνακας 2: Δημογραφικά στοιχεία και καπνιστική συνήθεια ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα

Υγιείς μάρτυρες		
	Ομάδα Α	Ομάδα Β
Φύλο	21 άνδρες, 6 γυναίκες	13 άνδρες, 7 γυναίκες
Ηλικία	44,5±16,7 έτη	58,15±12,41 έτη
Κάπνισμα	45,12(0-90)pack years	32,85(0-100)pack years

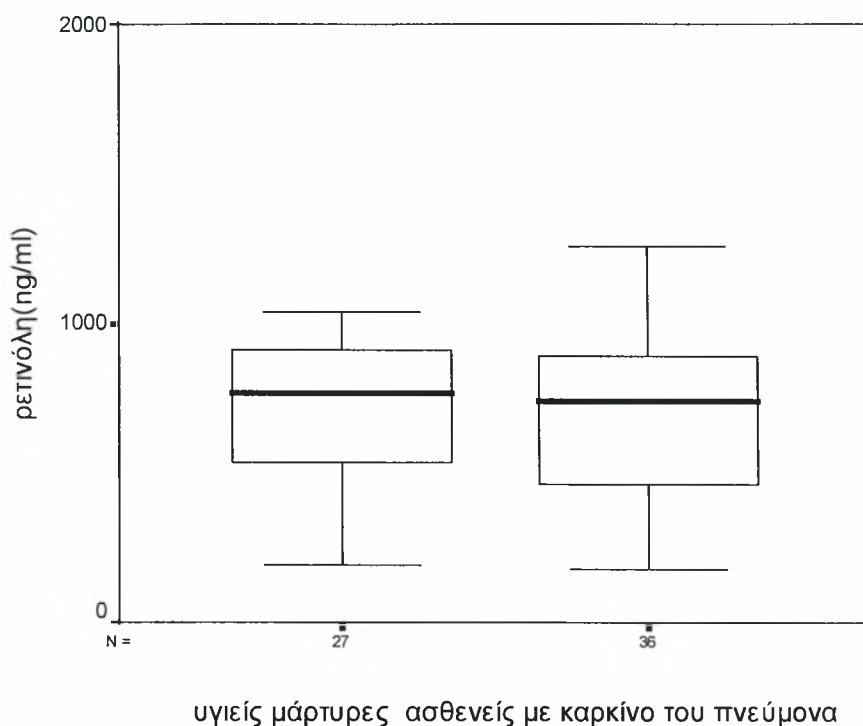
Πίνακας 3: Δημογραφικά στοιχεία και καπνιστική συνήθεια υγιών μαρτύρων.

Η στατιστική ανάλυση για τα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος έδειξε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,03$) μεταξύ των πασχόντων από καρκίνο του πνεύμονα και των υγιών μαρτύρων: $1,95 \pm 9,7\text{ng/ml}$ στους καρκινοπαθείς συγκριτικά με $2,5 \pm 1,1\text{ng/ml}$ στους υγιείς. (Εικόνα 1).



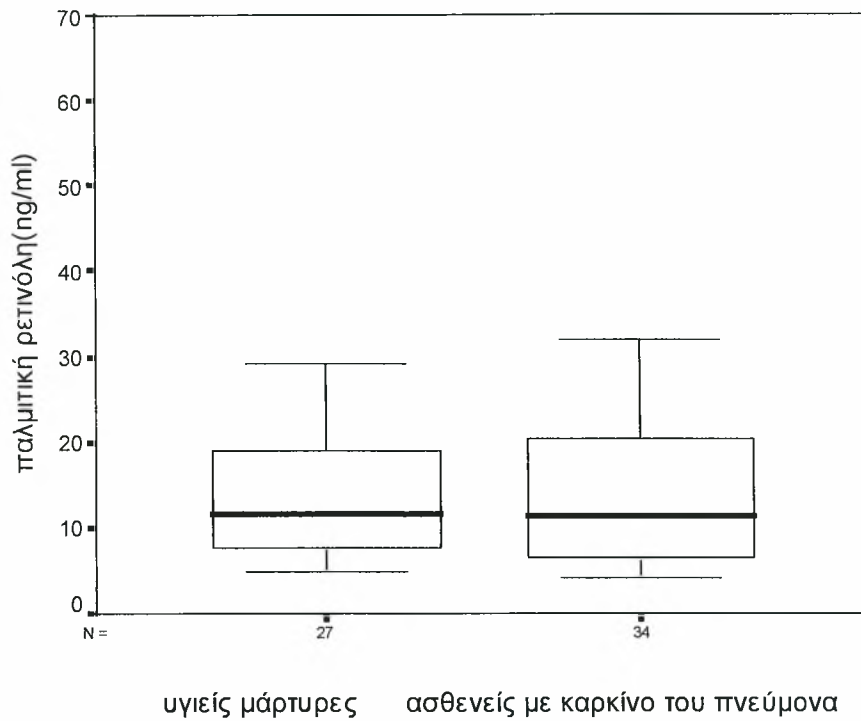
Εικόνα 1: Επίπεδα ρετινοϊκού οξέος σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες($p < 0,05$ σύμφωνα με το student t-test).

Η στατιστική ανάλυση των τιμών της ρετινόλης δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα και των υγιών μαρτύρων. Συγκεκριμένα η μέση τιμή της ρετινόλης στους καρκινοπαθείς ήταν $733,5 \pm 326,4 \text{ ng/ml}$ (μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση) ενώ αντίστοιχα η τιμή της ρετινόλης στους υγιείς μάρτυρες ήταν $734,5 \pm 337,1 \text{ ng/ml}$. (Εικόνα 2).



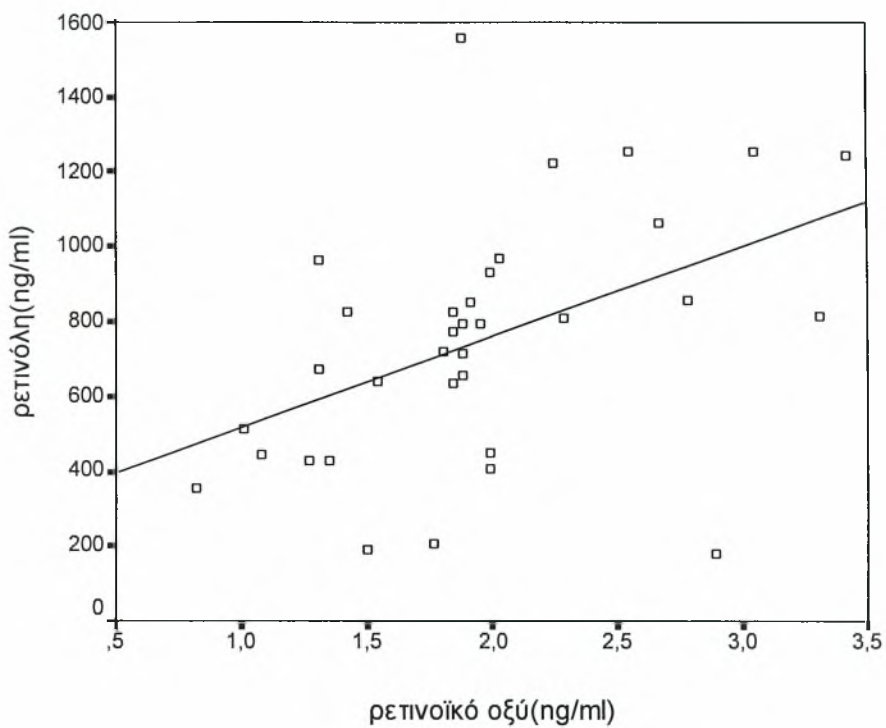
Εικόνα 2: Επίπεδα ρετινόλης σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες

Ανάλογα δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών της παλμιτικής ρετινόλης ανάμεσα στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και τους υγιείς μάρτυρες ($14,3 \pm 9,7 \text{ ng/ml}$ στους καρκινοπαθείς έναντι $16,7 \pm 13,7 \text{ ng/ml}$ στους υγιείς μάρτυρες). (Εικόνα 3).

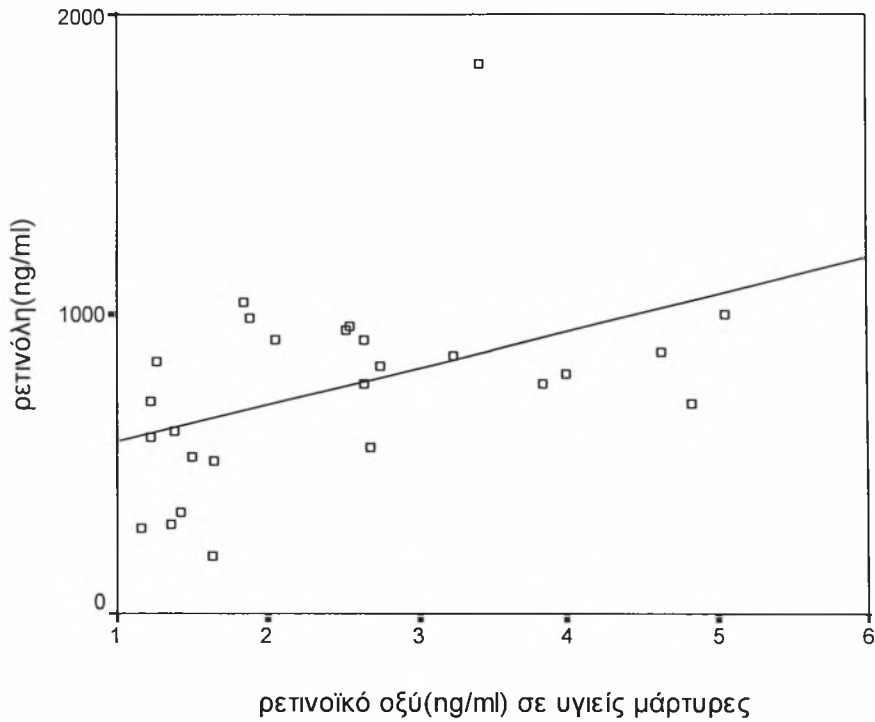


Εικόνα 3 :Επίπεδα παλμιτικής ρετινόλης σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες.

Βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ρετινοϊκού οξέος και ρετινόλης τόσο στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα όσο και στους υγιείς μάρτυρες, $R=0,46$, $p=0,006$ και $R=0,45$, $p=0,02$ αντίστοιχα. (Εικόνες 4,5).

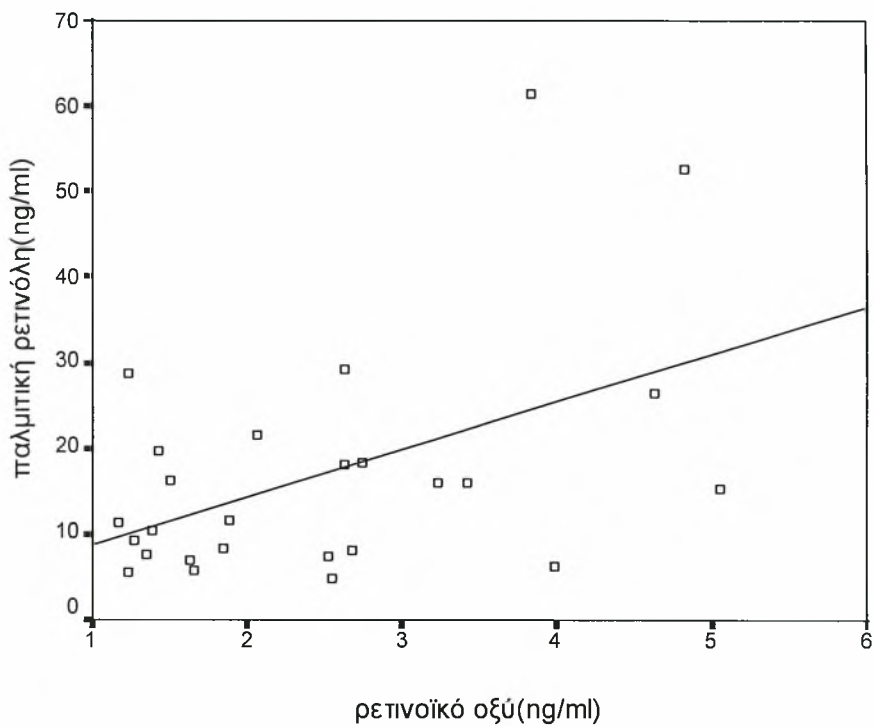


Εικόνα 4:Συσχέτιση ρετινοϊκού οξέος και ρετινόλης σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα($R=0,46$, $p=0,006$)

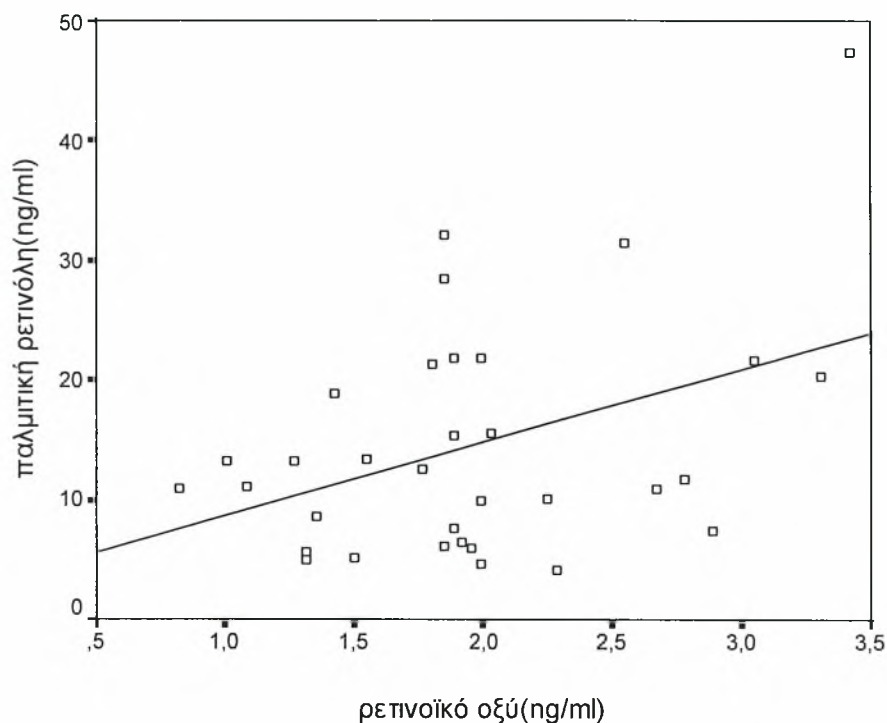


Εικόνα 5:Συσχέτιση ρετινοϊκού οξέος και ρετινόλης σε υγιείς μάρτυρες($R=0,45$, $p=0,02$).

Ακόμη βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ρετινοϊκού οξέος και παλμικής ρετινόλης στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και τους υγιείς μάρτυρες, $R=0,40$, $p=0,01$ και $R=0,48$, $p=0,01$ αντίστοιχα. (Εικόνες 6,7).

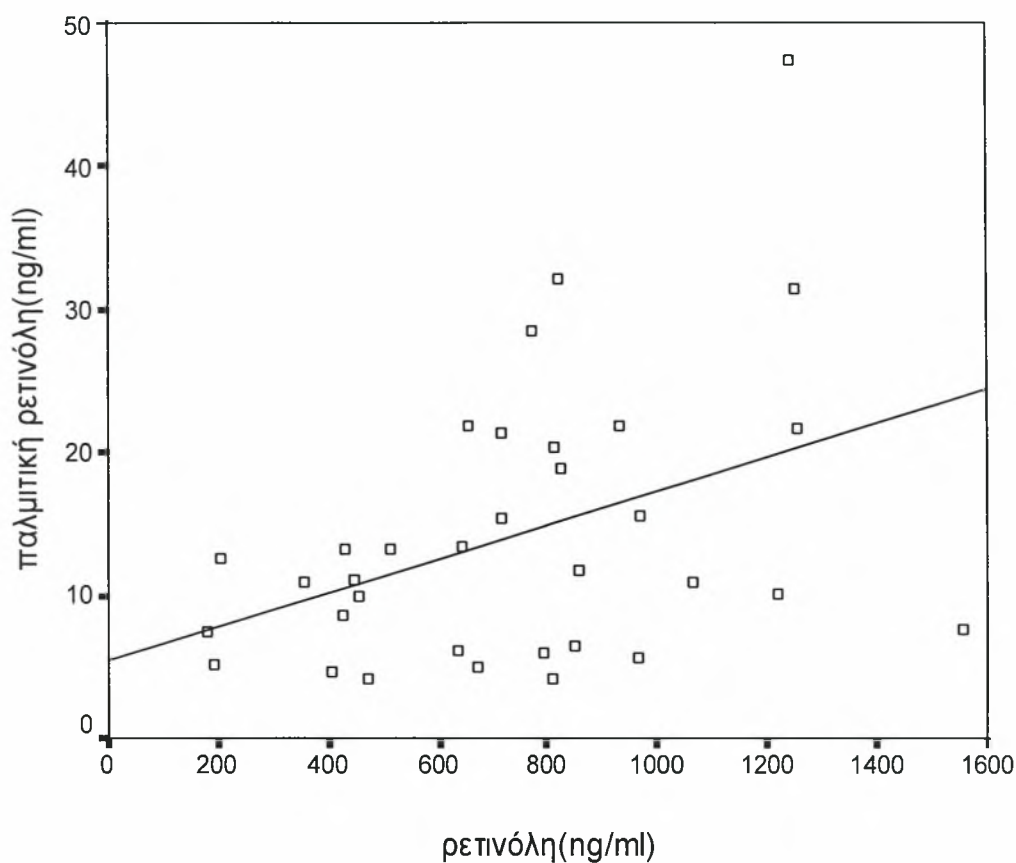


Εικόνα 6: Συσχέτιση ρετινοϊκού οξέος και παλμιτικής ρετινόλης στους υγιείς μάρτυρες($R=0,48$, $p=0,01$).



Εικόνα 7: Συσχέτιση ρετινοϊκού οξέος και παλμιτικής ρετινόλης σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα($R=0,40$, $p=0,01$)

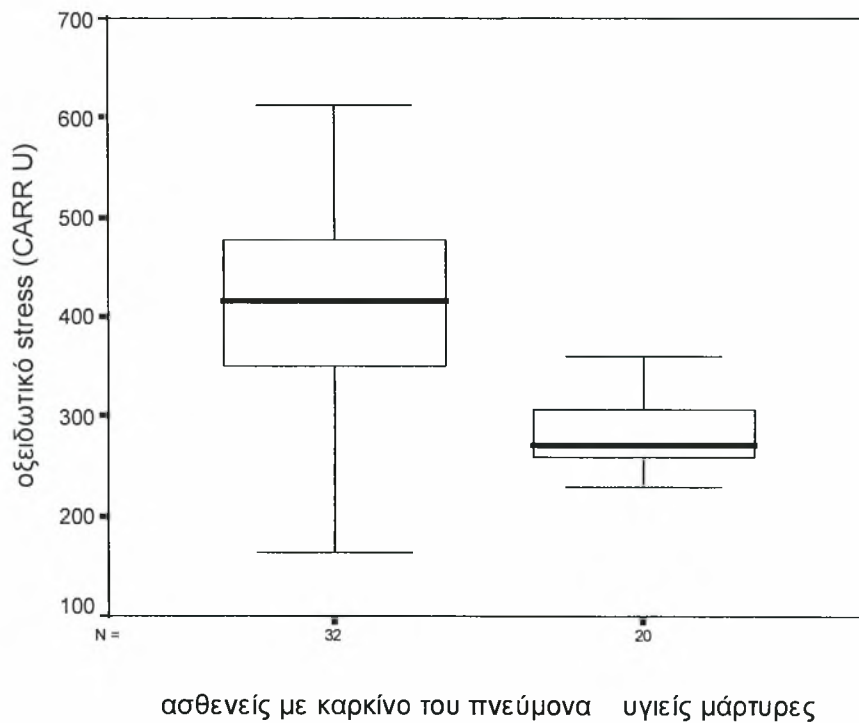
Η ρετινόλη και η παλμιτική ρετινόλη βρέθηκε να έχουν θετική συσχέτιση στους ασθενείς $R=0,40$, $p=0,01$, αλλά όχι στους υγιείς μάρτυρες(Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Συσχέτιση ρετινόλης και παλμιτικής ρετινόλης στους καρκινοπαθείς ($R=0,40$, $p=0,01$).

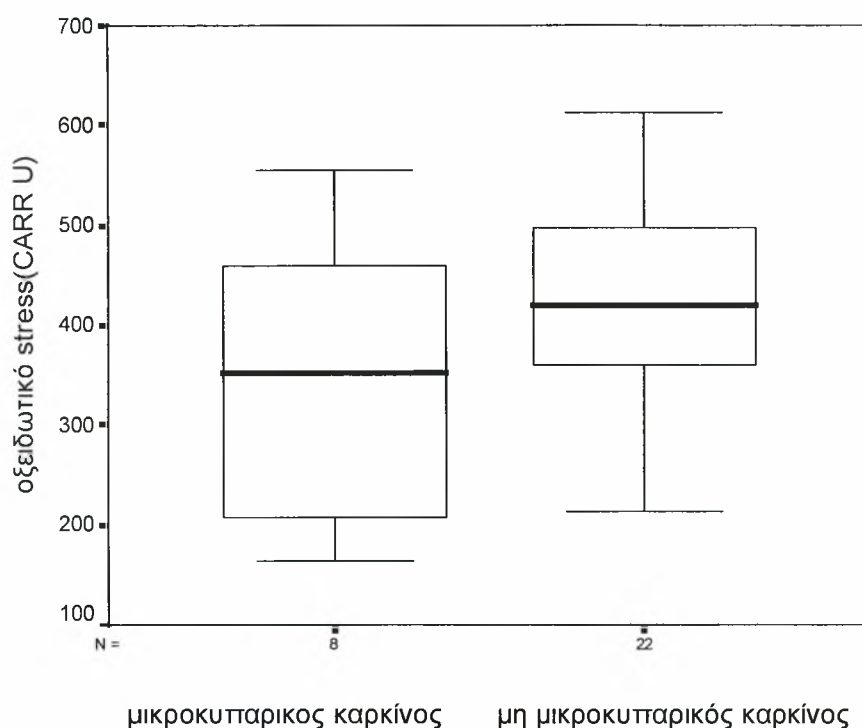
Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ημερήσιας κατανάλωσης αλκοόλ και του καπνίσματος στους πάσχοντες από καρκίνο του πνεύμονα. Δεν βρέθηκε επίσης στην ίδια ομάδα συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και των επιπέδων ρετινόλης, ρετινοϊκού οξέος και παλμιτικής ρετινόλης. Τέλος δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και των μορφών της βιταμίνης Α που αναφέρονται ανωτέρω.

Η στατιστική επεξεργασία έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο $p=0,000$ μεταξύ του οξειδωτικού stress στους καρκινοπαθείς και του οξειδωτικού stress στους υγιείς μάρτυρες(μέση τιμή± σταθερή απόκλιση : $405,71 \pm 113,90$ CARR U στους καρκινοπαθείς έναντι $282,2 \pm 34,09$ CARR U στους υγιείς μάρτυρες). (Εικόνα 9).



Εικόνα 9: Οξειδωτικό stress σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και σε υγιείς μάρτυρες($p < 0,001$ σύμφωνα με το student t-test).

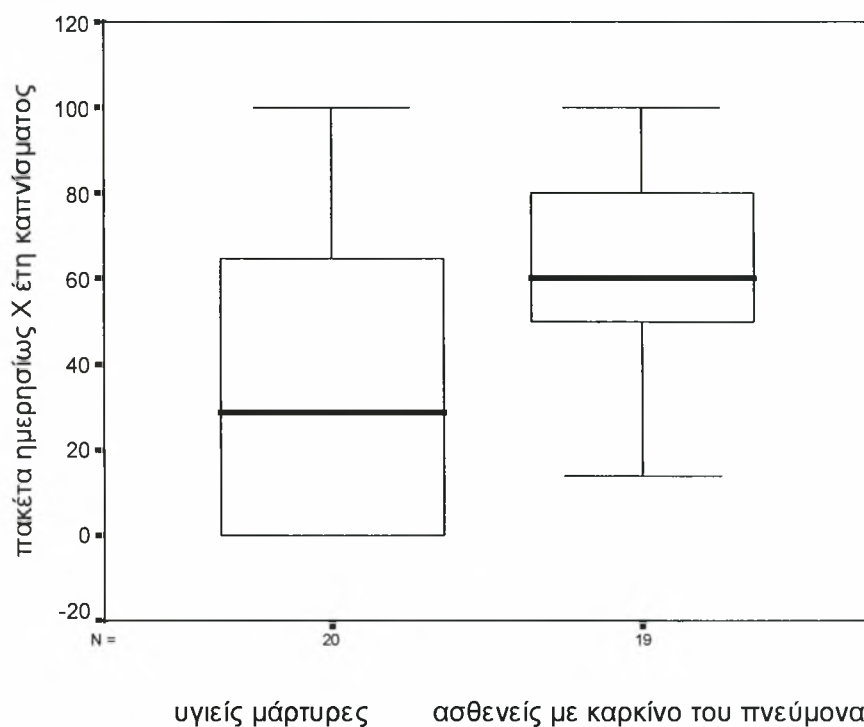
Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο οξειδωτικό stress μεταξύ των ασθενών που διαγνώστηκε μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα και σε αυτούς που διαγνώστηκαν άλλοι ιστολογικοί τύποι καρκίνου. (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Οξειδωτικό stress σε ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και σε ασθενείς με άλλους ιστολογικούς τύπους καρκίνου.

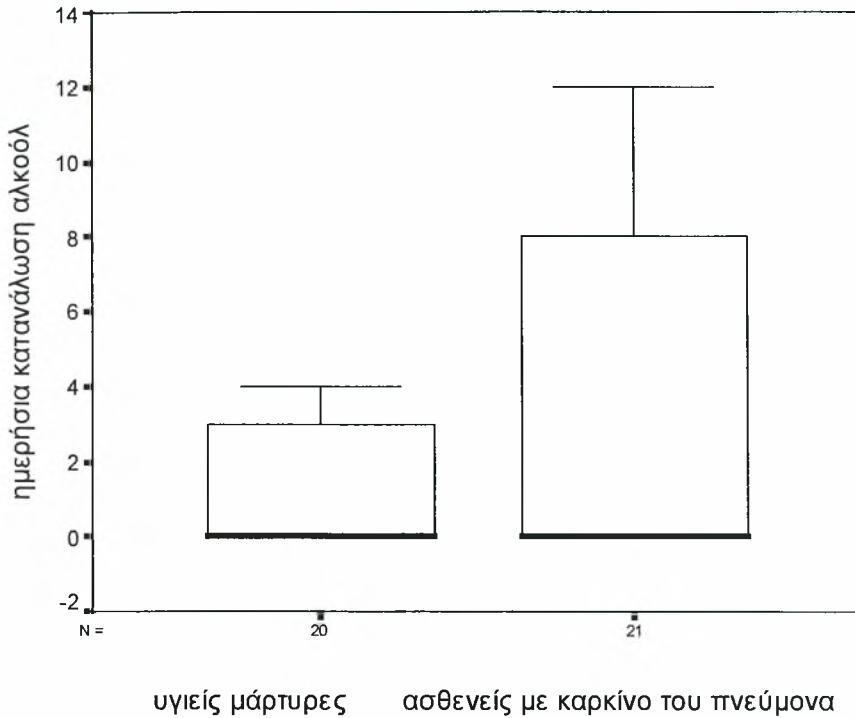
Βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανάλωση τσιγάρων μεταξύ των ασθενών και των υγιών σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p=0,003(61,53\pm$

31,92 pack years στους καρκινοπαθείς έναντι $32,85 \pm 33,75$ pack years στους υγιείς μάρτυρες). (Εικόνα 11).



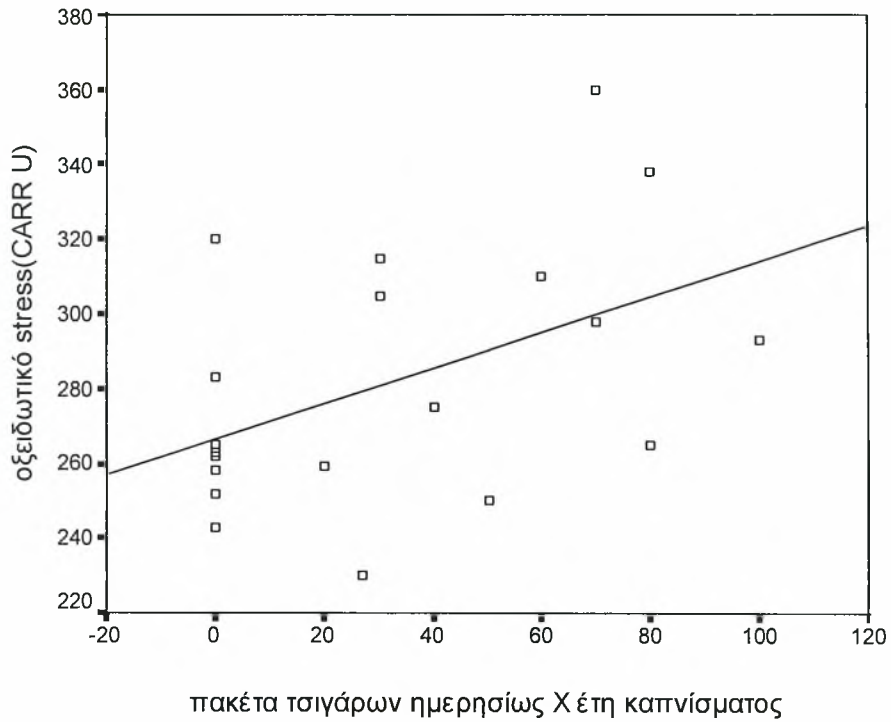
Εικόνα 11: Πακέτα τσιγάρων ημερησίως X έτη καπνίσματος(pack years) σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες ($p < 0,01$ σύμφωνα με το student t-test).

Βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ μεταξύ των πασχόντων από καρκίνο του πνεύμονα και των υγιών μαρτύρων (4,60 με εύρος 0-15 και 1,55 με εύρος 0-8 αντίστοιχα, $p=0,007$). (Εικόνα 12).

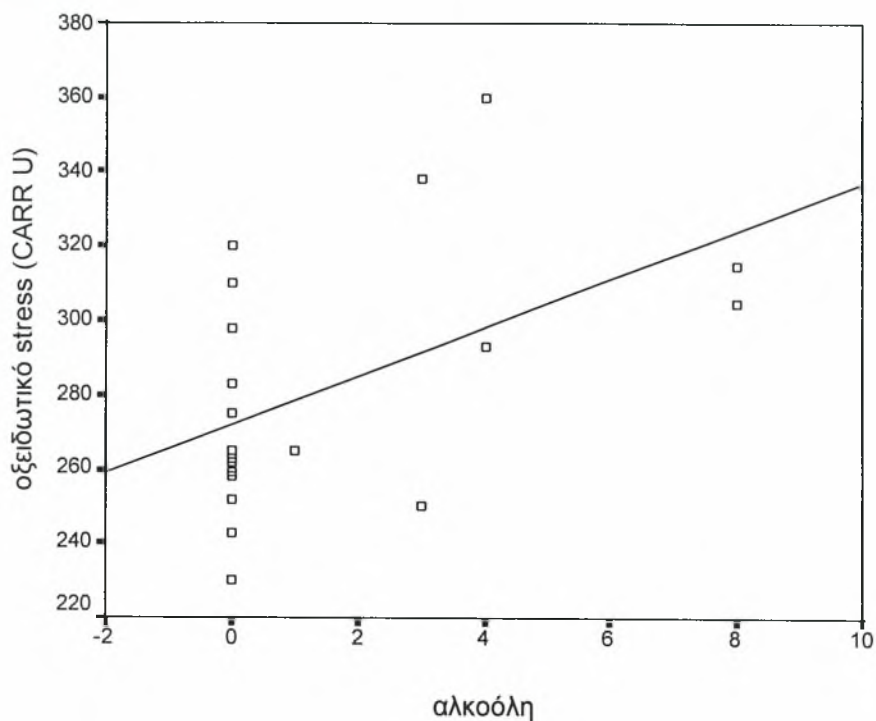


Εικόνα 12: Κατανάλωση αλκοόλης σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και υγιείς μάρτυρες($p < 0,01$ σύμφωνα με το student t-test).

Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης τσιγάρων και του οξειδωτικού stress στους πάσχοντες από καρκίνο του πνεύμονα ενώ βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω μεταβλητών ($R=0,47$, $p=0,03$) στους υγιείς μάρτυρες. (Εικόνα 13). Ανάλογα δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ημερήσιας κατανάλωσης αλκοόλ και του οξειδωτικού stress στους καρκινοπαθείς ενώ βρέθηκε θετική συσχέτιση στους υγιείς μάρτυρες ($R=0,50$, $p = 0,02$). (Εικόνα 14).



Εικόνα 13 : Συσχέτιση καπνίσματος και οξειδωτικού stress στους υγιείς μάρτυρες (R=0,47, p=0,03).



Εικόνα 14 : Συσχέτιση κατανάλωσης αλκοόλης και οξειδωτικού stress στους υγιείς μάρτυρες ($R=0,50$, $p =0,02$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα της μελέτης μας φάνηκε πως οι ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα ρετινοϊκού οξέος που είναι η ενεργός μορφή της βιταμίνης Α σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, ενώ οι καρκινοπαθείς δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ρετινόλης και της παλμιτικής ρετινόλης που είναι αντίστοιχα η κύρια και η αποθηκευτική μορφή της βιταμίνης Α συγκριτικά με τους υγιείς. Βρέθηκε ακόμη πως οι ασθενείς από καρκίνο του πνεύμονα παρουσιάζουν αυξημένο οξειδωτικό stress συγκριτικά με ανθρώπους που δεν πάσχουν από κάποια κακοήθεια.

Η ιδέα για τη μέτρηση των μορφών της βιταμίνης Α σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα βασίστηκε σε επιδημιολογικές μελέτες που έχουν γίνει με τη χρήση ερωτηματολογίων για τις διαιτητικές συνήθειες και τη μέτρηση ιχνοστοιχείων στο περιφερικό αίμα. Οι μελέτες αυτές έδειξαν πως υπάρχει μειωμένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα σε αυτούς που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες βιταμινών και σε αυτούς που έχουν αντίστοιχα αυξημένα επίπεδα ιχνοστοιχείων στο περιφερικό αίμα^{30,41,42}. Ανάλογες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και της πνευμονικής λειτουργίας. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα από την NHANAS III μελέτη έδειξαν πως όσο μεγαλύτερη η κατανάλωση ουσιών με μεγαλύτερη αντιοξειδωτική

ικανότητα τόσο καλύτερη η πνευμονική λειτουργία, και ειδικότερα τα υψηλά επίπεδα β-καρωτενίου ήταν συνδεδεμένα με υψηλότερες τιμές FEV1 και FVC¹⁸⁸.

Για την εξήγηση των αποτελεσμάτων των επιδημιολογικών μελετών και των παρατηρήσεων σε βασικό επίπεδο για τον τρόπο δράσης της βιταμίνης A έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί¹⁸⁹. Ο πρώτος μηχανισμός αφορά την αντιοξειδωτική δράση της, ενώ ένας άλλος μηχανισμός αφορά τη δράση της μέσω του ρετινοϊκού οξέος. Αναφέρεται ακόμη ο ανοσολογικός μηχανισμός και ο μηχανισμός μέσω της παραγωγής ενζύμων που καταλύουν τη διάσπαση καρκινογόνων για τον οποίο όμως υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα στη βιβλιογραφία.

Για τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό δράσης της βιταμίνης A, φαίνεται πως το β-καρωτένιο έχει την ικανότητα να εξουδετερώνει τη ρίζα του οξυγόνου. Μελέτες που έχουν γίνει *in vitro* τεκμηρίωσαν την ικανότητα του β-καρωτενίου να καταστέλλει τις ελεύθερες ρίζες με μηχανισμούς που περιλαμβάνουν την προσθήκη των ελευθέρων ριζών στο β-καρωτένιο, την αφαίρεση υδρογονοκατιόντων και, ή τη μεταφορά ηλεκτρονίων. Επιπλέον η βιταμίνη A μπορεί να αναπαράγει την αντιοξειδωτική μορφή της βιταμίνης E αλλά όχι της βιταμίνης C¹⁹⁰⁻¹⁹¹. Το β-καρωτένιο μπορεί ακόμη να λειτουργήσει ως αντιοξειδωτικό που εξουδετερώνει ελεύθερες ρίζες τόσο στις LDL και τις HDL λιποπρωτεΐνες όσο και στις κυτταρικές μεμβράνες¹⁹². Στις λιποπρωτεΐνες το β-καρωτένιο προστατεύει τη βιταμίνη E από την οξείδωση και οξειδώνεται πριν τη βιταμίνη E. Σημαντικά είναι τα δεδομένα που δείχνουν τη συνεργική δράση του β-καρωτενίου, της βιταμίνης E και της βιταμίνης C στην προστασία των λιπιδίων των μεμβρανών. Τέλος, όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση του β-καρωτενίου φαίνεται πως αυτή επηρεάζεται από τις διάφορες πιέσεις του οξυγόνου. Οι Niki και άλλοι έδειξαν πως η αντιοξειδωτική ικανότητα του β-

καρωτενίου είναι υψηλότερη στις χαμηλότερες πιέσεις οξυγόνου που απαντώνται μέσα στο ανθρώπινο σώμα¹⁹⁰.

Όσον αφορά την *in vivo* αντιοξειδωτική ικανότητα των καρωτενοειδών έχουν γίνει πλήθος μελετών σε διάφορα είδη ζώων προκειμένου να εκτιμηθεί αυτή η ικανότητα τους. Οι μελέτες αυτές συναντούν αντικειμενικές δυσκολίες επειδή τα περισσότερα ζώα απορροφούν σε μικρή ποσότητα τα καρωτενοειδή και χρειάζονται μεγάλες φαρμακολογικές ποσότητες για να φθάσουν στην κυκλοφορία σε ικανοποιητικά επίπεδα. Στα ελάχιστα όμως ζώα όπως τα κουνάβια που έχουν ικανοποιητική ικανότητα απορρόφησης των καρωτενοειδών δεν έχουν αποδειχτεί οι αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Επομένως το ανθρώπινο είδος είναι το μόνο που έχει μεγάλη ικανότητα απορρόφησης των πρόδρομων αυτών μορφών της βιταμίνης Α και αξίζει να μελετηθούν οι τυχόν αντιοξειδωτικές τους ικανότητες¹⁹³.

Κλειδί στην εκτίμηση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων των καρωτενοειδών στον άνθρωπο είναι η επιλογή κατάλληλων βιοδεικτών. Για πολλά χρόνια ο υπολογισμός της μαλονδιαλδεϋδης(MDA) ως δείκτη της οξειδωσης των λιπιδίων που περιέχουν δύο ή τρεις διπλούς δεσμούς υπήρξε σημείο αναφοράς από τους ερευνητές για τη μελέτη του αντιοξειδωτικού αποτελέσματος με την προσθήκη καρωτενοειδών σε καταστάσεις αυξημένου οξειδωτικού stress. Έτσι οι Dixon και άλλοι εφάρμοσαν σε γυναίκες διαιτολόγιο φτωχό σε ρετινοειδή και παρατήρησαν αύξηση στην παραγόμενη ποσότητα μαλονδιαλδεϋδης¹⁹⁴. Η αύξηση αυτή αντιστράφηκε με την επαναφορά ενός διαιτολογίου πλούσιου σε καρωτενοειδή ενισχύοντας έτσι την αρχική εκτίμηση πως τα καρωτενοειδή μειώνουν το οξειδωτικό stress στον άνθρωπο. Μία άλλη κατηγορία ανθρώπων με αυξημένο οξειδωτικό stress είναι οι ασθενείς με κυστική ίνωση. Είναι γνωστό από την παθοφυσιολογία της νόσου πως οι ασθενείς αυτοί λόγω της μειωμένης παγκρεατικής έκκρισης έχουν μειωμένη

απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών Α και Ε. Στα παιδιά με κυστική ίνωση που χορηγήθηκαν συμπληρώματα βιταμίνης Ε δεν παρατηρήθηκε μείωση της MDA, κάτι που παρατηρήθηκε όμως με τη χορήγηση για 3 μήνες 0,5 mg/Kg β-καρωτενίου¹⁹⁵. Εκτός από τα παράγωγα οξειδωσης των λιπιδίων έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την αντιοξειδωτική δράση των ρετινοειδών η ζημιογόνος δράση του οξειδωτικού stress στο DNA. Ο πιο συνήθης δείκτης είναι είναι η 8-οξοντεοξυγουανοσίνη (8-OHdG) η οποία φαίνεται να μειώνεται στα ούρα ή τα λεμφοκύτταρα καπνιστών μετά από διαιτητική παρέμβαση με χυμούς καρότων ή αυξημένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών¹⁹⁶. Ένας ακόμη δείκτης επίδρασης του οξειδωτικού stress που έχει χρησιμοποιηθεί είναι ο αριθμός των ρηγμάτων του DNA στα λεμφοκύτταρα. Οι μελέτες έχουν δείξει πως προκαλούνται λιγότερα ρήγματα στο DNA των λεμφοκυττάρων από τη δράση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) όταν στους δότες αυτών των λεμφοκυττάρων έχει προηγουμένως χορηγηθεί χυμός τομάτας. Επιπλέον χορηγήθηκαν σε ομάδες ανθρώπων συμπληρώματα β-καρωτενίου και βρέθηκε πως η επανόρθωση του DNA ήταν πιο γρήγορη σε σχέση με αυτούς που δεν χορηγήθηκαν ανάλογα συμπληρώματα¹⁹⁷.

Στην παθολογία τέλος όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα της βιταμίνης Α, υπάρχουν παθήσεις στις οποίες η δημιουργία επώδυνων στο δέρμα βλαβών από τη δράση του ήλιου μέσω της παραγωγής ενδιάμεσων ενεργών συστατικών από τη ρίζα του οξυγόνου αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση υψηλών δόσεων β-καρωτενίου. Μια τέτοια πάθηση είναι η κληρονομική νόσος που ονομάζεται ερυθροποιητική πορφυρία στην οποία η επίδραση του ήλιου προκαλεί έντονη φλεγμονώδη αντίδραση¹⁹⁸.

Για τον ανοσολογικό μηχανισμό δράσης της βιταμίνης Α φαίνεται πως και αυτός είναι συνέπεια της ικανότητας του β-καρωτενίου για την εξουδετέρωση ριζών οξυγόνου. Ειδικότερα για την ανοσολογική δράση της βιταμίνης Α φαίνεται από

μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ομάδες υγιών πληθυσμών πως ενώ τα συμπληρώματα δεν διεγείρουν τους λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς μπορούν να διεγείρουν τους πληθυσμούς των μονοκυττάρων¹⁹⁹. Αντίθετα όταν σε ασθενείς με καρκίνο του εντέρου χορηγήθηκε χαμηλή δόση β-καρωτενίου υπήρξε ενεργοποίηση των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών²⁰⁰. Επιπλέον βρέθηκε πως η χορήγηση συμπληρωμάτων β-καρωτενίου σε ανθρώπους με ανοσοκαταστολή βοηθά στο να διατηρηθεί η επιβραδυνόμενη αντίδραση του δέρματος η οποία αποτελεί έναν αντιπροσωπευτικό δείκτη της λειτουργίας του αμυντικού συστήματος²⁰¹. Τέλος υπάρχουν 3 αναφορές στη βιβλιογραφία για την δράση των καρωτενοειδών στα NK(Natural Killer) κύτταρα τα οποία αναγνωρίζουν και αδρανοποιούν κακοήγη κύτταρα του ανθρώπινου σώματος και φαίνεται πως τα καρωτενοειδή έχουν και εκεί ενισχυτική δράση²⁰².

Ερώτημα όμως παραμένει για τα αρνητικά αποτελέσματα που έφερε η χορήγηση του β-καρωτενίου σε ομάδες υψηλού κινδύνου όπως είναι οι καπνιστές και οι εργάτες που έχουν έκθεση στον αμιάντο. Έτσι ενώ όπως προαναφέρθηκε οι επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν πως η μεγάλη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα, όταν το β-καρωτένιο χορηγήθηκε στις παραπάνω ομάδες ως συμπλήρωμα διατροφής παρατηρήθηκε αύξηση στην επίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα. Μια πιθανή εξήγηση για αυτή την καρκινογόνο δράση του έρχεται πάλι μέσω της οξειδωτικής-αντιοξειδωτικής ισορροπίας με προφανή την προοξειδωτική ικανότητα των συμπληρωμάτων που πιθανόν να προκαλούν ζημιά στο DNA ή αστάθεια στις μεμβράνες.

Για το μηχανισμό δράσης μέσω του ρετινοϊκού οξέος είναι γνωστό πως τα ρετινοειδή εξασκούν τα βιολογικά τους αποτελέσματα μέσω πυρηνικών υποδοχέων οι οποίοι συνδέονται με πρωτεΐνες που έχουν κατασταλτική ή διεγερτική δράση. Αυτές οι

σύμπλοκες ενώσεις καταλήγουν στην ενεργοποίηση γονιδίων τα οποία πυροδοτούν ανασταλτικά αποτελέσματα στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων ή δρουν διεγερτικά στη διαφοροποίηση των κυττάρων.

Διακρίνονται τρία είδη πυρηνικών υποδοχέων του ρετινοϊκού οξέως (RAR α , RAR β και RAR γ) και τρία είδη πυρηνικών υποδοχέων X (RXR α , RXR β , και RXR γ) μαζί με πολλά ισομερή. Οι υποδοχείς αυτοί παρουσιάζουν ομόλογες περιοχές με άλλα μέλη της οικογένειας των στεροειδών μεταξύ των οποίων ανήκουν οι υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών, της βιταμίνης D, και οι υποδοχείς των οιστρογόνων. Υπάρχουν ακόμη αταυτοποίητοι πυρηνικοί υποδοχείς των οποίων η φυσιολογική δράση μένει να εξιχνιαστεί. Ο δρόμος δράσης των υποδοχέων έχει διερευνηθεί μέσω της χρήσης ομόλογων ανασυνδυασμών σε καθορισμένα κύτταρα και μέσω της χρήσης ειδικών για τους υποδοχείς των ρετινοειδών αγωνιστών^{203, 204, 205}. Η έκφραση συγκεκριμένων πυρηνικών υποδοχέων συνδέεται με την ανταπόκριση στα ρετινοειδή ορισμένων προκακοήθων και κακοήθων ασθενειών. Τα ρετινοειδή συνδέονται με συγκεκριμένους τύπους των υποδοχέων ειδικών για τα ρετινοειδή. Οι υποδοχείς αυτοί περιέχουν επίσης ειδικούς τύπους σύνδεσης με το DNA οι οποίοι προκαλούν την ανταπόκριση καθορισμένων στοιχείων του γενώματος του DNA. Μετά τη σύνδεση αυτή, ακολουθεί η μεταγραφή γονιδίων στόχων, η κατασταλτική ή διεγερτική βιολογική δράση των οποίων εξαρτάται από τα ρετινοειδή. Οι πυρηνικοί υποδοχείς μπορούν να υποστούν ετεροδιμερισμό ή ομοδιμεριδισμό κατά τη διάρκεια δράσης των ρετινοειδών. Αυτοί επίσης οι υποδοχείς επικοινωνούν με ρυθμιστικές πρωτεΐνες που έχουν γνωστή συνεργική κατασταλτική ή ενεργοποιητική δράση. Αυτές οι συνδέσεις μεταξύ των πρωτεϊνών και των πυρηνικών υποδοχέων δημιουργούν ένα σημαντικό σύστημα ρύθμισης της δράσης των ρετινοειδών το οποίο επηρεάζει το σύστημα της μεταγραφής μέσω της αναμόρφωσης της χρωματίνης που σχετίζεται με την ακετυλίωση. Οι

ρυθμιστικές πρωτεΐνες αυτές αντιπροσωπεύουν επιπλέον φαρμακευτικούς παράγοντες-στόχους για προστασία εναντίον του καρκίνου²⁰⁶.

Για το RARβ γονίδιο έχει παρατηρηθεί πως η καταστολή του είναι συχνή στους επιθηλιακούς καρκίνους. Εφόσον η καταστολή του RARβ είναι συνήθης σε καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα περιλαμβανομένων και αυτών του καρκίνου του πνεύμονα, αυτό θα μπορούσε να επηρεάσει την κλινική χημειοπροστατευτική απάντηση στα κλασσικά ρετινοειδή. Οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για αυτή την καταστολή βρίσκονται υπό διερεύνηση. Από τις προκλινικές μελέτες φαίνεται πως για την καταστολή αυτή ο μηχανισμός της μεθυλίωσης του πυρηνικού υποδοχέα έχει κάποιο ρόλο. Ίσως οι παράγοντες για την απομεθυλίωση του σε συνδυασμό με ένα ενεργό ρετινοειδές θα μπορούσαν να έχουν κλινικά χημειοπροστατευτικά αποτελέσματα. Επομένως οι κλινικές μελέτες για τη χημειοπροστατευτική δράση των ρετινοειδών, πρέπει να εστιάσουν σε δρόμους που ξεπερνούν την καταστολή του RARβ⁷.

Στη μελέτη μας μελετήθηκαν επίσης τα επίπεδα του οξειδωτικού stress σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα σε σύγκριση με αυτά των υγιών μαρτύρων.

Έχουν χρησιμοποιηθεί όπως έχει ήδη προαναφερθεί διάφοροι in vivo δείκτες για τη μέτρηση του οξειδωτικού stress που αποτελούν προϊόντα αντιδράσεων ή βιολογικών διαδικασιών που έχουν ήδη συμβεί μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ποσότητα της μαλονδιαλδεύδης (MDA) χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης του οξειδωτικού stress, αποτελεί προϊόν καταβολισμού των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων, ενώ μελέτες έχουν δείξει πως τα επίπεδα της MDA είναι υψηλότερα μεταξύ καπνιστών και συνδέονται άμεσα με την ημερήσια κατανάλωση τσιγάρων²⁰⁷. Επίσης τα επίπεδα του εκπνεόμενου πεντανίου αποτελούν δείκτη του οξειδωτικού stress και υπολογίζονται με τη συλλογή του εκπνεόμενου αέρα και τη μέτρηση τους σε αυτόν. Τα F(2) ισοπροστάνια τέλος είναι ισομερή των προσταγλανδινών F που

παράγονται από την οξειδωση του αραχιδονικού οξέος χωρίς τη μεσολάβηση της κυκλοοξυγενάσης, και επομένως η παραγωγή τους αυξάνει κάτω από συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού stress.

Στη δική μας μελέτη μετρήθηκαν με τη μέθοδο d-ROM τα υδροϋπεροξειδία (ROOH) τα οποία αυξάνουν σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού stress. Το πρώτο βήμα στη δημιουργία των υδροϋπεροξειδίων είναι η επίθεση ενός βιομορίου από μια ελεύθερη ρίζα. Μέσα στα κύτταρα η πιο επικίνδυνη ρίζα είναι η ρίζα του υδροξυλίου (OH[•]). Όταν η αντιοξειδωτική κυτταρική άμυνα έχει αποτύχει η ρίζα του υδροξυλίου επιτίθεται σε ένα οργανικό μόριο (συμβολίζεται ως RH-) το οποίο μπορεί να είναι λιπίδιο, αμινοξύ, πρωτεΐνη, νουκλεοτίδιο με στόχο να αφαιρέσει ένα ηλεκτρόνιο για να αποκτήσει τη σταθερότητα της. Με αυτό τον τρόπο μία νέα ενεργός ρίζα με κεντρικό άτομο τον άνθρακα (R^{*}) δημιουργείται και ξεκινά μια αλυσιδωτή αντίδραση παραγωγής νέων ριζών. Με τη σειρά της η ρίζα αυτή αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο και παράγεται μια ρίζα υδροϋπεροξυλίου (ROO^{*}). Σε τρίτη φάση η ρίζα του υδροϋπεροξυλίου μπορεί να αντιδράσει με ένα νέο οργανικό μόριο (R₁H) παράγοντας μια νέα ρίζα (R₁^{*}) και το υδροϋπεροξειδίο (ROOH). Αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση που πυροδοτήθηκε από το OH[•] θα τερματίσει όταν δύο R₁ ενωθούν να παράγουν R₁-R₁ ή όταν παρέμβει κάποιο αντιοξειδωτικό.

Οι ελεύθερες ρίζες και επομένως το οξειδωτικό stress φαίνεται να εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης. Τόσο ο καπνός του τσιγάρου όσο και η πίσσα του τσιγάρου περιέχει ελεύθερες ρίζες που προκαλούν οξειδωτικές βλάβες στον άνθρωπο. Περισσότερη έρευνα οδήγησε στην υπόθεση ότι το σύστημα των ελευθέρων ριζών που περιέχεται μέσα στην πίσσα είναι ένα ισορροπημένο μείγμα από ημικιόνες, υδροκινόνες, και κινόνες¹⁵⁷. Θεωρείται πως αυτό το σύμπλεγμα επιδρά στην οξειδοαναγωγή και δημιουργεί ανιόντα σουπεροξειδίου από μοριακό

οξυγόνο που οδηγούν στη συνέχεια στο σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου, και ριζών υδροξυλίου.

Οι οξειδωτικές ρίζες που σχετίζονται με την καπνιστική συνήθεια οδηγούν σε πολλαπλές γενετικές μεταβολές των κυττάρων που καταλήγουν στην απενεργοποίηση κατασταλτικών για τον καρκίνο γονιδίων και την ενεργοποίηση ογκογονιδίων με τελικό αποτέλεσμα την εκτροπή των κυττάρων από τη φυσιολογική ανάπτυξη. Επιπλέον, τελευταίες μελέτες έχουν δείξει πως οι οξειδωτικές ρίζες που παράγονται από την υποξία οδηγούν στην απελευθέρωση του παράγοντα που αυξάνει την αγγειογένεση¹⁸⁶. Επομένως οι ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες φαίνεται να εμπλέκονται τόσο στην έναρξη της διαδικασίας της καρκινογένεσης όσο και στην πρόοδο της.

Ως συμπέρασμα, είναι αναμφισβήτητη η σχέση του καπνίσματος με την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα και επομένως με τις οξειδωτικές ρίζες. Το κάπνισμα στις ΗΠΑ ευθύνεται για 134.000 θανάτους κάθε χρόνο από καρκίνο του πνεύμονα. Ενώ όμως η διακοπή του καπνίσματος είναι η καλύτερη προστασία για την πρόληψη του καρκίνου του πνεύμονα, ο αριθμός των καπνιστών που εξακολουθεί να καπνίζει παραμένει εξαιρετικά υψηλός. Έτσι προκύπτει η ανάγκη για τον περιορισμό του κινδύνου, και οι διαιτητικές παρεμβάσεις αποτελούν την ελπίδα μέσω της αντιοξειδωτικής δράσης τους στην προστασία των ιστών από τη δράση των ελευθέρων ριζών.

Στη μελέτη μας βρέθηκε πως τα επίπεδα που ρετινοϊκού οξέος στους ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο του πνεύμονα είναι χαμηλότερα σε σύγκριση με εκείνα των ανθρώπων που δεν πάσχουν από κάποια κακοήθεια ενώ παράλληλα βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα του οξειδωτικού stress στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Για αυτό το αποτέλεσμα δεν είναι βέβαια δυνατό να διευκρινιστεί αν αυτό το ίδιο το οξειδωτικό stress έχει δράσει ως αιτιολογικός

παράγοντας μέσω του καπνίσματος ή άλλων συνεργικών παραγόντων ή μέσω του ελαττωμένου αντιοξειδωτικού συστήματος μέρος του οποίου πιθανόν να αποτελούν τα μειωμένα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος. Επιπλέον δεν είναι γνωστό αν τα αυξημένα επίπεδα του οξειδωτικού stress είναι ίσως ένα μέρος της ίδιας της νόσου κάτι που ενισχύεται έμμεσα και από την παρατήρηση μας πως υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και της κατανάλωσης αλκοόλης και των επιπέδων του οξειδωτικού stress μόνο στους υγιείς μάρτυρες. Χρειάζεται η μελέτη να επεκταθεί σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών για να έχουμε πιθανόν αξιοποιήσιμα αποτελέσματα. Πρέπει ακόμη να μελετηθούν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress προοπτικά για να εκτιμηθεί η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση, και να συγκριθούν σε σχέση με την ανάπτυξη άλλων πνευμονοπαθειών ή άλλων ασθενειών γενικά.

Επιπλέον ερωτηματικά προκύπτουν σχετικά με την παρατήρηση μας πως ενώ δεν υφίσταται στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ρετινόλης και της παλμιτικής ρετινόλης, το ρετινοϊκό οξύ που είναι η ενεργός μορφή της βιταμίνης Α είναι μειωμένο σε αυτούς που πάσχουν από καρκίνο του πνεύμονα. Αυτό πιθανόν να σημαίνει πως υποκρύπτεται κάποιο ελάττωμα στο μεταβολισμό της βιταμίνης Α ή απλά να είναι φαινόμενο που προκύπτει από την ίδια τη νόσο. Πρέπει επομένως και αυτό το τμήμα της μελέτης μας να επεκταθεί σε μεγαλύτερο αριθμό ατόμων και να μελετηθεί καλύτερα η βιοδιαθεσιμότητα της βιταμίνης Α. Δεν είναι ακόμη δυνατόν να γνωρίζουμε αν τα μειωμένα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος ευθύνονται έστω και μερικά για τα αυξημένα επίπεδα του οξειδωτικού stress στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και επομένως είναι απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση αυτού του αποτελέσματος που προέκυψε από τη μελέτη μας. Πρέπει ακόμη να μελετηθούν συγκριτικά τα διάφορα ισομερή του ρετινοϊκού οξέος στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Στη συνέχεια η μελέτη θα πρέπει να

επεκταθεί σχετικά με τη δράση των ισομερών του ρετινοϊκού οξέος σε βασικό επίπεδο, και συγκεκριμένα σχετικά με το ρόλο του στην καταστολή και την ενεργοποίηση ογκογονιδίων, αφού οι μελέτες που έχουν γίνει μέχρι τώρα έχουν αποδείξει την εμπλοκή του τόσο στην πρόληψη του καρκίνου του πνεύμονα όσο και στη θεραπεία του.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη εστιάστηκε σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα στους οποίους μετρήθηκαν τα επίπεδα τριών μορφών της βιταμίνης Α στο αίμα και συγκεκριμένα του ρετινοϊκού οξέος, της ρετινόλης, και της παλμιτικής ρετινόλης. Σε ασθενείς με αυτή τη νόσο μελετήθηκαν επίσης τα επίπεδα του οξειδωτικού stress με τη μέτρηση των υδροϋπεροξειδίων που αποτελούν ενδιάμεσα προϊόντα της οξειδωτικής δραστηριότητας του οργανισμού.

Τα αποτελέσματα της μελέτης οδήγησαν στα παρακάτω αποτελέσματα:

- 1) Τα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος, της ενεργού μορφής της βιταμίνης Α που συνδέεται με τους πυρηνικούς υποδοχείς για την ενεργοποίηση και την καταστολή γονιδίων είναι μειωμένα στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες..
- 2) Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ρετινόλης που είναι η κύρια μορφή της βιταμίνης Α και βρίσκεται υπό αυστηρό ομοιοστατικό έλεγχο στον ανθρώπινο οργανισμό αλλά και στα επίπεδα της παλμιτικής ρετινόλης, του εστέρα της βιταμίνης Α που αποθηκεύεται στους ιστούς και συνεισφέρει στην ομοιοστασία της βιταμίνης Α, μεταξύ των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα και αυτά των υγιών μαρτύρων.
- 3) Τα επίπεδα των υδροϋπεροξειδίων που αντιπροσωπεύουν έμμεσα τα επίπεδα του οξειδωτικού stress είναι αυξημένα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα κατά τη διάγνωση της νόσου σε σύγκριση με αυτά των υγιών μαρτύρων.

4)Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ μεταξύ των πασχόντων από καρκίνο του πνεύμονα και των υγιών μαρτύρων, όπως επίσης υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανάλωση τσιγάρων μεταξύ των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα και των υγιών μαρτύρων. Επιπλέον δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος (πακέτα τσιγάρων ημερησίως Χ τα έτη καπνίσματος) ή της ημερήσιας κατανάλωσης αλκοόλ και του οξειδωτικού stress στους καρκινοπαθείς ενώ αντίθετα υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση στους υγιείς μάρτυρες.

5)Από όλα τα ανωτέρω συνολικά προκύπτει πως είναι πιθανό να υπάρχει σχέση βιταμίνης A και οξειδωτικού stress και συγκεκριμένα τα μειωμένα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος να ευθύνονται για τα αυξημένα επίπεδα του οξειδωτικού stress στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της μελέτης μας ήταν να εκτιμηθούν τα επίπεδα στο αίμα των διαφόρων μορφών της βιταμίνης Α και συγκεκριμένα της ρετινόλης, της παλμιτικής ρετινόλης και του ρετινοϊκού οξέος, σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και να συγκριθούν με τα αντίστοιχα επίπεδα σε υγιείς μάρτυρες. Εκτιμήθηκαν ακόμη τα επίπεδα του οξειδωτικού stress στο αίμα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και έγινε σύγκριση τους με αυτά σε ανθρώπους χωρίς ιστορικό κακοήθειας στο ατομικό αναμνηστικό τους.

Η διάγνωση των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα βασίστηκε στο ατομικό ιστορικό του ασθενή, τον απεικονιστικό έλεγχο, και τον ενδοσκοπικό έλεγχο με εύκαμπτο βρογχοσκόπιο για τη λήψη βιοψιών. Προϋπόθεση για την τελική διάγνωση ήταν η θετική απάντηση για κακοήθεια του πνεύμονα από το παθολογοανατομικό και κυτταρολογικό εργαστήριο. Οι μετρήσεις σε δείγματα αίματος υγιών μαρτύρων έγιναν σε ανθρώπους χωρίς ιστορικό κακοήθειας στο ατομικό αναμνηστικό τους. Η μέτρηση των επιπέδων του ρετινοϊκού οξέος, της ρετινόλης, και της παλμιτικής ρετινόλης έγινε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) ενώ η εκτίμηση του οξειδωτικού stress έγινε με τη φασματομετρική μέθοδο d-ROM η οποία προσδιορίζει τη συγκέντρωση υδροϋπεροξειδίων σε βιολογικά υγρά.

Μελετήθηκαν 68 ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Σε 36 από αυτούς τους ασθενείς εκτιμήθηκαν τα επίπεδα της βιταμίνης Α και συγκρίθηκαν με αυτά 20 υγιών μαρτύρων. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν πως τα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος της ενεργού δηλαδή μορφής της βιταμίνης Α είναι χαμηλότερα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, ενώ τα επίπεδα της ρετινόλης και της παλμιτικής ρετινόλης που είναι αντίστοιχα η κύρια και η αποθηκευτική μορφή της βιταμίνης Α δε διαφέρουν σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ανάμεσα στις δύο ομάδες πληθυσμών. Στους άλλους 32 ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα εκτιμήθηκαν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress και συγκρίθηκαν με αυτά 20 υγιών μαρτύρων. Το οξειδωτικό stress βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερο στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες.

Επομένως τα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος είναι μειωμένα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα ενώ είναι αντίστοιχα αυξημένα τα επίπεδα του οξειδωτικού stress σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Δεδομένου πως η επίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα εξακολουθεί να αυξάνει και στα δύο φύλα, οι διατροφικές παρεμβάσεις πιθανόν να αποτελούν την ελπίδα μέσω της αντιοξειδωτικής δράσης τους για την πρόληψη αυτής της μορφής καρκίνου. Αφού τα επίπεδα του ρετινοϊκού οξέος είναι χαμηλότερα στους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα όπως προέκυψε από τη μελέτη μας, πρέπει να μελετηθεί αν αυτό είναι υπεύθυνο για τα αυξημένα επίπεδα του οξειδωτικού stress στους καρκινοπαθείς αφού είναι δεδομένη η αντιοξειδωτική ικανότητα της βιταμίνης Α. Επιπλέον πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω ο ρόλος αυτού του ελλείμματος στη διαδικασία της καρκινογένεσης αφού είναι γνωστός ο βιολογικός ρόλος του ρετινοϊκού οξέος στην ενεργοποίηση και καταστολή γονιδίων μέσω της σύνδεσης του με πυρηνικούς υποδοχείς.

SUMMARY

The aim of our study was to investigate vitamin A metabolism by assessing retinoic acid, retinol and retinyl palmitate levels in the blood of patients with lung cancer and comparing them with those of healthy people. Oxidative stress levels were also estimated in people with lung cancer and were compared with those of people without any malignancy in their personal history.

Diagnosis of people with lung cancer was based on their personal history, imaging techniques, and endoscopic examination of the tracheobronchial tree with flexible bronchofiberscope. The final diagnosis was based upon the biopsy result which was received from the cytologist. Blood samples were also obtained from people without malignancy in their personal history and were used as health controls. The assessment of retinoic acid, retinol and retinyl palmitate was done with liquid chromatography method, HPLC, while the assessment of oxidative stress was done by using the spectrometric method d-ROM which assesses the hydroperoxide levels in biological liquids.

Sixtyeight 68 people were selected with lung cancer. Vitamin A levels were estimated in 36 from these patients and were compared with those of 20 healthy

people. The results showed that retinoic acid levels which are the active form of vitamin A are lower in people with lung cancer in comparison with those of healthy people, while retinol and retinyl palmitate levels which are the predominant and the storage form of vitamin A respectively, do not differ statistically between the two groups. In addition, oxidative stress levels were estimated in the other 32 people with lung cancer and were compared with those of 20 healthy controls. The results showed that oxidative stress levels are much higher in people suffering from this particular disease in comparison with those of the healthy group.

In conclusion, people with lung cancer have lower retinoic acid levels in their blood while they also have higher oxidative stress levels in comparison with healthy controls. Since lung cancer incidence is still increasing in both sexes, dietary interventions through their antioxidant activities may be the only hope for lung cancer chemoprevention. As long as retinoic acid levels are lower in lung cancer people, we have to study whether this deficiency is responsible for increased oxidative stress levels in those people since vitamin A is considered to have antioxidant properties. We also have to examine the role of this deficiency in carcinogenesis through the biological role of retinoic acid in activation and inactivation of oncogenes after its connection with nuclear receptors.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Doll R. Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risk cancers in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66:1191-1308.
2. Ommen GS, Goodman GE, Thornquist MD. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:1550-1559.
3. Ommen GS, Goodman GE, Thornquist MD. Beta- carotene supplementation and incidence of cancer and cardiovascular disease: the Women's Health Study. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:2102-2106.
4. Van Zandwijk N, Dalesio O, Pastorino U. EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcystein in patients with head and neck cancer or lung cancer: for the European Organization for Research and Treatment of Cancer and Neck and Lung Cancer Cooperative Groups. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:977-986.
5. Marian L. Neuhouser, Ruth E. Patterson, Mark D. Thorngquist, Gilbert S.Omen, Irena B.King and Gary E. Goodman: Fruits and vegetables are associated with lower lung cancer risk only in the placebo arm of the b carotene and retinol efficacy trial(CARET) *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* April 2003; 12: 350-358.
6. Anthony J. Alberg and Jonathan M. Sanet : Epidemiology of lung cancer *Chest* 2003; 123 :21S-48S.
7. Konstantin H. Dragnev, Diane Stover, Ethan Dmitrovsky: Lung cancer prevention, the guidelines. *Chest* 2003; 123:60S-71S.

8. Michael J. Kelley and Douglas C. McCrory : Prevention of lung cancer, Summary of Published Evidence. *Chest* 2003; 123:50S-59S.
9. Fadio R, Khuri, Reuben Lotan: Retinoids in lung cancer: friend, foe or fellow traveler? *Journal Clinical Oncology* 2004; 22: 3435-3437.
10. Trichopoulos D, Kalandidi A, Sparos L. Lung cancer and passive smoking. *Int J Cancer* 1982; 27:1-4.
11. Charlos A, Quix E, Wolkove N. The increasing incidence of lung adenocarcinoma: reality or artefact? a review of the epidemiology of lung adenocarcinoma. *Int J Epidemiology* 1997; 26:14-23.
12. Saracci R, Boffeta P. Interactions of tobacco smoking and other causes of lung cancer. In: Samet JM, ed. *Epidemiology of lung cancer* . New York, NY: Marcel Dekker, 1994; 465-493.
13. Checkoway H, Franzblau A. Is silicosis required for silica associated lung cancer? *Am J Ind Med* 2000; 37:252-259.
14. Hessel PA, Gamble JF, Gee JB. Silica , silicosis, and lung cancer: a response to a recent working group report. *Occup Envir Med* 2000; 42: 704-720.
15. Wedler HW. Asbestosis and pulmonary carcinoma (asbestose and lungernkrebs) *Bull Hyg* 1994; 19:362.
16. Lynch KM, Smith WA. Pulmonary asbestosis:V. A report of bronchial carcinoma and epithelial metaplasia. *Am J Cancer* 1939; 36:567-573.
17. Hammond EC, Selicoff IJ, Seidman H. Asbestos exposure , cigarette smoking and death rates. *Ann N Y Acad Sci* 1979; 330:473-490.
18. National Research Council (NRC), Committee on Health Risks of Exposure to Radon, Board on Radiation Effects Research. Health effects of exposure to radon (BEIR VI). Washington , DC: National Academy Press, 1998.

19. Lubin JH, Boice JD Jr, Edling C. Lung cancer in radon-exposed miners and estimation of risk from indoor exposure. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 817-827.
20. Shimizu Y, Schull WJ, Kato H. Cancer risk among atomic bomb survivors. *JAMA* 1990; 264:601-604.
21. Davis FG, Boice JD Jr, Hrubec Z. Cancer mortality in radiation-exposed cohort of Massachusetts tuberculosis patients. *Cancer Res.* 1989; 49:6130-6136.
22. Howe GR. Lung cancer mortality between 1950 and 1987 after exposure to fractionated moderate-dose-rate ionizing radiation in the Canadian Fluoroscopy Cohort Study and a comparison with mortality in Atomic Bomb Survivors Study. *Radiat Res* 1995; 142: 295-304.
23. Buffler PA, Cooper SP, Stinnett S. Air pollution and lung cancer mortality in Harris County, Texas, 1979-1981. *Am J Epidemiology* 1988; 128:683-699.
24. Nasca PC, Burnett WS, Greenwald P. Population density as an indicator of urban-rural differences in cancer incidence, upstate New York, 1968-1972. *Am J Epidemiology* 1980; 112:362-375.
25. Stocks P. Recent epidemiological studies of lung cancer mortality, cigarette smoking and air pollution, with discussion of a new hypothesis of causation, *Br J Cancer* 1966; 2:596-623.
26. Mumford JL, Helmes CT, Lee XM. Mouse skin tumorigenicity studies of indoor coal and wood combustion emissions from homes of residents in Xuan Wei, China with high lung cancer mortality. *Carcinogenesis* 1990; 11:397-403.
27. Xu Z-Y, Blot WJ, Xiao HP. Smoking, air pollution and the high rates of lung cancer in Shenyang, China. *J. Natl Cancer Inst* 1989; 81: 1800-1806.
28. Alavanja MC, Brown CC, Swanson C. Saturated fat intake and lung cancer risk among nonsmoking women in Missouri. *J Natl Cancer Instit* 1993; 85:1906-1916.

- 29 Brena P, Fortes C, Butler J. A multicenter case control study of diet and lung cancer among nonsmokers. *Cancer Causes Control* 2000; 11:49-58.
30. Candelora EC, Stockwell HG, Armstrong AW. Dietary intake and risk of lung cancer in women who never smoked. *Nutr Cancer* 1992; 17:262-270.
31. Bandra EV, Freudeinheim JL, Marshall JR. Diet and alcohol consumption and lung cancer risk in the New York State Cohort (United States) *Cancer Causes Control* 1997; 8: 828-840.
- 32 Byers TE, Graham S, Haughey BP. Diet and lung cancer risk: findings from the Western New York Diet Study. *Am J Epidemiology* 1987; 125:351-363.
33. Fontham ETH, Pickle LW, Haenszel W. Dietary vitamins A and C, and lung cancer risk in Louisiana. *Cancer* 1988; 62: 2267-2273.
34. Gregor A, Lee PN, Roe FJC. Comparison of dietary histories in lung cancer cases and controls with special reference to vitamin A. *Nutr Cancer* 1980; 2:93-97.
35. Nyberg F, Isaksson I, Harris JR. Misclassification of smoking status and lung cancer risk from environmental tobacco smoke in never smokers. *Epidemiology* 1991; 8:304-309.
36. Paganini-Hill A, Ross RK, Gray GE. Vitamin A, and cancer incidence in a retirement community. *Natl Cancer Inst Monogr* 1985; 69:133-135.
37. Shekelle RB, Lepper M, Liu S. Dietary vitamin A, and risk of cancer in the Western Electric study. *Lancet* 1981; 2:1186-1190.
38. Le Marchand L, Hankin JH, Kolonel LN. Intake of specific carotenoids and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2:183-187.
39. Michaud DS, Feskanich D, Rimm EB. Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:990-997.

40. Nyberg F, Argenius V, Swartenger K. Dietary factors and risk of lung cancer in never smokers. *Int J Cancer* 1998; 78:430-436.
41. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1997; 337:1491-1499.
42. Metlinn C. Milk drinking, other beverage habits and lung cancer risks. *Int J Cancer* 1989; 43:608-612.
43. Voorrips LE, Goldbohn RA, Verhoeven DT. Vegetable and fruit consumption and lung cancer risk in the Netherlands. Cohort Study on diet and cancer. *Cancer Causes Control* 2000; 11:101-115.
44. Denissenko MF, Pao A, Tang M et al: Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* 1996; 274:430-432
45. Hollstein M, Shomer B, Greenblatt D, et al: Somatic point mutations in the p53 gene of human tumors and cell lines: Updated compilation. *Nucleic Acid Res* 1996;24:141-146.
46. Ryberg D, Kure E, Lystad S, et al: p53 mutations in lung tumors: relationship to putative susceptibility markers for cancer. *J Cancer Res* 1994; 54:1551-1555.
47. Wang X, Christiani DC, Wiencke JK, et al: Mutations in the p53 gene in lung cancer are associated with cigarette smoking and asbestos exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4:543-548.
48. Kawajiri K, Eguchi H, Nakachi K, et al: Association of CYP1A1 germline polymorphisms with mutations of the p53 gene in lung cancer. *Cancer Res* 1996; 56:72-76.
49. Husgafvel-Pursiainen K, Kackman P, Ridanpaa M et al: K-ras mutations in human adenocarcinoma of the lung: Association with smoking and occupational exposure to asbestos. *Int J Cancer* 1993;53:250-256.

50. Mountain CF: A system for the clinical staging of lung cancer. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1974; 120:130.
51. Mc Dowell EM: The respiratory epithelium. V. Histogenesis of lung carcinoma in the human. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61:587-606.
52. Graziano S: The use of neuroendocrine immunoperoxidase markers to predict chemotherapy response in patients with non- small -cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1398.
53. Kreyberg L: Histologic typing of lung tumors . *In* Kreyberg L(ed):International Histologic Classification of tumors, No. 1. Geneva : World Health Organization,1987, p.19
54. Kulke MH, Mayer RJ: Carcinoid tumors.*N Eng Med J* 1999; 340: 858-868
55. Godwin JD II: Carcinoid tumors. An analysis of 2837 cases. *Cancer* 1975; 36:560.
56. Weiss W: The Philadelphia Pulmonary Neoplasm Research Project: Symptoms in occult lung cancer. *Chest* 1978; 73:57.
- 57.Kanhouwa SB: Reliability of cytologic typing of lung cancer. *Acta Cytol (Baltimore)* 1976;20:229.
58. Westcott JL: Percutaneous needle aspiration of hilar and mediastinal masses. *Radiology* 1981; 141:323.
- 59.George PJ: Fluorescence bronchoscopy for the early detection of lung cancer.*Thorax* 1999; 54:180-183.
60. Lam S, Kennedy T, Unger M, et al: Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy. *Chest* 1998; 113:696-702.
61. Mountain CF:Lung cancer staging classification.*Clin Chest Med* 1993;14:43-53.

62. Vansteenkiste JF, Stroobants SG, De Leyn PR et al: Lymph node staging in non-small cell lung cancer with FDG-PET scan: A prospective study on 690 lymph node stations from 68 patients. *J Clin Oncol* 1998; 16:2142-2149.
63. Mountain C: Revisions in the International System for Staging Lung cancer. *Chest* 1997; 111:1710-1717.
64. Lassen U, Hansen HH: Small cell carcinoma of the Lung. In Hankells CM: *Cancer Treatment*. Philadelphia :WB Saunders, 1995; 414-420.
65. Kelloff GJ, Sigman CC, Greenwald P. Cancer chemoprevention : progress and promise. *Eur J Cancer* 1999; 5:1755-1762.
66. Lonardo F, Rusch V, Langenfeld J. Overexpression of cyclins D1 and E is frequent in bronchial preneoplasia and precedes squamous cell carcinoma development. *Cancer Res* 1999; 59:2470-2476.
67. Rusch V, Klimsta D. Aberrant expression of p53 or the epidermal growth factor receptor is frequent in early bronchial neoplasia and coexpression precedes squamous cell carcinoma development. *Cancer Res* 1995; 55:1365-1372.
68. Albanell J, Lonardo F, Rusch V. High telomerase activity in primary lung cancers: association with increased cell proliferation rates and advanced pathologic stage. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1609-1615.
69. Wistula II, Behrens C, Milchgrub S. Sequential molecular abnormalities are involved in the multistage development of squamous cell lung carcinoma. *Oncogene* 1999; 18:643-650.
70. Park IW, Wistula II, Maitra A. Multiple clonal abnormalities in the bronchial epithelium of patients with lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:1863-1868.
71. Saccomano G, Archer VE, Auerbach O. Development of carcinoma of the lung as reflected in exfoliated cells. *Cancer* 1974; 33:256-270.

72. Khuri FR, Wn II, Lee JJ. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 861-867.
73. Kliewer SA, Umesono K, Mangelsdorf DJ. Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D3 signalling. *Nature* 1992; 355:446-449.
74. Lonardo F, Dragnev KII, Freemantle SJ. Evidence for the epidermal growth factor receptor as a target for lung cancer prevention. *Clin Cancer Res* 2002; 8:54-6.
75. Olson JA. (2001) Vitamin A, In: *Handbook of vitamins*, 3rd ed, 1-50. Marcel Dekker, New York, NY, Basel, Switzerland.
76. Biesalski HK, Brodda K, Gabbert HE, Gerharz CD, Engers R, Haussermann B, Koller H, Weiser H, Bassler K. Uptake and metabolism of retinoic acid induces inhibition of cell growth: a study in a rat rhabdomyosarcoma cell line (BA-HAN-1C) using nonlinear theoretical models. *Int J Vitam Nutr Res* 1990; 60:4-18.
77. Alfonso L, Silke M, Thomas A, Heinz N. Metabolism of Vitamin A and its Active Metabolite All-trans-retinoic Acid in Small Intestinal Enterocytes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2000; 295:979-985.
78. Yu VC, Naar AM, Rosenfeld MG. Transcriptional regulation by the nuclear receptor superfamily. *Current Opinions in Biotechnology* 1992; 3:597-602.
79. Wolbach SB, Howe PR. Tissue changes following deprivation of fat soluble vitamin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1925; 77:825.
80. Lasninski I. The influence of hypervitaminosis on the effect of 20-methylcholanthrene on mouse prostate glands growth in vitro. *Br J Cancer* 1955; 9:434.

81. Moore T. Effect of vitamin A in animals: pharmacology and toxicology of vitamin A. In: Sebrell Haris, eds. The vitamins, Vol 1, 2nd ed. New York: Academic Press. 1967; 245.
82. Saffioti U, Montesano R, Sellakumar AR. Experimental cancer of the lung:inhibition by vitamin A of the induction of tracheobronchial squamous metaplasia and squamous cel tumors. *Cancer* 1967;20:857.
83. Bollang W. Prophylaxis of chemically induced benign and malignant epithelial tumors by vitamin A acid (retinoic acid). *Eur J Cancer* 1972;8:689.
84. Chopra DP, Wilkoff LF. Inhibition and reversal by b-retinoic acid of hyperplasia induced in cultured mouse prostate tissue by NNK. *J Nation Cancer Instit* 1976;56:583.
85. Harrisadis L, Miller RC, Hall EJ. A vitamin a analogue inhibits radiation induced oncogenic transformation. *Nature* 1978; 274:486.
86. Stricland S, Mahadvi V. The induction of differentiaton in teratocarcinoma cells by retinoic acid. *Cell* 1978; 15:393.
87. Lotan R, Nicholson GL. Inhibitory effects of retinoic acid or retinyl acetate on the growth of untransformed, transformed and tumor cells in vitro. *J Natl Cancer Instit* 1977; 59:1717.
88. Breitman TR, Selonick SE, Collins SJ . Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell lines (HL-60) by retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77:2936.
89. Breitman TR, Collins SJ, Keene BR. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cell in primary culture in response to retinoic acid. *Blood* 1981; 57:1000.
90. Huang ME, Ye YC, Chen SR. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988; 72:567.

91. Lippman SM, Bataakis JG, Toth BB. Comparison of low dose isotretinoin with b-carotene to prevent oral carcinogenesis. *N Eng J Med* 1993; 328:15.
92. Cook NR, Le IM, Manson JE. Effects of b-carotene supplementation on cancer incidence by baseline characteristics in the Physicians' Health Study(United States). *Cancer Causes Control* 2000; 11:617-626.
93. Cook NR, Le IM, Manson JE. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer supplementation and cardiovascular disease. *N Eng J Med* 1996; 334:1150-1155.
94. Khuri FR, Lippman SM. Lung cancer chemoprevention . *Semin Surg Oncol* 2000; 18: 100-105.
95. Vernes U, De Palo G, Marubini E. Randomized trial of fenretidine to prevent second breast malignancy in women with early breast cancer. *J Nat Cancer Inst* 1999; 91: 1847-1856.
96. Langenfeld J., Lonardo F, Kiyohama H. Inhibited transformation of immortalized human bronchial epithelial cells retinoic acid is linked to cyclin E down regulation . *Oncogene* 1996; 13:1983-1990.
97. Boyle JQ, Langenfeld J, Lonardo F. Cyclin D1 proteolysis : a retinoid chemoprevention signal in normal, immortalized, and transformed human bronchial epithelial cells. *J Natl Cancer Inst* 1999; 373-379.
98. Johnson L, Mercer K, Greenbaum D. Somatic activation of the K-ras oncogene causes early onset lung cancer in mice. *Nature* 2001;410:1111-1116.
99. Lonardo F, Rusch V, Langenfeld J. Overexpression of cyclins D1, and E is frequent in bronchial preneoplasia and precedes squamous cell carcinoma development. *Cancer Res* 1999; 59:2470-2476.

100. Bowser JR. Inorganic Chemistry, Brooks/Cole Publishing, Pacific Grove, 1993,Ch.9.
101. Erenel E, Erbas D, Aricioclu A. Free Radicals and Antioxidant Systems . Mater.Med .Pol . 1993; 25:147-154.
- 102.Ron K, Abraham N. Oxidation Stress Phenomena,Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. Toxicologic Pathology. 2002;30:620-650.
- 103.Toren F. Oxidant signals and oxidative stress. Current Opinion in Cell Biology 2003; 15:247-254.
104. Keniva MV, Lukash AL, Guskov EP. Role of Low –Molecular Weight Antioxidants in Oxidative Stress. Usp Sourem Biol 1993; 113:456-470.
105. Colegate SM, Molyneyx RJ. Bioactive Natural Products, Detection, Isolation and Structural Detemination, CRC Press, Boca Raton ,1993.
106. Da Vela G, Casini MC, Della Lena R, Gozzi F. From the theoretical research to clinical practice:free radicals in some pathological situations, usefulness, limits and perspectives. Etruria Medica 1995; 2:29-34.
- 107.Cornelli U, Cornelli M, Terranova R, Luca S, Belcaron G. Ageing and free radicals. Nutrition 2000 ; 3:37-50.
108. Tanganelli I, Ciccoli L, Borgogni P, Rossi V, Gistri M, Pettinari O, Signorini C, Marisi M. Markers of oxidative stress in diabetic patients. Diabetes Research and Clinical Practice 2000; 1 S :50.
109. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury.Crit Rev Toxicol.1993; 23:21-48.
110. Ternay AL, Soroskin V. Redox, Radicals, and Antioxidants. In: Baskin SI, H.S,eds. Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals. Washington, DC:Taylor & Francis 1997;1-21.

111. Halliwell B, Gutteridge MC. Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. *FEBS Lett.* 1992; 307:108-112.
112. Cornelli U, Cornelli M, Terranova R. Free-radical and vascular disease. *The International Union of Angiology's Bulletin* 1999; 15:7-10.
113. Pontiggia P, Silvotti MG, Marano F, Cuppone Curto F, Rottella GB, Sabato A. The role of whole hyperthermia in AIDS patients: effects on the free radicals level. *Med Biol Environm* 1995; 23:279-282.
114. Palumbo R, Chiaretti B, Bondanini F, Vitaliano E, Tarquini G, Galliani M, Di Blasi S, Paine A. Chronic renal failure, free radicals, and the oxidant/antioxidant status. *Journal of the American Society of Nephrology* 2000; 11:73A.
115. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* Oxford Clarendon Press 1996.
116. Kinnula VL, Crapo JP, Raivio KO. Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in the lung. *Lab Invest* 1995; 73:3-19
117. Crapo JD, Tierney DF. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. *Am J Physiol* 1974; 226:1401-1407
118. Marklund SL. Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:7634-7638.
119. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244:6049-6055.
120. Weisiger RA, Fridovich I. Mitochondrial superoxide dismutase: site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem* 1973; 248:4793-4796.
121. Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000; 16:534-554.

122. Cantin AM, North SL, Hubbard RC, Crystal RG. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol* 1987;63:152-157.
123. Pietarinen-Runti P, Lakari E, Raivio KO, Kinnula VL. Expression of antioxidant enzymes in human inflammatory cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278:C118-125.
124. Pietarinen P, Raivio K, Devlin RB, Crapo JD, Chang LY, Kinnula VL. Catalase and glutathione reductase protection of human alveolar macrophages during oxidant exposure in vitro. *Am J Cell Mol Biol* 1995; 13:434-441.
125. Kinnula VL, Lehtoven S, Kaarteenaho-Wiik R, Lakari E, Paakko P, Kang SW, Rhee SG, Soini Y. Cell specific expression of peroxiredox-ins in human lung and pulmonary sarcoidosis. *Thorax* 2002; 57:157-164.
126. Soini Y, Kahlos K, Napankagas U, Kaarteenaho-Wilk R, Saily M, Koistinen P, Paakko P, Holmgren A, Kinnula VL. Widespread expression of thioredoxin and thioredoxin reductase in non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7:1750-1757.
127. Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, Pesci A, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:854-858.
128. Crapo JD, Day BJ. Modulation of nitric oxide responses in asthma by extracellular antioxidants. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:743-746.
129. Hanazava T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 2000; 162:1273-1276.

130. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Kharitonow SA, Lim S, Fan CK, Barnes PJ. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 1998;158:1042-1046.
131. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease . *Am J Resp Crit Care Med* 2001; 163:1693-1722.
132. Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation . *Immunol Today* 1995; 16:128-130.
133. Ichinose M, Sugiora H, Yamagata S, Koarai A, Shirato K. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Resp Crit Care Med* 2000;162:701-70.
134. Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, Ward S, Cramer D, Barnes PJ. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 2000; 162:366-373.
135. Saetta M, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 2001;163:1304-1309.
136. Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis :clinical relevance of pathologic classification. *Am J Resp Crit Care Med* 1998;157:1301-1315.
137. American Thoracic Society (ATS) and European Respiratory Society(ERS). American Thoracic Society/ European Respiratory Society International multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Resp Crit Care Med* 2002;165:A277.
138. Gross TJ, Hunninghake GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001; 345:517-525.

139. Borok Z, Buhl R, Grimes GJ, Bokser AD, Hubbard RC, Holroyd KJ, Roum JK, Czerski DB, Cantin AM, Crystal RG. Effect of glutathione aerosol on oxidant-antioxidant imbalance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 1991;338:215-226.
140. Cantin AM, North SL, Fells GA, Hubbard RC, Crystal R. Oxidant mediated epithelial cell injury in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1987;79:1665-1673.
141. Nemery B, Bast A, Behr J, Borm PJ, Canus PH, De Vuyst P, Jansen HM, Kinnula VL, Lison D. Interstitial lung disease induced by exogenous agents: factors governing susceptibility. *Eur Respir J Suppl* 2001; 32:30S-42S
142. Sherson D, Nielsen H, Frederiksen J, Milman N, Struve-Christensen E, Petersen BN. Superoxide anion release from blood monocytes and alveolar macrophages in patients with diffuse lung fibrosis. *APMIS* 1992;100:408-414.
143. Strausz J, Muller-Quernheim J, Stepling H, Ferlinz R. Oxygen radical production by alveolar inflammatory cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Res Dis* 1990; 141:124-128.
144. Saleh D, Barnes PJ, Giaid A. Increased production of the potent oxidant peroxynitrite in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155:1763-1769.
145. Casatella MA, Berton G, Agostini C, Zambelo R, Trentin I, Cipriani A, Semenzato G. Generation of superoxide anion by alveolar macrophages in sarcoidosis: evidence for the activation of the oxygen metabolism in patients with high-intensity alveolitis. *Immunology* 1989; 66:451-458.
146. Behr J, Degenkolb B, Beinert T, Krombach F, Vogelmeir C. Pulmonary glutathione levels in acute episodes of farmer's lung. *Am J Resp Crit Care Med* 2000;161:1968-1971.

147. Kamp DW, Graceffa P, Pryor WA, Weitzman SA. The role of free radicals in asbestos induced diseases. *Free Radic Biol Med* 1992;12:293-315.
148. Kinnula VL. Oxidant and antioxidant mechanisms of lung disease caused by asbestos fibers. *Eur Respir Journal* 1999;14:706-716.
149. Oury TD, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase :a regulator of nitric oxide bioavailability. *Lab Invest* 1996;75:617-636.
150. Haddad IY, Ischiropoulos H, Holm BA, Beckman JS, Baker JR, Matalon S. Mechanisms of peroxynitrite-induced injury to pulmonary surfactants. *Am J Physiol* 1993;265:L555-L564.
151. Khalil N. TGF-beta :from latent to active. *Microbes Infect* 1999;1:1255-1263.
152. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Resp Crit Care Med* 2001;163:1723-1729.
153. Archer S, Rich S. Primary pulmonary hypertension : a vascular biology and translational research “work in progress”. *Circulation* 2000;102:2781-2791.
154. Balint B, Kharitonov SA, Hanazawa T, Donnelly LE, Shah PL, Hodson ME, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. *Eur Resp* 2001; 17:1201-1207.
155. Kinnula VL, Sarnesto A, Heikkila L, Toivonen H, Mattila S, Raivio KO. Assessment of xanthine oxidase in human lung and lung transplantation. *Eur Res J* 1997; 10:676-680.
156. Luna MA, Bedrossian CW, Lichtiger B, Salem PA. Interstitial pneumonitis associated with bleomycin therapy. *Am J Clin Pathol* 1972;58:501-510.
157. Hoffman D, Hecht SS. Advances in tobacco carcinogenesis. In:Cooper CS, Grover PL, editors. *Handbook of experimental pharmacology*. Vol 94/I. Heidelberg(Germany):Springer-Verlag;1990:63-102.

158. Hoffmann D, Hoffmann I. The changing cigarette,1950-1995. *J Toxicol Environ Health* 1997;50:307-364.
159. International Agency for Research on Cancer(IARC). Tobacco smoking. In:IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Vol 38. Lyon (France):IARC;1986; 37-375.
160. Pryor WA.Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ Health Perspect* 1997;105 ,4 S:875-882.
161. Pryor WA, Hales BJ, Premovic PI, Church DF. The radicals in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications. *Science* 1983; 220:425-427.
162. Pryor WA, Stone K, Zang LY, Bermudez E. Fractionation of aqueous cigarette tar extracts:fractions that contain the tar radical cause DNA damage. *Chem Res Toxicol* 1998;11:441-8.
163. Leanderson P,Tagesson C. Cigarette smoke-induced DNA-damage:role of hydroquinone and catechol in the formation of the oxidative DNA-adduct, 8-hydroxydeoxyguanosine. *Chem Biol Interact* 1990; 75:71-81.
164. Leanderson P,Tagesson C. Cigarette smoke-induced DNA damage in cultured human lung cells:role of hydroxyl radicals and endonuclease activation. *Chem Biol Interact* 1992; 81:197-208.
165. Yoshie Y, Oshima H. Synergistic induction of DNA strand breakage by cigarette tar and nitric oxide. *Carcinogenesis* 1997; 18:1359-1363.
166. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein proteins in human blood plasma. 1992; 277:133-138.

167. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YZ, Khwaja S, Safadi A. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J* 1992; 286:607-611.
168. Schechtman G, Byrd JC, Hoffmann R. Ascorbic acid requirements for smokers: analysis of a population survey. *Am J Clin Nutr* 1991;53:1466-1470.
169. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Shyr Y. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995; 332:1198-1203.
170. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Yamaguchi R. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 1997; 18:1763-1766.
171. Asami S, Hirano T, Yamaguchi Y, Tomioka Y, Kasai H. Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking. *Cancer research* 1996;56:2546-2549.
172. Trosko JE, Ruch RJ. Cell-cell communication in carcinogenesis. *Front Biosci* 1998;3:208-236.
173. Upham BL, Kang KS, Cho HY, Trosko JE. Hydrogen peroxide inhibits gap junctional intercellular communication in glutathione sufficient but not glutathione deficient cells. *Carcinogenesis* 1997; 18: 37-42.
174. Klein-Szanto AJ, Slaga TJ. Effects of peroxides on rodent skin: Epidermal hyperplasia and tumor promotion. *J Invest Dermatol* 1982;79:30-34.
175. Gimenez-Conti IB, Binder RL, Johnston D, Slaga TJ. Comparison of the skin tumor-promoting potential of different organic peroxides in SENCAR mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998;149:73-79.

176. Allen R, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med* 2000;28:463-499.
177. Gabbita SP, Robinson KA, Stewart CA, Floyd RA, Hensley K. Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction. *Arch Biochem Biophys* 2000;376:1-13.
178. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signalling, and cell injury. *Free Radic Biol. Med* 2000;15:1456-1462.
179. Guyton KZ, Liu Y, Gorospe M, Xu Q, Holbrook N. J. Activation of mitogen-activated protein kinase by H₂O₂. Role in cell survival following oxidant injury. *J Biol Chem* 1996;271:4138-4142.
180. Sundarsan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Irani K, Finkel T. Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science* 1995; 270:208-236.
181. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J* 1997; 11:118-124.
182. Chuang Y, Chen Y, Gadiseti A, Chandramouli VR, Cook A. Gene expression after treatment with hydrogen peroxide, menadione, or t-butyl hydroperoxide in breast cancer cells. *Cancer Res* 2002;62:6246-6254.
183. Granville DJ, Carthy CM, Hunt DW, McManus BM. Apoptosis :molecular aspects of cell death and disease. *Lab Invest* 1998;78:893-913.
184. Lee SR, Yang KS, Kwon J, Lee C, Jeong W, Rhee SG. Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H₂O₂. *J Biol Chem* 2002;277:20336-20342.
185. Pani G, Bedogni B, Anzevino R, Colavitti R, Palazzotti B, Borrello S, Galeotti A. Deregulated manganese superoxide dismutase expression and resistance to oxidative injury in p53-deficient cells. *Cancer Res* 2000;60:4654-4660.

186. Chandel NS, Schumacher PT. Cellular oxygen sensing by mitochondria: old questions, new insight. *J Phys* 2000;88:1880-1889.
187. Moulas AN, Zervos IA, Taitzoglou IA, Tsantarliotou MP, Botsoglou NA. Simultaneous Determination of Retinoic Acid, Retinol, and Retinyl Palmitate. *Journal of Liquid Chromatography* 2003;26:559-572.
188. Schuneman HJ, Grant JB, Freudenheim JL. The relation of serum levels of antioxidant vitamins C and E, retinol and carotenoids with pulmonary function in the general population. *Am J Resp Crit Care Med* 2001;163:1246-1255.
189. Russell MR. The Enigma of β -Carotene in Carcinogenesis: What can be learned from animal studies? *American Society for Nutritional Sciences*. 2004; 225S-230S.
190. Niki E, Nogushi N, Tsuchicashi H, Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1322S-1326S.
191. Kinski NI. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition* 2001; 17:815-817.
192. Ringer T, Dellof M, Winterrowd G. Beta-carotene's effects on serum lipoproteins and immunologic indices in humans. *Am J Clin Nutr* 1991;53:688-694.
193. Parker RS, Swanson JE, You CS, Edwards AJ, Huang T. Bioavailability of carotenoids in human subjects. *Proc Nutr Soc* 1999; 58:155.
194. Dixon ZR, Burri BJ, Clifford A. Effects of a carotene-deficient diet on measures of oxidative susceptibility and superoxide dismutase activity in adult women. *Free Radic Biol Med* 1994; 17:537.
195. Lepage G, Champagne J, Ronco N. Supplementation with carotenoids corrects increased lipid peroxidation in children with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 1996;64:87.

196. Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, Wollowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 1997;18:1847.
197. Torbergson AC, Collins AR. Recovery of human lymphocytes from oxidative DNA damage; the apparent enhancement of DNA repair by carotenoids is probably simply an antioxidant effect. *Eur J Nutr* 2000; 39:80.
198. Mathews- Roth M. Carotenoids in erythropoietic protoporhyria and other photosensitivity disease. In: *Carotenoids in Human Health*. Vol.691 Part III, pp.127-138. *Annals of the New York Academy of Sciences*, New York. NY.
199. Hughes D. Effects of carotenoids on human immune function. *Proc Nutr Soc*. 1999;58:713-718.
200. Frommel T, Mobarhan S, Doria M, Haline A, Luk G, Bowen P. Effect of beta-carotene supplementation on indices of colonic cell proliferation. *J Natl Cancer Int* 1995;87:1781-1787.
201. Fuller C, Faulkner H, Bendich A, Parker R. Effect of beta-carotene supplementation on photosuppression of delayed-type hypersensitivity in normal young men. *Am J Clin Nutr* 1992;56:684-690.
202. Santos M, Meydani S, Leka L, Gaziano J. Natural killer cell activity in elderly men is enhanced by beta-carotene supplementation. *Am J Clin Nutr* 1996; 64:772-777.
203. Chiba H, Clifford J, Metzger D. Distinct retinoid X receptor-retinoid acid heterodimers are differentially involved in the control of expression of retinoid target genes in F9 embryonal carcinoma cells. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 3013-3020.
204. Lehman JM, Dawson MI, Hobbs PD. Identification of retinoids with nuclear receptor subtype-selective activities. *Cancer Res* 1991; 51:4804-4809.

205. Lehman JM, Jong L, Fanjul A. Retinoids selective for retinoid X receptor response pathways. *Science* 1992; 258:1944-1946.
206. Kitareewan S, Spinella MJ, Allopena J. 4HPR triggers apoptosis but not differentiation in retinoid sensitive and resistant human embryonal carcinoma cells through an RAR independent pathway. *Oncogene* 1999;18:5747-5755.
207. Brude IR, Drevon CA, Hjermann I. Peroxidation of LDL from combined-hyperlipidemic male smokers supplied with omega 3 fatty acids and antioxidants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2576-2588.



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΕΠΕΑΕΚ



ΠΑΙΔΕΙΑ ΜΠΡΟΣΤΑ
2^ο Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Εκπαίδευσης και Αρχικής
Επαγγελματικής Κατάρτισης

ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΚΣΙΗ

ΣΥΓΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ
75% ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΥΣ
25% ΕΘΝΙΚΟΙ ΠΟΡΟΙ



ΜΕΤΡΟ 2.2.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΠΡΑΞΗΣ 2.2.3B

Προϋπολογισμός: 31980 ευρώ

ΕΡΓΟ: «ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ- ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ
ΕΡΕΥΝΑΣ του ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ»

« Η ΒΙΤΑΜΙΝΗ Α ΚΑΙ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ
STRESS ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ
ΠΝΕΥΜΟΝΑ »

Γερογιάννη Ειρήνη



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
Σταθάκης Νικόλαος